

UTJECAJ ANTIOKSIDATIVNIH TANINA NA RAZINU SUMPORNOG DIOKSIDA U BIJELIM VINIMA

Jeličić, Marijo

Master's thesis / Specijalistički diplomski stručni

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **The Polytechnic of Rijeka / Veleučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:125:691265>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-23**



Repository / Repozitorij:

[Polytechnic of Rijeka Digital Repository - DR PolyRi](#)



VELEUČILIŠTE U RIJECI

Marijo Jeličić

**UTJECAJ ANTIOKSIDATIVNIH TANINA NA RAZINU
SUMPORNOG DIOKSIDA U BIJELIM VINIMA**

(specijalistički završni rad)

Rijeka, 2020.

VELEUČILIŠTE U RIJECI

Poljoprivredni odjel
Specijalistički diplomski stručni studij Vinarstvo

UTJECAJ ANTIOKSIDATIVNIH TANINA NA RAZINU SUMPORNOG DIOKSIDA U BIJELIM VINIMA

(specijalistički završni rad)

MENTOR

Kristijan Damijanić, mag.agr.

STUDENT

Marijo Jeličić

MBS: 2421200016/18

Rijeka, rujan 2020

VELEUČILIŠTE U RIJECI

Poljoprivredni odjel

Poreč, 01.09. 2019.

ZADATAK
za specijalistički završni rad

Pristupniku: Marijo Jeličić

MBS: 2421200016/18

Studentu specijalističkog diplomskog stručnog studija vinarstvo izdaje se zadatak specijalističkog završnog rada – tema specijalističkog završnog rada pod nazivom: „UTJECAJ ANTIOKSIDATIVNIH TANINA NA RAZINU SUMPORNOG DIOKSIDA U BIJELIM VINIMA“

Sadržaj zadatka: U svrhu izrade specijalističkog završnog rada proučavanjem stručne literature iz područja vinarstva i vinogradarstva potrebno je obraditi opću problematiku antioksidativnih enoloških sredstava, te pobliže opisati antioksidativne tanine. Opisati ulogu i važnost mjerenja sumpornog dioksida u vinu kao i metode za određivanje sumpornog dioksida u vinu. U praktičnom dijelu rada laboratorijski pokus u malo postaviti u studentskom laboratoriju Poljoprivrednog odjela u Poreču. Napraviti osnovnu kemijsku analizu vina, te utvrditi utjecaj dodatka različitih antioksidativnih tanina na sadržaj sumpornog dioksida u vinu Malvazija istarska i Žlahtina.


Preporuka:

Rad obraditi sukladno odredbama Pravilnika o završnom radu Veleučilišta u Rijeci.

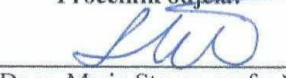
Zadano: 01.rujna 2019.

Predati do: 15.rujna 2020.

Mentor:


Kristijan Damjanić, mag.agr.

Pročelnik odjela:


Dr.sc. Mario Staver, prof.v.š.

Zadatak primio dana: 01. rujna 2019.



Marijo Jeličić

Dostavlja se:

- mentoru
- pristupniku

IZJAVA

Izjavljujem da sam specijalistički završni rad pod naslovom „**UTJECAJ ANTIOKSIDATIVNIH TANINA NA RAZINU SUMPORNOG DIOKSIDA U BIJELIM VINIMA**“ izradio samostalno pod nadzorom i uz stručnu pomoć mentora Kristijana Damijanića, mag.agr.

Marijo Jeličić

Jeličić

(potpis studenta)

SAŽETAK

Ovim pokusnim radom istražio se utjecaj antioksidativnih tanina i enoloških sumpornih sredstava na količinu slobodnog i ukupnog SO₂ u bijelim vinima kultivara Malvazija istarska i Žlahtina. Odabrane su različite tipologije vina kultivara Malvazija istarska, i to Malvazija istarska berbe 2019. i berbe 2016. (suha vina) te Malvazija istarska berbe 2015. (desertno vino), odnosno vino Žlahtina berbe 2019. i berbe 2018 godine (suho vino). Pokus se izvodio uz dodatak tri različita antioksidativna tanina Oenotantin Oenogal (Oenofrance), Galalcool (Laffort) i Tannredoks vit (Ever) odnosno koristila su se i enološka sumporna sredstva K₂S₂O₅ (Enartis), te Nooxid (Ever). Laboratorijska proba u malo postavila se u studentskom laboratoriju Poljoprivrednog odjela u Poreču. Kemijska analiza slobodnog i ukupnog SO₂ u vinu provela se metodom po Ripperu. Prema analitičkim rezultatima najviša razina slobodnog SO₂ u svim suhim vinima dobivena je u varijanti dodatka tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ u odnosu na ostala enološka sredstva, a može se protumačiti na način jer Tannredoks ima u svom sastavu osim tanina i askorbinsku kiselinu koja je jači antioksidans od sumpora. Jedino je kod desertnog vina dobivena najviša razina slobodnog SO₂ u varijanti tanina Oenogal i K₂S₂O₅ u odnosu na ostala enološka sredstva. Najniža razina slobodnog SO₂ dobivena je u desertnom vinu dodatkom samo K₂S₂O₅ jer glukoza, koja je prisutna u desertnim vinima veže slobodni SO₂. Bez obzira na veći postotni udio tanina i čistoće istih kod Oenogala i Galacoola u odnosu na Tannredoks najviša razina slobodnog SO₂ u svim suhim vinima dobivena u varijanti dodatka antioksidativnog tanina Tannredoks.

Ključne riječi: *Malvazija istarska, Žlahtina, antioksidativni tanin, slobodni i ukupni SO₂.*

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	SUMPOR U VINU	2
2.1.	Enološka antioksidativna sredstva	7
2.1.1.	Kruti sumporni dioksid	7
2.1.2.	Tekući sumporni dioksid	8
2.1.3.	Kombinirana sumporna i antioksidativna sredstva	9
2.1.4.	Askorbinska kiselina	10
2.1.5.	Spojevi SO ₂ sa drugim komponentama u vinu	11
3.	TANINI U VINU.....	13
3.1.	Podjela tanina u vinu.....	14
3.1.1.	Kondenzirani tanini.....	14
3.1.2.	Hidrolizirajući tanini.....	15
3.1.3.	Kompleksni tanini.....	16
3.2.	Enološka i antioksidativna svojstva tanina	16
3.3.	Učinak antioksidativnih tanina	17
4.	SORTE MALVAZIJA ISTARSKA I ŽLAHTINA.....	19
4.1.	Porijeklo i zastupljenost Malvazije istarske.....	19
4.1.1.	Morfologija Malvazije istarske	20
4.1.2.	Tipologija vina Malvazije istarske.....	22
4.2.	Porijeklo i rasprostranjenost Žlahtine	23
4.2.1.	Morfologija Žlahtine	24
4.2.2.	Tipologija vina Žlahtine.....	25
5.	MATERIJALI I METODE	26
5.1.	Enološka sumporna i antioksidativna sredstva korištena u istraživanju.....	26
5.2.	Priprema otopina i postavljanje proba u malo	28

5.3. Određivanje slobodnog i ukupnog SO ₂ po Ripperu.....	30
6. REZULTATI I RASPRAVA	33
7. ZAKLJUČAK	39
POPIS LITERATURE.....	41
POPIS SLIKA.....	43
POPIS TABLICA	44

1. UVOD

Antioksidanti su svi spojevi sa sposobnošću sprječavanja ili usporavanja oksidacijskih reakcija. Fenolni spojevi pokazuju izrazitu antioksidativnu sposobnost. Naročito hidrolizirajući tanini pokazuju sklonost vezivanja kisika u odnosu na kondenzirane tanine s obzirom da posjeduju više OH skupina na aromatskom prstenu. Sinergijski djeluju sa sumpornim dioksidom tako da se ujedno održava veći postotak slobodnog SO₂ na završetku fermentacije. Reakcije vezanja kisika su također i brže, tako da je redom brzina vezanja kisika: elagotanin > galotanini > kondenzirani tanini. Također je i u prisustvu dodanih tanina sadržaj slobodnog SO₂ u buteljiranim vinima kroz vrijeme veći. Poznato je da elagotanini oksidirajući se u kinone proizvode vodikov peroksid, važan nusprodukt tijekom formiranja etanala. Ova je reakcija važna za stabilizaciju crvene boje tijekom dozrijevanja crvenih vina. Tanini se mogu smatrati prirodnim antioksidansima eliminirajući oksidativne pojave te pritom čuvajući mirisne komponente vina. Također je uočeno da tanini u vinu mogu unutar svoje strukture služiti i kao potpora za očuvanje jako hlapivih aromatskih spojeva. Vina se postepeno razvijaju, otvaraju i postaju kompleksnija u okusu. Antioksidativna aktivnost tanina je izražena i protiv enzimatskih kompleksa koji kataliziraju prijenos kisika na polifenole (polifenoloksidaze) uzrokujući potamnjenje mošta i smanjenje aromatskog potencijala. Današnja proizvodnja vina nezamisliva je bez sumpornog dioksida koji se koristi od berbe do punjenja vina u boce, naravno u umjerenim dozama. Sumporni dioksid u vinu nalazimo u dva oblika: slobodni i vezani sumporni dioksid.

2. SUMPOR U VINU

Sulfitiranje mošta i vina je uvjet kvalitetne proizvodnje, ali samo ako se taj posao obavi na odgovarajući način. Sumporni dioksid u moštu i vinu djeluje reduktivno (dakle održava stanje koje je suprotno oksidativnom), za mnoge bakterije je antiseptik, koči razmnažanje kvasaca, i to naročito divljih (kažemo djeluje inhibitorno na njih), a bjelančevinaste tvari u moštu i vinu zgrušava (pa kažemo da djeluje koagulirajuće). Antioksidativno djelovanje SO_2 u moštu i vinu temelji se na inaktiviranju oksidacijskih enzima, ali i vezivanju s kisikom, odnosno na istiskivanju zraka (kad se paljenjem elementarnog sumpora štiti otpražnjeni prostor u nepunoj posudi). Aseptičko djelovanje SO_2 (koje označujemo kao baktericidno, insekticidno i fungicidno) i naročito njegovo selektivno djelovanje na kvasce kad se sulfitira svježi mošt, od velikog je značaja za pravilan tijek vrenja. Takvim djelovanjem koči se razvoj spontane divlje mikroflore, čime indirektno pomaže razmnažanje željene skupine kvasaca, tj. one koja će bez prekida raditi i time osigurati potpunu dozrelost. Djelujući koagulirajuće, pomoći će da se vino prije i lakše izbistri, a takvo će biti ne samo ljepša izgleda, već i bez neželjena vonja i okusa. Paljenjem sumpora (sumpornog cvijeta odnosno sumporne vrpce) razvit će se sumporni dioksid (sumpor IV oksid, SO_2), kojim se najčešće štiti prazno drveno suđe i čuva vino od kvarenja u otpražnjenoj posudi. Valja paziti da, kada se pale sumporne trake na dno bačve ili u vino ne kaplje elementarni sumpor, jer će vremenom stvoriti neugodan vonj po sumporovodiku (H_2S) koji podsjeća na gnjila jaja. Ako se bačve češće na taj način zaštićuju, osim što se zagrijavanjem rasuše, valja znati da se prilikom tog postupka dio sumpora sublimira (tj. prelazi iz plinovitog u kruto agregatno stanje), pa i to može biti uzrokom kasnijem nastanku već spomenutog neugodnog vonja (H_2S). Mošt, masulj ili vino sulfitiraju se ili dodavanjem tekućeg sumpornog dioksida ili njegove 5 %-tne otopine (SO_2 u H_2O), a kod nas najčešće dodavanjem kalijeva disulfita (soli poznatije kod nas pod imenom kalijev metabisulfit). Količinu tog sredstva (zvanog još i K-disulfit) odredit će se na osnovi zdravstvenog stanja, zrelosti, kiselosti i temperature.

Sumporov dioksid se koristi kao antioksidans za kontrolu tamnjenja vina i kao sredstvo sa antimikrobnim djelovanjem, no može izazvati alergijske reakcije (Li i sur., 2008). Ujedno dodatak SO_2 utječe na kvalitetu vina i pri većim koncentracijama može dati vinu nepoželjnu aromu te može doći do zamucenja vina tijekom skladištenja. Iz tog razloga se počinju koristiti

druga sredstva koja mogu zamijeniti SO₂. Jedno od tih sredstava je askorbinska kiselina znana kao vitamin C te njezini optički izomeri.

U moštu i vinu sumporni dioksid dolazi uglavnom u dva oblika: slobodni i vezani oblik. Slobodni SO₂ u tehnološkom smislu ima sljedeće aktivnosti:

- antibakterijsko djelovanje i baktericidno djelovanje na kvasce i druge mikroorganizme i
- kemijsko tehnološko djelovanje : sprječava pojedine bolesti i mane vina, utječe na sadržaj mineralni kiselina u vinu, organoleptička svojstva vina , oksidacijsko-redukcijske procese, redox potencijal.

Veliki utjecaj na količinu slobodnog sumpora u vinu ima pH – sa nižim pH vrijednostima (višim kiselinama) više će biti i slobodnog sumpornog dioksida u vinu i obrnuto. Vezani SO₂ je povezan nekad u manjoj ili većoj mjeri za različite tvari u vinu. To je uglavnom sumporni anhidrid vezan sa:

- acetaldehidom,
- šećerima vina i mošta i
- višim aldehydima, ketokiselinama, fenolima, dušikovim spojevima i slično.

Slobodni SO₂ postoji u vinu u dva različita kemijska oblika, molekularni SO₂ i HSO₃⁻ (bisulfitni ion). Molekularni SO₂ je aktivan oblik sumpora (antioksidant), a predstavlja plinoviti oblik SO₂ otopljen u vinu. Prilikom mjerenja slobodnog SO₂ u vinu oblik je sumpora koji se gubi (oksidira i hlapi), ukoliko se ne mjeri odmah po uzimanju uzorka iz bačve ili uzorka iz boce za analizu. Predstavlja i formu tipičnog mirisa i karakterističnog okusa ako je u suvišku. Najveći dio slobodnog SO₂ u vinu je u obliku bisulfitnog iona (HSO₃⁻) koji je u ravnoteži sa molekularnim oblikom. Bisulfitni oblik može oksidacijom prijeći u sulfatni ion (SO₄⁻) i predstavlja neaktivan oblik. Vezani SO₂ čine slabije vezani oblici (depozit SO₂) i jače vezani oblici (rest SO₂). Veći dio vezanog sumpora čine jače vezani oblici, SO₂ vezan sa acetaldehidom ili piruvičnom kiselinom ako je prisutna u većim koncentracijama. Formiranje acetaldehida je u manjoj mjeri ako fermentaciju provodimo sa manjim dozama SO₂, a također i piruvične kiseline kada je u moštu dovoljno tiamina (Vit B). Provođenjem MLF-a njihove se koncentracije smanjuju. Slabije vezani oblici SO₂ su oblici vezani sa ketonskim kiselinama, antocijanima, glukozom itd. i kao takvi su labilniji, odnosno pod utjecajem temperature u ravnoteži su sa slobodnim SO₂. Nazivaju se i rezerva SO₂ u vinu. U mladim crvenim vinima

SO₂ veže dio antocijana (opadanje boje) ali date kombinacije pokazuju dobro antiseptično (baktericidno) djelovanje s obzirom da su labilnije vezani oblici.

Količine slobodnog i vezanog SO₂ u vinu se nalaze u stanju dinamičke ravnoteže. Odnos slobodnog i vezanog SO₂ prvenstveno je pod utjecajem njegovog kemijskog sastava i temperature vina. Povećanjem temperature vina raste sadržaj slobodnog SO₂ (izrazita slojevitost sadržaja SO₂ u vinu). Neposredno nakon dodavanja u vino SO₂ je uglavnom u slobodnom obliku, a poslije određenog vremena se uspostavlja ravnoteža između slobodnog i vezanog SO₂ (4-5 dana). Kinetika vezivanja je najbrža u prvih 24 sata, tako da se s vremenom smanjuje sadržaj slobodnog, a povećava sadržaj vezanog. Točan odnos varira od vina do vina. Zbog negativnih utjecaja većih količina sumpor dioksida na ljudsko zdravlje i kvalitetu vina zakonski su propisane maksimalne količine ukupnog SO₂ u vinima u prometu.

Na temelju članka 19. stavaka 2. i 3. Zakona o uređenju tržišta poljoprivrednih proizvoda (»Narodne novine« br. 149/09) ministar poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja donosi: Pravilnik o kategorijama proizvoda od grožđa i vina, enološkim postupcima i ograničenjima (»Narodne novine«, broj 114/10). Najveća dopuštena koncentracija sumpor-dioksida u vinima:

A. Koncentracija sumpor-dioksida u vinima

1. Koncentracija sumpor-dioksida u vinima, osim pjenušavih vina i likerskih vina, prilikom njihova stavljanja u promet ne smije biti veća od:

(a) 150 mg/L za crna vina;

(b) 200 mg/L za bijela i ružičasta vina.

2. Bez obzira na odredbe točke A.1.(a) i (b) ovog Priloga, najveća koncentracija sumpor-dioksida u vinima sa sadržajem šećera izraženog kao zbroj glukoze i fruktoze, od najmanje 5 g/L, povećava se na:

(a) 200 mg/L za crna vina i vina s oznakom »desertno vino« ako imaju manje od 50 g/L šećera;

(b) 250 mg/L za bijela i ružičasta vina;

(c) 300 mg/L za vina s oznakom »kasna berba« i »desertno vino« ako imaju više od 50 g/L šećera;

(d) 350 mg/L za vina s oznakom »izborna berba«;

(e) 400 mg/L za vina s oznakom »izborna berba bobica«, »izborna berba prosušenih bobica« i »ledeno vino«.

3. Ako se za tim pokaže potreba uslijed vremenskih uvjeta, moguće je nekim vinorodnim područjima odobriti povećanje od najviše 50 mg/L ako je koncentracija sumpor-dioksida manja od 300 mg/L.

B. Koncentracija sumpor-dioksida u likerskim vinima:

Koncentracija sumpor-dioksida u likerskim vinima kod stavljanja u promet ne smije biti veća od:

(a) 150 mg/L ako je sadržaj šećera manji od 5 g/L;

(b) 200 mg/L ako je sadržaj šećera veći od 5 g/L.

C. Koncentracija sumpor-dioksida u pjenušavim vinima

1. Koncentracija sumpor-dioksida u pjenušavim vinima kod stavljanja u promet ne smije biti veća od:

(a) 185 mg/L za sve kategorije kvalitetnog pjenušavog vina;

(b) 235 mg/L za ostala pjenušava vina.

2. Ako se za tim pokaže potreba uslijed vremenskih uvjeta, moguće je u nekim vinorodnim područjima odobriti povećanje najveće dopuštene koncentracije sumpor-dioksida do 40 mg/L za pjenušava vina iz točke C.1.(a) i (b) ovog Priloga koja se proizvode u navedenim vinorodnim područjima pod uvjetom da se vina na koje se odnosi to odobrenje ne isporučuju izvan teritorija RH

Učinci sumpornog dioksida u vinu:

Sumporni dioksid u vinu djeluje kao antiseptik, antioksidans, djeluje reducirajuće, ubrzava taloženje bjelanchevina, veže se sa pojedinim sastojcima vina, utječe na okus, miris i izgled vina. Na sumporni dioksid u vinu utječu: PH vina, temperatura, redoks potencijal vina, soj kvasaca, sadržaj sulfata i enzima te tehnološki postupci. Sumporni dioksid u vinu kao antiseptik utječe na rad kvasca i život mikroflora vina i na taj način da se veže sa enzimima stanica kod čega se enzimski sistem stanice denaturira i inaktivira. Tehnološki postupci u znatnoj mjeri utječu na količinu doziranja SO₂ pa i na potrebe vina za sumpornim dioksidom.

Mehanizam antioksidativnog djelovanja očituje se vezanjem kisika – sprečavanje oksidativnih procesa i vezanjem sa fenolnim tvarima (boja + tanini) čime se sprječava njihova oksidacija.

Ravnoteža slobodni – vezani SO₂ je dinamička uslijed niza faktora:

1. promjena temperature – za svaki stupanj više ima za cca 1,3 mg/L slobodnog sumpora,
2. dodavanja, smanjivanja, vezanja SO₂ i ovisno o njihovoj disocijaciji i
3. stupnja oksidacije vina sa O₂ ili sa tzv. unutrašnjim faktorima – aktualnom aciditetu vina, PH vrijednosti – kao što je prethodno navedeno pri nižim pH imamo više slobodnog SO₂ u vinu.

Najvažniji faktori u preradi vina koji uvjetuju daljnje potrebe za SO₂ su:

1. odvajanje zdravog od trulog grožđa ili zaraženog plijesni,
2. pravovremeno odvajanje bistrog dijela od taloga (flotacija, filtracija, dekantacija eventualno dodavanje bentonita),
3. upotreba adekvatnih kultura kvasaca,
4. čistoća prerade i opreme,
5. regulacija temperature vrenja i
6. vrijeme i način došećeravanja.

2.1. Enološka antioksidativna sredstva

Enološka antioksidativna sredstva koja se u praksi najčešće primjenjuju su:

- kruti sumporni dioksid - kalijev metabisulfit (vinobran),
- tekući sumporni dioksid - sumporasta kiselina 5-6 % (sumpovin)
- plinoviti sumporni dioksid (sprej),
- kombinirana sumporna i antioksidativna sredstva (npr .Nooxid-Ever, Tannredox-Ever, itd.) i
- askorbinska kiselina.

2.1.1. Kruti sumporni dioksid

Kalij metabisulfit ($K_2S_2O_5$)

Tehnički sadrži 50 % SO_2 (trgovački naziv Vinobran). Dodatak teoretski može smanjiti kiselost vina za 0,3 do 0,6 g/L uslijed vezanja kalija na kiseline (uglavnom na vinsku kiselinu). Primjena je otapanjem u vinu ili stavljanjem u platnenu vrećicu da se postepeno otapa. S obzirom da $K_2S_2O_5$ tehnički sadrži 50% SO_2 ukupni SO_2 se u proizvodnim uvjetima može izračunati na sljedeći način:

$$1 \text{ g kalij metabisulfita/L oslobađa } 0.5 \text{ g } SO_2/L = 500 \text{ mg } SO_2/L$$

$$1 \text{ g kalij metabisulfita/100 L oslobađa } 500 \text{ mg } SO_2/hl : 100 \text{ L} = 5 \text{ mg } SO_2/L$$

$$1 \text{ g } K_2S_2O_5/hl = 5 \text{ mg/L ukupnog } SO_2$$

Slobodni i vezani SO_2 se u proizvodnim uvjetima mogu izračunati na sljedeći način:

$$1 \text{ g } K_2S_2O_5/hl$$

$$1000 \text{ mg } K_2S_2O_5/100 \text{ L}$$

$$10 \text{ mg } K_2S_2O_5/L$$

$$5 \text{ mg ukupnog } SO_2/L - \text{ od toga najčešće } \rightarrow 2.5 \text{ mg /L ostaje slobodni } SO_2$$

$$2.5 \text{ mg /L postaje vezani } SO_2$$

U proizvodnim uvjetima dodatkom 1g $K_2S_2O_5$ na hl vina oslobađa se 5 mg/L ukupnog SO_2 , od toga 2.5 mg/L ostaje slobodni, a 2.5 mg/L postaje vezani.

2.1.2. Tekući sumporni dioksid

Sumporasta kiselina - je spoj sumpornog dioksida i vode (H_2SO_3). U vinarstvu se uz koncentriranu sumporastu kiselinu (uz uvjet da za to valja posjedovati odgovarajuću dozirnu napravu), najčešće upotrebljava 5 % otopina SO_2 u vodi. Manje koncentrirana sumporasta kiselina (obično od 2 %) koristi se jedino za sterilizaciju pred punjenje opranih boca, a takav postupak sterilizacije boca nije potreban ako se koriste nove i ispravno na paleti zaštićene boce za vino. Kada bi se vinu dodavala blaža, razrađenija otopina, moglo bi se govoriti o razrjeđivanju vina s vodom.

Dodatkom moštu i vinu sumporasta se kiselina djelomice vezuje u soli, dijelom se i spaja s acetaldehidom (u aldehidsumporastu kiselinu), i šećerima (i to s glukozom i arabinozom) a samo manji dio ostaje slobodan (kao plinoviti SO_2 otopljen u vodi) i to je onaj djelatni (aktivni) dio koji je za bakterije antiseptik a za kvasce inhibitor. Sumporasta kiselina 5 % dobiva se na način da se 50g SO_2 otopi u vodi. Ukupni SO_2 se u proizvodnim uvjetima može izračunati na sljedeći način:

$$10 \text{ ml } 5 \% H_2SO_3/L \text{ oslobađa } 0,5 \text{ g } SO_2/L = 500 \text{ mg } SO_2/L$$

$$10 \text{ ml } 5 \% H_2SO_3/ 100 \text{ L oslobađa } 500 \text{ mg } SO_2/hl : 100 \text{ L} = 5 \text{ mg } SO_2/L$$

$$10 \text{ ml } 5 \% H_2SO_3/hl = 5 \text{ mg/L ukupnog } SO_2$$

Slobodni i vezani SO_2 se u proizvodnim uvjetima mogu izračunati na sljedeći način:

$$10 \text{ ml } 5 \% H_2SO_3/hl = 5 \text{ mg/L ukupnog } SO_2$$

- od toga najčešće $\rightarrow 2.5 \text{ mg /L}$ ostaje slobodni

$$2.5 \text{ mg /L postaje vezani } SO_2$$

U proizvodnim uvjetima dodatkom 10 ml 5 % H_2SO_3 na hl vina oslobađa se 5 mg/L ukupnog SO_2 , od toga 2.5 mg/L ostaje slobodni, a 2.5 mg/L postaje vezani.

2.1.3. Kombinirana sumporna i antioksidativna sredstva

Zbog brže topivosti neki proizvođači miješaju kalijmetabisulfit sa askorbinskom kiselinom pa se na tržištu mogu pronaći kombinirana sumporna sredstva (npr .Nooxid-Ever), odnosno mješavine galnih tanina i askorbinske kiseline (npr. Tannredoks vit – Ever, itd.).

Nooxid (Ever) je kombinirano zaštitno enološko sredstvo koje sadrži kalijev metabisulfit, askorbinsku kiselinu te limunsku kiselinu. Pripravak je sa visokom antioksidativnom sposobnošću, ima stabilizirajuća svojstva na izgled, okus i miris vina. Nooxid generira brzo smanjenje redoks potencijala vina i povećanje molekularnog SO₂, povećava njegovu antiseptičku sposobnost prema mikroorganizmima. S obzirom da Nooxid sadrži 40 % K₂S₂O₅, a K₂S₂O₅ tehnički sadrži 50 % SO₂ ukupni SO₂ se u proizvodnim uvjetima može izračunati na sljedeći način:

$$1 \text{ g Nooxida/L oslobađa } 0,2 \text{ g SO}_2/\text{L} = 200 \text{ mg SO}_2/\text{L}$$

$$1 \text{ g Nooxida/100 L oslobađa } 200 \text{ mg SO}_2/\text{hl} : 100 \text{ L} = 2 \text{ mg SO}_2/\text{L}$$

$$1 \text{ g Nooxida/hl} = 2 \text{ mg/L ukupnog SO}_2$$

Slobodni i vezani SO₂ se u proizvodnim uvjetima mogu izračunati na sljedeći način:

$$1 \text{ g Nooxida/hl}$$

$$1000 \text{ mg Nooxida/100 L}$$

$$10 \text{ mg Nooxida/L}$$

4mg K₂S₂O₅/L -- 2mg ukupnog SO₂/L -- od toga najčešće : →1.5 mg /L ostaje slobodni

$$0.5 \text{ mg /L postaje vezani SO}_2$$

U proizvodnim uvjetima dodatkom 1 g Nooxida na hl vina oslobađa se 2 mg/L ukupnog SO₂, od toga 1.5 mg/L ostaje slobodni, a 0.5 mg/L postaje vezani.

Tannredoks vit (Ever) - je mješavina galnih tanina i askorbinske kiseline koja se koristi zahvaljujući njezinoj velikoj antioksidacijskoj moći, kako tijekom maceracije tako i tijekom dorade vina, kako bi se izbjegle neželjene oksidacije. Uobičajeno se koristi u vinarstvu bez sumpor-dioksida. Zahvaljujući velikom kapacitetu kombiniranja otopljenog kisika, omogućuje sprječavanje nastanka , formiranja i povećanja žutih tonova u tretiranim vinima.

2.1.4. Askorbinska kiselina

Askorbinska kiselina se koristi kao antioksidans, posebno pri proizvodnji bijelih vina, primarno zbog reducirajućih svojstava (Bradshaw i sur., 2001). Međutim, sve više studija pokazuje da askorbinska kiselina ima pro-oksidacijska svojstva više nego antioksidacijska svojstva. Ukoliko askorbinsku kiselinu koristimo u kombinaciji s SO_2 tada može doći do ubrzane potrošnje SO_2 i proizvodnje žutih pigmenta što dovodi do tamnjenja vina (Bradshaw i sur., 2004). Glavna osobina askorbinske kiseline je njena sposobnost reduciranja, i iz tog je razloga snažan antioksidans. Pri oksidaciji askorbinske kiseline oslobađa se vodikov peroksid za čiju eliminaciju je potreban slobodni sulfit i ireverzibilno prelazi u dehidroaskorbinsku kiselinu. Askorbinska kiselina sama po sebi ne može u potpunosti zamijeniti sumporni dioksid te samo potpomaže njegovo djelovanje kod neenzimatskih oksidacija kao donator vodika. U slučaju enzimatske oksidacije djelovanje askorbinske kiseline se razlikuje od djelovanja sulfita jer ona ne inhibira enzime kao SO_2 nego monopolizira kisik zbog velike brzine oksidacije. Ne sprječava enzimatske oksidacije, ne inaktivira enzime ali enzimatski posmeđenom moštu vraća boju (reducira oksidirane kinone i prelazi u dehidroaskorbinsku). Ne veže acetaldehid i ne djeluje selektivno na mikroorganizme (nema antiseptično djelovanje). Poznato je da askorbinska kiselina u određenim slučajevima može poboljšati okus vina u boci, te omogućuje bolje očuvanje svježine i voćnih aroma posebno u određenim tipovima suhih i u pjenušavih bijelih vina. Pomoću askorbinske kiseline moguće je i pomlađivanje starih i umornih vina. Dodavanjem askorbinske kiseline moguće je spriječiti pojavu mana vina kao što su: UTA, nasumična oksidacija, sivi lom što nije moguće pomoću sumpornog dioksida.

2.1.5. Spojevi SO₂ sa drugim komponentama u vinu

Spojevi sumpornog dioksida vežu se sa raznim komponentama koje su nazočne u vinu, kao što su : bjelančevine, antocijani ,pektini, ketokiseline mošta i vina, te veze SO₂ sa šećerima u vinu (Šantek,1991)

SO₂ se dovoljno lako veže sa aminokiselinama vina koja sadrže sumpor kao i bjelančevinama, npr. cistein se brzo veže sa SO₂ i stvara se cisteinsulfonska kiselina koja je vrlo stabilna.

Veze SO₂ sa antocijanima vina su vrlo važne. Važno je naglasiti da kod starijih vina ima manje slobodnih antocijana te shodno tome utjecaj SO₂ je manji. Sumporasta kiselina i njene soli stvaraju sa antocijanima manje obojane spojeve, koji se grijanjem raspadaju na svoje komponente. Dio antocijana se trajno veže te se taloži. Malvidin glikozidi kojih ima u vinu do 30% od ukupnog sadržaja antocijana, vežu se skoro u potpunosti sa sumpornim dioksidom.

Veze SO₂ sa pektinima – galakturonska i glukuronska kiselina lako reagiraju sa slobodnim SO₂ kod pH 3,3. Općenito se sa glukuronskim kiselinama veže se od 2 do 25 mg/L slobodne forme SO₂.

Spojevi SO₂ sa šećerima – šećeri (arabinoza, manoz, galaktoza, glukoza, keto-5-fruktoza, ksilozon) vežu se za SO₂. Ovi spojevi su važni kod mošta, poluslatkih i desertnih vina. Šećeri se vežu sa SO₂ znatnije sporije od aldehida. Najbrže vezanje nastaje sa arabinozom. Glukoza se veže 10 puta slabije od arabinoze. Polisaharidi se također vezuju za SO₂.

Vezanje na glukozu značajno je u soku i približno 50 % dodanog SO₂ može se vezati (pri razinama dodavanja od 50-100 mg/L). Glukoza ima malu brzinu vezanja (0,8 mg SO₂ po gramu glukoze u prisutnosti 100 mg/L slobodnog SO₂). Fruktoza ne stvara dodatan proizvod s bisulfitnim oblikom SO₂. U svakom slučaju, vezanje SO₂ s fruktozom je malo ili nikakvo , a sigurno je manje od one s glukozom. Arabinoza se veže lakše, iako su njezine koncentracije u vinu obično niske. Saharoza se ne veže u značajnoj količini.

Primjer : vina sa 100 mg/L slobodne sumporne forme vežu (ovisno o pH vrijednosti) :

- 1 g glukoze 0,2 – 0,8 mg slobodnog SO₂

- 1 g arabinoze 8,0 – 12,0 mg slobodnog SO₂

Glukoza se sa SO₂ veže u glukosulfonsku kiselinu. Od formi SO₂, bisulfitna forma (H₂SO₃) najbrže se veže sa glukozom.

3. TANINI U VINU

Riječ tanin potječe iz keltskog svijeta (staro njemački = tanna, Tannenbaum) gdje je značilo drvo hrasta ili jele, a dugo se koristila kao izraz pod kojim se podrazumijevalo korištenje biljnih ekstrakata za štavljenje kože. Najraširenija su grupa prirodnih složenih fenola. Polimerizacijom flavan-3-ola i flavonola nastaju polimeri (taninska svojstva se javljaju već od dimera). Tvorba tanina kreće iz šećera i šikimi kiseline, a sadrže ih svi organi vinove loze, posebice mlado liše. Ovisno o sorti u doba zrelosti najviše tanina sadrži vanjski omotač sjemenki. Tijekom dozrijevanja količina tanina opada, posebice u mesu bobice. Količina tanina u vinu ovisi o: sorti, načinu vinifikacije (maceracija), postupcima dorade vina, dozrijevanju vina (u starom vinu talože se zbog velikih molekula). Teško se ekstrahiraju iz grožđa i u mošt ih prelazi oko 20 % (crno grože). Utječu na boju (stabilnost boje crvenih vina) i okus vina (astringencija i trpkost). S željezom tvore kompleksne spojeve ($\text{Fe} (3+) + \text{tanati} = \text{crni lom}$). Supstrat su u reakcijama posmeđivanja (vežu najveći dio kisika) pa su polimeri smeđe obojeni. Inhibiraju rad nekih mikroorganizama, dok neki djeluju antioksidacijski. Prema L. Paronettu dijele se na: hidrolizirane i kondenzirane tanine. Hidrolizirani tanini su esteri fenolnih kiselina i derivata fenolnih kiselina sa šećerima. Najčešći produkti hidrolize su galna i elaginska kiselina. Nema ih u kožici, vrlo malo u soku, a najviše u vanjskom omotaču sjemenki. U vinu se nalaze kao katehingalati. Kondenzirani tanini su kondenzati katehina i leukoantocijana koji nastaju kondenzacijom i oksidativnom polimerizacijom. Polimeri su smeđe obojeni i sudjeluju u astringenciji vina. Zdravstveni je učinak tanina da olakšavaju probavu i preventivno utječu na sprječavanje zatvora djeluju na glatke mišiće probavnog trakta i pojačavaju kontrakciju. Posjeduju antibakterijska i antivirusna svojstva (neke viruse, sastavljene od proteina vežu tanini).

Tanini mogu dospjeti u vino iz grožđa, korištenjem hrastovih bačva, čipsa ili dodatkom tanina u prahu. Tanini vina smatraju se složenijima od tanina grožđa zbog raznih kemijskih reakcija, ne samo zbog promjene duljine lanca, nego i zbog vezanja različitih kemijskih spojeva na fenolne podjedinice tanina, koje se odvijaju tijekom proizvodnje i dozrijevanja vina. Sastav i koncentracija tanina kožice, sjemenke ili peteljkovine u vinu (ukoliko se koristi u maceraciji) ovisi o sorti grožđa, tehnološkom procesu tijekom vinifikacije vina i naknadnim reakcijama tijekom dozrijevanja vina, imajući veliki utjecaj na kvalitetu i karakter konačnog vina (Citron, 2007).

3.1. Podjela tanina u vinu

Tanini u grožđu i vinu dijele se u tri velike skupine: kondenzirani, hidrolizirajući i kompleksni tanini (Khanbabaee i Van Ree, 2001). Kondenzirani tanini (procijanidini ili katehinski tanini ili flavonoidni) su tanini kože crvenog i bijelog grožđa i tanini sjemenke bobice grožđa. hidrolizirajući tanini (neflavonoidni) su galotanini i elagitanini, a u vino dolaze iz drva, bilo fermentacijom ili dozrijevanjem vina u drvenom posuđu, korištenjem čipsa i praškastih (egzogenih) tanina. Kompleksni tanini nastaju tijekom dozrijevanja vina spajanjem tanina grožđa i tanina drva.

3.1.1. Kondenzirani tanini

Kondenzirani tanini nastaju polimerizacijom flavan 3-ola monomera katehina i epikatehina vežući se C4-C6 ili C4-C8 vezama. Ove monomerne jedinice tvore lance različitih duljina, ovisno o stupnju polimerizacije (mDP), pa se nalaze u monomernom, oligomernom i polimernom obliku. Stupanj polimerizacije predstavlja broj monomera odnosno broj flavan 3-ol podjedinica. Te su složene strukture lanaca u vinu podložne stalnim promjenama vežući se međusobno ili s drugim kemijskim spojevima u vinu tvoreći različite duljine polimernih lanaca. Identificirani su i polimeri sastavljeni više od 50 katehinskih jedinica (Khanbabaee i Van Ree, 2001). Flavan-3-oli ili flavanoli se nalaze u visokim koncentracijama u sjemenci i pokožici grožđa, a imaju važnu ulogu u organoleptičkim svojstvima vina. Flavan-3-oli monomeri se često spominju kao katehini i razlikuju se prema stupnju hidroksilacije B prstena (Slika 1). U njihovoj strukturi imaju dva asimetrična ugljika (C2 i C3), što omogućuje postojanje četiriju optičkih izomera za svaki katehin, (+) / (-) katehin i (+) / (-) epikatehin. Postojanje treće OH skupine na aromatskom B prstenu dovodi doodgovarajućeg (+) / (-) galokatehina i (+) / (-) epigalokatehina. U prirodi, ti se monomeri se nalaze kao takvi, iako se mogu naći i metilirani, glikozilirani i acilirani derivati, uglavnom esterificirani derivati sa galnom kiselinom na C3 položaju.

Komercijalni proizvodi kondenziranih tanina smeđe su do tamno crvene boje ovisno o botaničkom podrijetlu. Kondenzirani tanini ekstrahirani iz sjemenki nalaze se samo u oligomernom obliku, za razliku od tanina pokožice koji su većeg stupnja polimerizacije ili su ponekad vezani u polisaharidne strukture. Za ekstrakciju se preferira pokožica grožđa bijelih sorata jer je odvajanje antocijana od tanina otežavajuće, za razliku od sjemenki gdje stupanj

zrelosti utječe na stupanj polimerizacije ekstrahiranih struktura. Fermentirana pokožica za razliku od svježe sadrži u ekstraktu tanine sa većim stupnjem polimerizacije. Stupanj polimerizacije tanina utječe na sposobnost vezanja proteina. Ovo je veoma važno u vinarstvu, gdje visoka razina kondenziranih tanina sa većim stupnjem polimerizacije, posebno u crnim vinima, može rezultirati osjetom izražene suhoće u ustima (Ribéreau-Gayon i sur. 2000).

3.1.2. Hidrolizirajući tanini

Hidrolizirajući tanini su galotanini i elagitanini, jer u kiselom mediju otpuštaju galnu odnosno elagičnu kiselinu zajedno sa molekulom šećera vezanom estreskom vezom, a mogu biti pentoze (ksiloza) ili heksoze (glukoza). Potječu iz drva, bilo fermentacijom ili dozrijevanjem vina u drvenom posuđu. Nisu u polimernom obliku za razliku od kondenziranih tanina već se maksimalno mogu pronaći dimerne ili trimerne molekule. Podrijetlo galotanina su hrastove šiškarice (najkvalitetniji), *Cesalpinia* (*Caesalpinia spinosa*) i indijska nešpula (*Terminalia chebula*).

Galotanini su svijetlo kremaste ili žute boje, slabo su mirisni, astrigentni i gorki na okus, naročito zastupljeni u komercijalnim formulacijama i sa visokim sadržajem galne kiseline. Galotanini su spojevi sa poliolskom jezgrom, a odnosi se na spoj sa više hidroksilnih skupina supstituiranih s 10-12 ostataka galnih kiselina povezanih meta-hidroksilnom vezom. Najčešći poliolski je D-glukoza, iako neki galotanini sadrže katehinske i triterpenoidne jedinice kao temeljne poliolske.

Elagitanini su također hidrolizirajući tanini izvedeni iz pentagaloilglukoze, ali za razliku od galotanina, sadrže dodatne CC veze između susjednih galoil struktura u pentagaloilglukoznoj molekuli. Tamnije su boje i izraženijih mirisa na drvo od galotanina, posebice tostirani ili podrijetlom od bijelog hrasta (*Quercus alba*) ali su manje astrigentniji od galotanina i vino ih ne sadrži, osim ako nisu dodani ili ako vino nije bilo u drvenim bačvama. Kesten (*Castanea sativa*) i hrast (*Quercus* spp.) su glavni izvori elaginskih tanina.

3.1.3. Kompleksni tanini

Kompleksni tanini su definirani kao tanini u kojima je katehinska jedinica glikozidno vezana na galotaninsku ili elagitaninsku jedinicu. Formiraju se tijekom procesa dozrijevanja crnog vina, pri čemu katehinska jedinica potječe od grožđa, i elagitanin, u ovom slučaju vescalagin, potječe iz hrastovih bačava.

3.2. Enološka i antioksidativna svojstva tanina

Osim sposobnosti taloženja proteina, svojstvo radi kojeg se tanini koriste u enologiji već dugi niz godina ostali učinci radi kojih se koriste tanini u enologiji su antioksidativna aktivnost, antiradikalna aktivnost, sposobnost vezanja sumpornih spojeva, stabilizacija i očuvanje boje, aromatska funkcija i povećanje strukture vina. Dobiveni rezultati ovise prvenstveno o podrijetlu tanina, njihovoj čistoći, te metodama ekstrakcije (Citron, 2007).

Antioksidativna aktivnost tanina:

Antioksidanti su svi spojevi sa sposobnošću sprječavanja ili usporavanja oksidacijskih reakcija. Fenolni spojevi pokazuju izrazitu antioksidativnu sposobnost. Naročito hidrolizirajući tanini pokazuju sklonost vezivanja kisika u odnosu na kondenzirane tanine s obzirom da posjeduju više OH skupina na aromatskom prstenu. Sinergistiki djeluju sa sumpornim dioksidom tako da se ujedno održava veći postotak slobodnog SO₂ na završetku fermentacije. Reakcije vezanja kisika su također i brže, tako da je redom brzina vezanja kisika: elagotanini > galotanini > kondenzirajući tanini. Također je i u prisustvu dodanih tanina sadržaj slobodnog SO₂ u buteljiranim vinima kroz vrijeme veći. Poznato je da elagotanini oksidirajući se u kinone proizvode vodikov peroksid, važan nusprodukt tijekom formiranja etanala. Ova je reakcija važna za stabilizaciju crvene boje tijekom dozrijevanja crvenih vina.

Tanini se mogu smatrati prirodnim antioksidansima eliminirajući oksidativne pojave te pritom čuvajući mirisne komponente vina. Također je uočeno da tanini u vinu mogu unutar svoje strukture služiti i kao potpora za očuvanje jako hlapivih aromatskih spojeva. Vina se postepeno razvijaju, otvaraju i postaju kompleksnija u okusu. Antioksidativna aktivnost tanina je izražena i protiv enzimatskih kompleksa koji kataliziraju prijenos kisika na polifenole (polifenoloksidaze) uzrokujući potamnjenje mošta i smanjenje aromatskog potencijala.

Najopasniji enzim je lakaza, prisutna u velikim količinama u moštu od grožđa napadnutim Botrytisom. Galotanini su najaktivniji za inhibiciju lakaze.

Antiradikalna aktivnost

Slobodni radikali su sastavljeni od atoma, molekula ili dijelova molekula i izrazito su nestabilni zbog jednog slobodnog elektrona. Da bi postali stabilni sudjeluju u brojnim oksidativnim reakcijama, a kao rezultat je rani gubitak svježine vina. Svi fenolni spojevi su efikasni uništavatelji slobodnih radikala. U vinu je antiradikalna aktivnost tanina izraženija od sumpornog dioksida i askorbinske kiseline. Procijanidin dimer B2 (kondenzirani) ima sposobnost da u dozama oko 100 mg/L smanji aktivnost slobodnih radikala za 50 %. U bijelim vinima je ta sposobnost egzogenih tanina izraženija jer crvena vina izražene strukture i fenolno bogata posjeduju već tu aktivnost (Ariga i Hamano, 1990).

Sposobnost vezanja sumpornih spojeva:

Tioli i merkaptani su spojevi sa funkcionalnom SH skupinom. Mogu nastati u uvjetima slabog sadržaja kisika, tijekom odležavanja vina na talogu ili u slabo propusnim spremnicima na kisik stvarajući slijedom vremena niske vrijednosti redoks potencijala. Dodatkom tanina, naročito hidrolizirajućih, smanjuje se sadržaj tiola. Istraživanja navode smanjenje etantiola i do 80 % u roku od 60 dana. To se dešava nakon slijeda kemijskih reakcija kojima nastaje vodikov peroksid i slobodni radikali koji razlažu SH skupinu na S i H⁺ ione. Dato smanjenje tiola zahtjeva duže vrijeme ali zamjenjuje prozračivanje i mogućnost oksidacije aromatskih spojeva i boje.

3.3. Učinak antioksidativnih tanina

Antioksidansi su spojevi koje u niskoj koncentraciji u odnosu na oksidirani supstrat, usporavaju ili inhibiraju oksidaciju tog supstrata (Halliwell i Gutteridge, 1995). Oni imaju svojstva koja djeluju kao reducirajuće sredstvo, te neutraliziraju slobodne radikale dajući im svoj elektron i time inhibiraju njihovu aktivnost. Slobodni radikali su molekule koje imaju jedan ili više nesparenih elektrona u elektronskim orbitama, što ih čini vrlo reaktivnima prema mnogim drugim molekulama u stanici. Jednom takvom reakcijom slobodni radikali se mogu vezati na molekulu DNA, a što dovodi do njenog oštećenja. Također su moguće i druge reakcije slobodnih radikala koje naposljetku dovode do uništavanja stanične strukture te

brojnih degenerativnih bolesti. Slobodni radikali mogu oštetiti lipidnu membranu stvarajući ugljikov radikal koji reagira s kisikom i daje peroksidni radikal koji dalje reagira s masnim kiselinama stvarajući nove ugljikove radikale. Kada neka od nastalih oštećenja ostanu nepopravljena to dovodi do narušavanja raznih funkcija unutar stanice. To se posebno događa pri oksidativnom stresu kada razina slobodnih radikala poraste te mehanizmi popravka ne mogu efikasno uklanjati sva nastala oštećenja. Vrlo je bitno održavati ravnotežu antioksidansa u tijelu, stoga je potrebno uz endogene antioksidanse, unositi dodatne zdravom prehranom (Ames i sur., 1993). Najviše antioksidansa ima u voću, povrću, žitaricama, tamnoj čokoladi i drugdje.

Najvažniji u vodi topivi antioksidansi se polifenoli, kojih u niskim koncentracijama ima u grožđu, pa i u vinu. U bobici grozda neflavonoidni polifenolni spojevi su smješteni uglavnom u mesu, dok se flavonoidni polifenoli najvećim dijelom nalaze u kožici, sjemenkama i peteljci. Procesom vinifikacije spomenuti spojevi prelaze u vino, gdje su najzaslužniji upravo za zdravstvene učinke vina, ali i doprinose senzorskim karakteristikama vina poput boje, okusa, gorčine i oporosti. Najvažniji flavonoid u vinu je resveratrol, jaki antioksidans, koji hvata slobodne radikale te zaustavlja pojačano razaranje stanica štiteći ljubitelje vina od preuranjena starenja. Ima cijeli niz blagotvornih učinaka na zdravlje ljudi: sprječava klijenut srčanog mišića i tvorbu nakupina na mozgu i krvnim žilama, usporava grušanje krvi, blagotvoran je kod upalnih bolesti crijeva (ulcerativni kolitis i Crohnova bolest) i dijabetesa. Među važne fenolne spojeva spada i katehin, koji sprječava nastajanje krvnih ugrušaka. Tu su još kvercetin i epikatehin, koji zaustavljaju rast stanica raka i štite LDL kolesterol od oksidacije. Svi spomenuti fenolni spojevi usporavaju protok hrane kroz crijeva poslije obroka, sprječavaju oscilacije u razini šećera u krvi nakon apsorpcije hrane u krvotok. Na taj način pomažu pri liječenju dijabetesa, djelujući na razgradnju glukoze u stanicama isto kao i sintetski lijekovi. Antioksidacijska aktivnost vina je u korelaciji s koncentracijom ukupnih fenola u vinu te ovisi i o koncentraciji pojedinih fenolnih spojeva te o njihovim međusobnim odnosima. Primjenom različitih analitičkih metoda poput ORAC, DPPH i ABTS moguće je utvrditi koncentraciju fenola u vinu kao i antioksidacijsku aktivnost vina. Antioksidanse dijelimo na enzimatske i neenzimatske. Neki od najznačajnijih enzimatskih antioksidansa su superoksid dismutaza, katalaza, askorbat peroksidaza i glutathion 4 reduktaza. Askorbat, glutathion, karotenoidi i polifenoli su neki od najvažnijih neenzimatskih antioksidansa. Askorbat je najzastupljeniji antioksidans pronađen u svim tipovima biljnih stanica i veoma je bitan za zaštitu membrana.

4. SORTE MALVAZIJA ISTARSKA I ŽLAHTINA

U ovom specijalističkom završnom radu koristili smo vino kultivara Malvazija istarska i Žlahtina, najtipičnijih predstavnika vinogradarske podregije Hrvatska Istra i vinogradarske podregije Kvarner i Hrvatsko primorje.

4.1. Porijeklo i zastupljenost Malvazije istarske

Podrijetlo Malvazije istarske dosad nije utvrđeno te se smatra autohtonom i tipičnom sortom Istre. Pretpostavka nekih autora da potječe iz Grčke, koja se u prvom redu temelji na samom imenu sorte, nije potvrđena usporedbom s današnjim grčkim sortimentom vinove loze. Iako u svijetu postoji više sorata koje u svom imenu nose naziv Malvasia, genetička i morfološka istraživanja nisu pokazala identičnost ili srodnost Malvazije istarske s nekom od njih ili s nekom drugom poznatom sortom (Maletić, 2015).

Slika 1. Rasprostranjenost sorte Malvazija istarska



Izvor: Maletić, E. i sur. Zelena knjiga: Hrvatske izvorne sorte vinove loze, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, 2015.

Prvi pisani podaci o uzgoju Malvazije istarske u Istri potječu iz 1891. godine, kad su proizvođači vina iz Istre predstavili Malvaziju istarsku na izložbi vina u Zagrebu. Uzgoj Malvazije na sjevernom Jadranu ima višestoljetnu tradiciju. To je dokumentirano u povijesnim spisima, ali budući da postoji više sorata koje nose naziv Malvasia, teško je utvrditi o kojoj je točno sorti riječ. Pretpostavka je da je na sadašnjem teritoriju uzgoja Malvazije istarske i tada bila riječ o toj sorti budući da se ostale Malvazije danas ne uzgajaju na tom području i nisu se uzgajale u bliskoj prošlosti.

Prvi ampelografski opis Malvazije iz Istre objavljuje Libutti 1913. godine u časopisu L'Istria Agricola pod imenom Malvasia bianca, čiji opis odgovara upravo Malvaziji istarskoj. Tijekom 19. stoljeća i ranije širenje Malvazije istarske u Istri i okolici bilo je jako sporo i ograničeno zbog vjekovno ustaljene tradicije potrošnje crnih vina. Tako su u drugoj polovini 19. stoljeća u Istri sve bijele sorte grožđa zajedno zauzimale tek 10 posto svih površina pod vinogradima. Tek se nakon Prvog svjetskog rata u Istri počinju brže širiti bijele sorte, pa tako i Malvazija istarska. Nakon Drugog svjetskog rata udio Malvazije istarske u Istri premašuje 40 % površina, dok se danas uzgaja na nešto manje od 60 posto ukupnih vinogradarskih površina Istre (Maletić, 2015).

Malvazija istarska u najvećoj se mjeri uzgaja u podregiji Hrvatska Istra, gdje je vodeća sorta u proizvodnji. Osim toga, u manjoj se mjeri uzgaja i u podregiji Hrvatsko primorje. Posljednjih se godina u manjoj mjeri sadi i u nekim ostalim vinogradarskim podregijama Hrvatske. Izvan Hrvatske se u većoj mjeri uzgaja u primorskom dijelu Slovenije, u prvom redu u podregiji Slovenska Istra te u talijanskoj regiji Friuli. Zahvaljujući visokoj reputaciji koju je stekla posljednjih godina, počela se saditi i u ostalim svjetskim vinogradarskim regijama (Maletić, 2015).

4.1.1. Morfologija Malvazije istarske

Vrh mladice Malvazije istarske je svijetlozelene boje i gol (bez dlačica). Mladi listići su svijetlozelene boje te su na licu i naličju goli, bez dlačica. Odrasli list je pentagonalan do okruglast i nešto izraženije širine u odnosu na duljinu. Nejednoličan je, velik i obično trodijelan (Maletić, 2015). Postrani gornji sinusi su nepravilni, plitki ili blago udubljeni te otvoreni. Postrani donji sinusi vrlo su slabo izraženi, slabije nego gornji. Sinus peteljke je

otvoren, oblika vitičaste zgrade. Lice lista je tamnozeleno, glatko i sjajno, a naličje svjetlije boje i golo. Plojka je neravna, valovita. Peteljka lista kraća je od glavne žile plojke.

Zreli grozd je srednje veličine, cilindrično-koničan, ponekad razgranat, s jednim krilcem. Srednje je zbijen, a ponekad i rastresit. Peteljka grozda srednje je duljine, odrvenjela samo pri bazi (uz mladicu), a ostatak peteljke je zeljast i meke građe, s jednim krhkim koljencem u sredini. Zrele bobice su srednje veličine, mase oko dva grama ili nešto više, okruglastog oblika, zelenkastožute boje, na sunčanoj strani zlatnožute ili sa smeđeljubičastim mrljama te s jasno izraženom pupčanom točkom smeđe boje. Mašak na kožici dobro je izražen i svijetlosive je boje. Kožica je tanka, ali čvrsta, a meso sočno. Na dobrim, osunčanim i nagnutim položajima sok je sladak i blago aromatičan, dok je kod uzgoja u udolinama i slabo osunčanim položajima bez osobita okusa (Maletić, 2015).

Slika 2. Malvazija istarska



Izvor: Vlastiti izvor

Malvazija istarska s vegetacijom počinje kasno, a dozrijeva u III. razdoblju. Rast je vrlo bujan, pogotovo u uvjetima dubokih i plodnih tala s većom dostupnošću vode. Rodnost je srednje visoka do visoka i uglavnom redovita. Ponekad je neredovita zbog problema u oplodnji, koji mogu nastati kad tijekom cvatnje nastupi kišno i hladno vrijeme. Ova sorta sklona je jačem osipanju ako tijekom cvatnje nastupe kišni i hladni uvjeti. Početkom

vegetacije osjetljiva je na vjetar koji može lomiti krhke mladice prije no što se one uhvate viticama za naslon. Teško podnosi tuču zbog krhkosti peteljke grozda. Osjetljiva je na crnu pjegavost na mladicama. Prema ostalim bolestima pokazuje dobru otpornost. Malvazija istarska daje visoku kakvoću grožđa i vina, koja je i prepoznata na ocjenjivanjima vina te od potrošača. Postiže srednje do visoke udjele šećera u grožđu, što ovisi o položaju i uvjetima uzgoja. Udio alkohola u vinu uobičajeno iznosi od 12 do 14 vol%, dok se ukupna kiselost vina obično kreće od 5,0 do 6,5 g/L. U sušnim i toplim godinama može dati mošt s niskom razinom ukupne kiselosti.

Malvazija istarska jako dobro uspijeva i na crvenici i na flišnim terenima, ali najbolje rezultate, posebice u kvaliteti vina, daje na brdovitim flišnim položajima južne i jugozapadne ekspozicije. Zbog visoke bujnosti ne odgovaraju joj duboka, plodna i vlažna tla u zatvorenim, slabo prozračnim položajima budući da se u takvim uvjetima mogu javljati problemi s oplodnjom, a i kakvoća grožđa može biti nezadovoljavajuća. Malvazija istarska vrlo je rodna sorta te je potrebno agrotehničkim i ampelotehničkim mjerama regulirati prinos trsova kako bi se postigla visoka kvaliteta grožđa. Također, zbog visoke bujnosti i sklonosti tjeranju zaperaka, potrebno je održavati umjerenu prozračnost zone grozda adekvatnim mjerama reza u zeleno (Maletić, 2015).

4.1.2. Tipologija vina Malvazije istarske

Vina koja se proizvode od sorte Malvazija istarska su svijetle, slamnatožute boje s izraženom zelenkastom nijansom. Miris vina je voćno-cvjetni, s karakterističnom sortnom aromom koja podsjeća na miris bagremova cvijeta, na zelenu jabuku i na badem. Okus vina je pun, zaobljen i harmoničan, ugodne svježine. U povoljnim godinama i na dobrim položajima grožđe Malvazije istarske može se ostavljati duže na trsu ili prosušivati u kontroliranim uvjetima radi nakupljanja visoke koncentracije šećera, od čega se dobivaju cijenjena desertna vina (Maletić, 2015).

U pravilu od grožđa ovog kultivara proizvode se suha vina, kao što je već spomenuto voćno – cvjetne arome, dobivena brzom preradom grožđa i hlađenom fermentacijom moštava. Glavni nositelji primarnih ili sortnih aroma su monoterpeni, kemijski spojevi karakteristični za aromatske sorte vinove loze. Najznačajniji su amonoterpeni u formi alkohola: linalol, geraniol, nerol, citronelol i - terpineol. Količina pojedinih monoterpenskih komponenti, kao i

ukupna suma ovih komponenti u grožđu ovisi o sorti, zdravstvenom stanju, stupnju zrelosti, zemljišnim i mikroklimatskim uvjetima, a i različitim ampelotehničkim zahvatima moguće je utjecati na sintezu, dinamiku i sadržaj monoterpena u grožđu. Koncentracija tih sastojaka u vinu pored toga ovisna je još i o tehnološkom postupku prerade i njege vina, te većeg broja drugih čimbenika kao što su maceracija, ekstrakcija, hidroliza, oksidacija, uporaba bentonita i pektolitičkih enzima. Najveća količina monoterpena se nalazi u kožici bobice, te načinom i duljinom trajanja maceracije možemo znatno utjecati na količinu monoterpena u moštu i vinu. (Radeka, 2005).

Većinom se proizvode suhe Malvazije ali možemo na tržištu vidjeti i polusuhe, poluslatke te slatke odnosno desertne Malvazije sa izrazito naglašenom aromom te visokim alkoholima. Tipološki se proizvode i macerirane malvazije koje dozrijevaju i u drvu. Malvazija istarska ima visoku gospodarsku vrijednost budući da objedinjuje dobru rodnost s visokom kvalitetom grožđa i vina, a osim toga ima i izraženu tipičnost i prepoznatljivost vezanu za područje Istre i okolice.

4.2. Porijeklo i rasprostranjenost Žlahtine

Žlahtina vjerojatno potječe s Bliskog Istoka ili Grčke, odakle je prenesena na područje hrvatskog Primorja (Vinodol i otok Krk). Budući da je ova sorta ovdje od davnina, smatra se i autohtonom sortom ovih krajeva (Zoričić, 2009). U sklopu nedavno završenog međunarodnog projekta, uspoređen je DNA profil Žlahtine s preko 2.000 europskih loza i nije utvrđena podudarnost ili bliska srodnost ni s jednom od njih. Ime sorte žlahtina dovodimo u vezu sa slavenskim pridjevom Žlahten što znači plemenit (Zoričić, 2017). U knjigama različitih autora za sortu Žlahtina još se spominju i nazivi: Žlahtina mala, Žlahtina vela, Žlahtina srednja te Žlahtina žuta. Da se Žlahtina na Krku nalazi i uzgaja od davnina možemo pročitati i u statutima Krka i Vrbnika (Vrbnički statut je napisan 1388. godine) te Vinodolskom zakoniku koji je napisan 1288. godine.

Slika 3. Rasprostranjenost sorte Žlahtina



Izvor: Maletić, E. i sur. Zelena knjiga: Hrvatske izvorne sorte vinove loze, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, 2015.

Najveći nasadi sorte Žlahtina nalaze se na otoku Krku u Vrbničkom polju koje je veličine 150 hektara od kojih je 95 % pod sortom Žlahtine. Ovu sortu u većim količinama moguće još pronaći u Novljanskom polju, dok se manji dio može još pronaći i na Bakarskim terasama (Zoričić, 2017).

4.2.1. Morfologija Žlahtine

Vršci mladica su malo povinuti, goli, zeleni i sjajni, s blagom crvenkastom nijansom. Mladica je snažna, okrugla, prugasta, dugih članaka zelene boje s bronziranom osunčanom stranom. Cvijet je dvospolan (Mirošević i Turković, 2003). Odrasli list srednje je velik ili velik, trodijelan ili peterodjelan. Gornji sinusi duboku su urezani, gotovo uvijek preklapljeni, a donji sinusi duboki, široki, oblika „U“, vrlo često sa zupcem na dnu. Sinus peteljke je kao široko „U“. Plojka je žljebasto valovita, slabo 11 mjehurasta. Lice svijetlozeleno glatko, a naličje svjetlije s vrlo rijetkim dlačicama na glavnim nervima. Peteljka je srednje duga, crvenkasta (Mirošević i Turković, 2003).

Zreli grozd je velik, piramidalan, često s jednim krilcem. Peteljka do koljenca odrvenjela, dolje izdužena (Mirošević i Turković, 2003). Zrele bobice su velike, okrugle, jednolične. Kožica dosta čvrsta, zeleno žuta, a u prezrelom stanju na sunčanoj strani jantarna,

obilno oprášena i posuta gustim smeđim točkicama. Meso je sočno i užitno (Mirošević i Turković, 2003). Rozgva je duga, debela, dugačkih, žutosmeđih članaka i zadebljelih crvenkastih koljenaca. Rast je vrlo bujan (Mirošević i Turković, 2003.). Visoke prinose postiže u uvjetima plodnih tala, a najbolju kakvoću jedino daje u toplim i oskudnim tlima izrazite mediteranske klime. Oplodnja je neredovita, rado se osipa i dozrijeva u III. razdoblju (Mirošević i Turković, 2003).

Slika 4. Grozd sorte Žlahtina



Izvor: Vlastiti izvor

4.2.2. Tipologija vina Žlahtine

Žlahtinom dominiraju svježi voćno-cvjetni mirisi, slamnatožute do zlatnožute boje, karakteristične sorte arome i skladna okusa. Okus je lagan i osvježavajući. Žlahtina daje svježija vina osrednje punoće i jakosti koja se postiže ponekad i uz više prinose. S obzirom na visok rodni potencijal, na plodnim tlima rodi obilno, što se izravno očituje i na kakvoći vina. Za proizvodnju „težih“, punijih i alkoholičnijih vina potrebno je birati tople položaje i slabije plodna tla. Vina Žlahtine najužitnija su kao mlada i nisu pogodna za dugo čuvanje (osim rijetkih berbi s izuzetno dobrih položaja). Upravo je svježina razlog korištenja Žlahtine i u proizvodnji pjenušavih vina. U pravilu vina od ove sorte su suha (0-4 g/L šećera) i preferira se da se konzumiraju kao mlada sa izraženom svježinom. Sadržaj alkohola u pravilu se kreće između 11,0 i 12 vol%. Sadržava uglavnom između 4,8 i 5,9 g/L ukupnih kiselina.

5. MATERIJALI I METODE

U ovom pokusnom radu postavile su se laboratorijske probe u malo i pratio se utjecaj antioksidativnih tanina i enoloških sumpornih sredstava na količinu slobodnog i ukupnog SO₂ u bijelim vinima kultivara Malvazija istarska i Žlahtina. Odabrane su različite tipologije vina kultivara Malvazija istarska, i to Malvazija istarska berbe 2019. (suho vino), Malvazija istarska berbe 2016. (suho vino i macerirana 7 dana) te Malvazija istarska berbe 2015. (desertno vino). Također, rađene su probe u vinu Žlahtina berbe 2019. (suho vino) te Žlahtini berbe 2018 godine (suho vino). Pokus se izvodio uz dodatak tri različita antioksidativna tanina Oenotantin Oenogal (Oenofrance), Galalcool (Laffort) i Tannredoks vit (Ever) u dozama od 5 g/hl, a uz svaki navedeni tanin u probi se koristio i K₂S₂O₅ (Enartis) u dozi od 5 g/hl. Usporedno sa varijantama tanina i K₂S₂O₅ postavljene su i laboratorijske probe u malo u Malvaziji istarskoj berbe 2019. samo sa K₂S₂O₅ (Enartis) u dozi od 10 g/hl te Nooxidom (Ever) također u dozi od 10 g/hl. Proba u malom odrađivala se u staklenim menzurama volumena 100 ml sa ubrušenim čepom nakon čega se pristupilo mjerenju slobodnog i ukupnog SO₂ u vinu metodom po Ripperu.

5.1. Enološka sumporna i antioksidativna sredstva korištena u istraživanju

Kalij metabisulfit (K₂S₂O₅) - kalijev metabisulfit bijeli je prah koji se najviše koristi u enološke svrhe jer pospješuje čišćenje mošta i vina, otapa polifenole, antioksidacijski djeluje na oksidacijske enzime, snižava kiselinu te antiseptički djeluje na neželjene bakterije.

Slika 5. Kalijev metabisulfit (Enartis)



Izvor: www.enartis.com

Nooxid (Ever) - kombinacija kalijevog-metabisulfita i askorbinske kiseline. Nooxid generira brzo smanjenje redox potencijala vina i povećanje molekularnog SO₂, povećava njegovu antiseptičku sposobnost prema mikroorganizmima.

Slika 6. Nooxid (Ever)



Izvor: www.ever.it

Oenotani Oenogal (Oenofrance) - tanin ekstrahiran alkoholom iz oraha koji se koristi za bijela vina za uklanjanje suvišnih proteina. Dodaje se prije bistrenja vina. Zbog svojih antioksidativnih svojstava preporuča se kod lošijih berbi odnosno trulog grožđa. Potpuno topiv u vodi i alkoholu, karakterizira ga stopa od 96 % čistoće.

Galalcool (Lafod) - je visoko pročišćeni ekstrakt galnih tanina (karakterizira ga stopa čistoće od 95 %) , s fizikalno kemijskim svojstvima koja su posebno dobro prilagođena bijeloj i vinifikaciji ružičastog vina. Smanjuje prirodnu enzimsku oksidacijsku aktivnost (lakaza ili tirozinaza), nadopunjavajući aktivnost SO₂. Povoljan je za taloženje nestabilnih proteina u kombinaciji s upotrebom bentonita. Regulira i minimizira dodavanje SO₂ zbog izvrsnog antioksidacijskog djelovanja. Poboljšava bistrenje.

Tannredoks vit (Ever) - je mješavina galnih tanina i askorbinske kiseline koja se koristi zahvaljujući njezinoj velikoj antioksidacijskoj moći, kako tijekom maceracije tako i tijekom dorade vina, kako bi se izbjegle neželjene oksidacije. Uobičajeno se koristi u vinarstvu bez sumpor-dioksida. Zahvaljujući velikom kapacitetu kombiniranja otopljenog

kisika, omogućuje sprječavanje nastanka , formiranja i povećanja žutih tonova u tretiranim vinima. Tannredoks vit posjeduje 59 % čistoće.

Slika 7. Korišteni tanini u pokusu



Izvor: Vlastiti izvor

5.2. Priprema otopina i postavljanje proba u malo

Za postavljanje laboratorijskih proba u malo pripremljene su 1 % otopine tanina i sumpora na način da ju u 100 ml hidroalkoholne otopine dodan 1 g tanina odnosno sumpora. Kroz suhi ljevak se prenijela kvantitativno u odmjernu tikvicu potrebna količina tanina ili sumpor, zatim se nadopunila hidroalkoholnom otopinom cca 80 % te se na magnetskoj miješalici miješala (10 min). Nakon miješanja otopine su nadolivene hidroalkoholnom otopinom do oznake na tikvici.

Slika 8. Priprema otopine tanina



Izvor: Vlastiti izvor

Probe u malo su izvršene u staklenim menzurama volumena 100 ml sa ubrušenim čepom. Menzure su nadopunjene vinom, a kontrolnom je uzorku prije svake korekcije izmjeren sadržaj slobodnih i ukupnih sumpora. Korekcije pojedinim enološkim sumpornim sredstvom su izračunate na način da 1ml (1 % otopine) dodan u 100 ml vina simulira dodatak 10 g/hl pojedinog sredstva. U predviđeni su uzorak vina tanini dodani u količini od 0,5ml (1 %) otopine na 100ml uzorka vina što odgovara vrijednosti dodatka od 5 g/hl, dok su kalij metabisulfit i nooxid dodani u količini od 1ml (1 %) otopine na 100 ml uzorka vina što odgovara povećanju od 10 g/hl pojedinog sredstva. Kemijska analiza vina, odnosno određivanje slobodnog i ukupnog sumpornog dioksida u uzorcima je izvršeno nakon 7 dana po postavljanju probe poradi uspostavljanja ravnoteže između slobodnog i vezanog sumpornog dioksida.

Slika 9. Laboratorijske probe u malo



Izvor: Vlastiti izvor

5.3. Određivanje slobodnog i ukupnog SO₂ po Ripperu

Da bi se moglo opisati neko vino potrebno je napraviti određivanje osnovnih parametara poput sadržaja šećera, alkohola, sumpornog dioksida i kiselina. Ovi parametri pomažu u klasifikaciji dobivenog vina i pomažu u kasnijim odlukama u kojem pravcu razvijati proizvedeno vino, ili kako ga određenim tehnološkim procesima poboljšati.

Metodom po Ripperu SO₂ se određuje jodometrijski, gdje otopina joda oksidira SO₂, pri čemu se jod reducira. Usporedno se određuje slobodni i ukupni SO₂, a količina vezanog SO₂ izračuna se iz njihove razlike.

$$\text{UKUPNI SO}_2 = \text{SLOBODNI SO}_2 + \text{VEZANI SO}_2$$

Potrebni pribor:

Tikvica Erlenmayer (250 ml), pipete (5,10,25 i 50 ml), smeđa bireta (10ml) sa bocom, odmjerne tikvice (100 i 1000 ml).

Potrebne otopine:

- N/50 Jod: 200 ml 0,1 N joda nadopuniti sa destiliranom vodom do 1000 ml (može se kupiti titrival – ampula 0,1N joda),
- H₂SO₄ (25 %): 100 ml H₂SO₄ (96 %) dodati u 400 ml destilirane vode (1:4) – nikada vodu u kiselinu (prskanje!), egzotermna reakcija (može se kupiti pripremljena),
- 1 N NaOH: 40g NaOH rastopiti u 1000 ml destilirane vode, egzotermna reakcija (može se kupiti titrival – ampula 1N NaOH) i
- 1 % škrob: 1g škroba otopiti u 100 ml destilirane vode, par minuta prokuhati dok otopina ne postane prozirna, otopina je mikrobiološki nestabilna (pripremiti svježu svakih mjesec dana).

Određivanje slobodnog SO₂:

U erlenmayericu se otpipetira 50 ml vina koje se ispušta iz pipete čiji kraj gotovo dodiruje dno. Vinu se doda 10 ml H₂SO₄ (25 %) i 2 ml škroba. Sumporna kiselina se dodaje jer je oksidacija u kiseloj sredini intenzivnija (reakcija se brže odvija), dok škrob služi kao indikator. Ta se mješavina titrira sa N/50 jodom do pojave modro plavičaste boje koja mora biti postojana oko 30 sekundi (oksidiran je kompletan SO₂). Izračunavanje se vrši tako da se utrošak ml otopine joda množi se faktorom 12,8 i dobije se podatak o količini slobodnog sumpora izražen u mg/L vina.

$$\text{SLOBODNI SO}_2 = \text{utrošak ml N/50 joda} \times 12,8$$

Određivanje ukupnog SO₂:

U erlenmayericu se otpipetira 25 ml 1N NaOH, a u lužinu dodati 50 ml vina. Za vrijeme ispuštanja vina kraj pipete treba biti uronjen u alkalnu otopinu. Tikvicu začepimo gumenim čepom, te ostavimo da lužina djeluje na vino 15 min. NaOH stvara lužnatu sredinu u kojoj se vezani SO₂ oslobađa, tako da se nakon nekog vremena sav SO₂ nalazi u slobodnom obliku. Otopini dodati 15 ml H₂SO₄ (25 %) i 2 ml škroba. Titrira se sa N/50 jodom do pojave modro plavičaste boje koja mora biti postojana oko 30 sekundi. Izračunavanje se vrši tako da se utrošak ml otopine joda množi se faktorom 12,8 i dobije se podatak o količini ukupnog sumpora izražen u mg/L vina.

$$\text{UKUPNI SO}_2 = \text{utrošak ml N/50 joda} \times 12,8$$

Slika 10. Otopine za određivanje slobodnog SO₂ po Ripperu



Izvor: Vlastiti izvor

6. REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati ovog rada temelje se na rezultatima kemijske analize vina odnosno određivanju slobodnog i ukupnog SO₂ u vinu metodom po Ripperu koja je izvršena nakon 7 dana po postavljanju laboratorijskih proba u malo poradi uspostavljanja ravnoteže između slobodnog i vezanog sumpornog dioksida. U tablicama je prikazan i izračun u proizvodnim uvjetima dodatkom 10g/hl K₂S₂O₅ ili 10g/hl Nooxida ovisno o dodanom enološkom sredstvu.

Iz tablice 1. vidljivo je da je dobivena razina slobodnog SO₂ u varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ najviša u odnosu na ostala enološka sredstva, a može se protumačiti na način jer Tannredoks ima u svom sastavu osim tanina i askorbinsku kiselinu koja je jači antioksidans od sumpora. U varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ dobivena je najniža razina vezanog SO₂ u odnosu na ostala enološka sredstva. U svim je varijantama dobivena viša razina slobodnog SO₂ odnosno niža razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, a može se protumačiti višom razinom slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu.

Tablica 1. Analiza SO₂ u vinu Malvazija istarska berbe 2019. (suho vino)

Enološka sredstva	Malvazija istarska					
	*Slobodni SO ₂ (mg/L)	**Slobodni SO ₂ (mg/L)	*Ukupni SO ₂ (mg/L)	**Ukupni SO ₂ (mg/L)	*Vezani SO ₂ (mg/L)	**Vezani SO ₂ (mg/L)
Kontrola	35,0	/	89,0	/	54,0	/
K ₂ S ₂ O ₅ (10g/hl)	69,1	3,41	142,8	5,38	73,1	1,91
***Izračun	60,0	2,50	139,0	5,00	79,0	2,50
Oenogal (5g/hl)	61,6	2,66	133,9	4,49	72,3	1,83
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						
Galacool (5g/hl)	66,6	3,16	136,0	4,70	69,4	1,54
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						
Tannredoks(5g/hl)	74,9	4,00	143,0	5,40	68,1	1,41
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						

*izračunato na cjelokupnu dodanu količinu enološkog sredstva, **preračunato po 1g/hl dodanog enološkog sredstva, ***izračun u proizvodnim uvjetima dodatkom 10g/hl K₂S₂O₅;

Izvor: Vlastiti izvor

Bez obzira na veći postotni udio tanina i čistoće istih kod Oenogala i Galacoola u odnosu na Tannredoks dobivena je viša razina slobodnog SO₂ odnosno niža razina vezanog SO₂ u varijanti tanina Tannredoks, a može se također protumačiti na način jer Tannredoks ima u svom sastavu osim tanina i askorbinsku kiselinu koja je jači antioksidans od sumpora.

Iz tablice 2. vidljivo je da je dobivena razina slobodnog SO₂ u varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ najviša u odnosu na ostala enološka sredstva, a može se također protumačiti sastavom enološkog sredstva Tannredoks. U varijanti K₂S₂O₅ dobivena je najniža razina vezanog SO₂ u odnosu na ostala enološka sredstva. U svim je varijantama dobivena niža razina slobodnog SO₂ odnosno viša razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, a može se protumačiti nižom (nedovoljnom) razinom slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu.

Tablica 2. Analiza SO₂ u vinu Malvazija istarska berbe 2016. (suho vino)

Enološka sredstva	Malvazija istarska					
	*Slobodni SO ₂ (mg/L)	**Slobodni SO ₂ (mg/L)	*Ukupni SO ₂ (mg/L)	**Ukupni SO ₂ (mg/L)	*Vezani SO ₂ (mg/L)	**Vezani SO ₂ (mg/L)
Kontrola	20,5	/	122,0	/	101,5	/
K ₂ S ₂ O ₅ (10g/hl)	36,4	1,59	172,1	5,01	135,7	3,42
***Izračun	45,5	2,50	172,0	5,00	126,5	2,50
Oenogal (5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	33,8	1,33	186,4	6,44	152,6	5,11
Galacool (5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	33,8	1,33	195,2	7,32	161,4	5,99
Tannredoks(5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	41,7	2,12	198,2	7,62	156,5	5,50

*izračunato na cjelokupnu dodanu količinu enološkog sredstva, **preračunato po 1g/hl dodanog enološkog sredstva, ***izračun u proizvodnim uvjetima dodatkom 10g/hl K₂S₂O₅;

Izvor: Vlastiti izvor

U varijanti tanina Tannredoks dobivena je jedino veća razina slobodnog SO₂ u odnosu na ostale tanine, odnosno kod svih antioksidativnih tanina dobivena je izrazito viša razina vezanog SO₂ u odnosu na K₂S₂O₅.

Iz tablice 3. vidljivo je da je dobivena razina slobodnog SO₂ u varijanti tanina Oenogal i K₂S₂O₅ najviša u odnosu na ostala enološka sredstva. U varijanti dodatka samo K₂S₂O₅ dobivena je najniža razina slobodnog SO₂. Prema Šanteku (1991) može se dobivena vrijednost protumačiti na način jer glukoza, koja je prisutna u desertnim vinima veže slobodni SO₂.

Tablica 3. Analiza SO₂ u vinu Malvazija istarska berbe 2015. (desertno vino)

Enološka sredstva	Malvazija istarska					
	*Slobodni SO ₂ (mg/L)	**Slobodni SO ₂ (mg/L)	*Ukupni SO ₂ (mg/L)	**Ukupni SO ₂ (mg/L)	*Vezani SO ₂ (mg/L)	**Vezani SO ₂ (mg/L)
Kontrola	15,4	/	140,0	/	124,4	/
K ₂ S ₂ O ₅ (10g/hl)	23,2	0,78	190,5	5,05	167,3	4,29
***Izračun	40,4	2,50	190,0	5,00	149,4	2,50
Oenogal (5g/hl)	39,7	2,43	207,9	6,79	168,2	4,38
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						
Galacool (5g/hl)	31,4	1,60	199,0	5,90	167,6	4,32
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						
Tannredoks(5g/hl)	33,9	1,85	197,0	5,70	163,1	3,87
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						

*izračunato na cjelokupnu dodanu količinu enološkog sredstva, **preračunato po 1g/hl dodanog enološkog sredstva, ***izračun u proizvodnim uvjetima dodatkom 10g/hl K₂S₂O₅;

Izvor: Vlastiti izvor

U svim je varijantama dobivena niža razina slobodnog SO₂ odnosno viša razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, a može se protumačiti nižom (nedovoljnom) razinom slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu. U svim varijantama antioksidativnih tanina dobivena je izrazito viša razina slobodnog SO₂ u odnosu na K₂S₂O₅.

Iz tablice 4. vidljivo je da je dobivena razina slobodnog SO₂ u varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ najviša u odnosu na ostala enološka sredstva, a može se također protumačiti sastavom enološkog sredstva Tannredoks. U varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ dobivena je najniža razina vezanog SO₂ u odnosu na ostala enološka sredstva. U svim je varijantama dobivena viša razina slobodnog SO₂ odnosno niža razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, a može se protumačiti višom (dovoljnom) razinom slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu. U varijanti dodatka samo Nooxida izmjerena je niža razina slobodnog i vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima.

Tablica 4. Analiza SO₂ u vinu Malvazija istarska berbe 2019. (suho vino)

Malvazija istarska						
Enološka sredstva	*Slobodni SO ₂ (mg/L)	**Slobodni SO ₂ (mg/L)	*Ukupni SO ₂ (mg/L)	**Ukupni SO ₂ (mg/L)	*Vezani SO ₂ (mg/L)	**Vezani SO ₂ (mg/L)
Kontrola	32,0	/	89,0	/	57,0	/
Nooxid (10g/hl)	41,0	0,90	101,1	1,21	60,2	0,32
***Izračun	47,0	1,50	109,0	2,00	62,0	0,50
****Izračun	57,0	2,50	139,0	5,00	82,0	2,50
Oenogal (5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	57,2	2,52	130,1	4,11	72,9	1,59
Galacool (5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	58,3	2,63	130,8	4,08	72,5	1,55
Tannredoks(5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	65,3	3,33	136,8	4,78	71,5	1,45

*izračunato na cjelokupnu dodanu količinu enološkog sredstva, **preračunato po 1g/hl dodanog enološkog sredstva, ***izračun u proizvodnim uvjetima dodatkom 10g/hl Nooxid,
****izračun u proizvodnim uvjetima dodatkom 10g/hl K₂S₂O₅;

Izvor: Vlastiti izvor

U svim varijantama antioksidativnih tanina dobivena je viša razina slobodnog SO₂ i niža razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun K₂S₂O₅ u proizvodnim uvjetima.

Iz tablice 5. vidljivo je da je dobivena razina slobodnog SO₂ u varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ najviša u odnosu na ostala enološka sredstva, a može se protumačiti na način jer Tannredoks ima u svom sastavu osim tanina i askorbinsku kiselinu koja je jači antioksidans od sumpora. U varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ dobivena je najniža razina vezanog SO₂ u odnosu na ostala enološka sredstva.

Tablica 5. Analiza SO₂ u vinu Žlahtina berbe 2019. (suho vino)

Enološka sredstva	Žlahtina					
	*Slobodni SO ₂ (mg/L)	**Slobodni SO ₂ (mg/L)	*Ukupni SO ₂ (mg/L)	**Ukupni SO ₂ (mg/L)	*Vezani SO ₂ (mg/L)	**Vezani SO ₂ (mg/L)
Kontrola	11,5	/	38,4	/	26,9	/
K ₂ S ₂ O ₅ (10g/hl)	30,7	1,92	79,4	4,10	48,7	2,18
***Izračun	36,5	2,50	88,4	5,00	51,9	2,50
Oenogal (5g/hl)	49,0	3,75	101,1	6,27	52,2	2,53
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						
Galacool (5g/hl)	47,6	3,61	100,2	6,18	52,6	2,57
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						
Tannredoks(5g/hl)	57,0	4,50	102,1	6,37	45,1	1,82
+ K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)						

*izračunato na cjelokupnu dodanu količinu enološkog sredstva, **preračunato po 1g/hl dodanog enološkog sredstva, ***izračun u proizvodnim uvjetima dodatkom 10g/hl K₂S₂O₅;

Izvor: Vlastiti izvor

U svim je varijantama antioksidativnih tanina dobivena veća razina slobodnog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, odnosno niža razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, bez obzira što je vino imalo najnižu razinu slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu.

Iz tablice 6. vidljivo je da je dobivena razina slobodnog SO₂ u varijanti K₂S₂O₅ najviša u odnosu na ostala enološka sredstva. U varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ dobivena je najniža razina vezanog SO₂ u odnosu na ostala enološka sredstva. U svim je varijantama dobivena veća razina slobodnog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, a može se protumačiti višom (dovoljnom) razinom slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu.

Tablica 6. Analiza SO₂ u vinu Žlahtina berbe 2018. (suho vino)

Enološka sredstva	Žlahtina					
	*Slobodni SO ₂ (mg/L)	**Slobodni SO ₂ (mg/L)	*Ukupni SO ₂ (mg/L)	**Ukupni SO ₂ (mg/L)	*Vezani SO ₂ (mg/L)	**Vezani SO ₂ (mg/L)
Kontrola	33,4	/	97,0	/	63,6	/
K ₂ S ₂ O ₅ (10g/hl)	67,6	3,42	160,9	6,40	93,3	2,97
***Izračun	58,4	2,50	147,0	5,00	88,6	2,50
Oenogal (5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	65,3	3,16	160,0	6,30	94,7	3,11
Galacool (5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	65,0	3,16	157,0	6,00	92,0	2,84
Tannredoks(5g/hl) + K ₂ S ₂ O ₅ (5g/hl)	65,0	3,19	144,1	4,73	79,1	1,55

*izračunato na cjelokupnu dodanu količinu enološkog sredstva, **preračunato po 1g/hl dodanog enološkog sredstva, ***izračun u proizvodnim uvjetima dodatkom 10g/hl K₂S₂O₅;

Izvor: Vlastiti izvor

U varijanti tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ dobivena je najniža razina vezanog SO₂ odnosno najniža razina ukupnog SO₂ u odnosu na ostala enološka sredstva.

7. ZAKLJUČAK

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj antioksidativnih tanina i enoloških sumpornih sredstava na količinu slobodnog i ukupnog SO₂ u bijelim vinima kultivara Malvazija istarska i Žlahtina. Prema rezultatima istraživanja može se zaključiti da je:

- Najviša razina slobodnog SO₂ u svim suhim vinima dobivena u varijanti dodatka tanina Tannredoks i K₂S₂O₅ u odnosu na ostala enološka sredstva, a može se protumačiti na način jer Tannredoks ima u svom sastavu osim tanina i askorbinsku kiselinu koja je jači antioksidans od sumpora.
- Bez obzira na veći postotni udio tanina i čistoće istih kod Oenogala i Galacoola u odnosu na Tannredoks najviša razina slobodnog SO₂ u svim suhim vinima dobivena u varijanti dodatka antioksidativnog tanina Tannredoks.
- Jedino je kod desertnog vina dobivena najviša razina slobodnog SO₂ u varijanti tanina Oenogal i K₂S₂O₅ u odnosu na ostala enološka sredstva.
- U uzorcima vina Malvazija istarska berbe 2019., Žlahtine berbe 2019. i Žlahtina berbe 2018. dobivena je u svim varijantama antioksidativnih tanina viša razina slobodnog SO₂ u odnosu na K₂S₂O₅.
- Najniža razina slobodnog SO₂ dobivena je u desertnom vinu dodatkom samo K₂S₂O₅ jer glukoza, koja je prisutna u desertnim vinima veže slobodni SO₂.
- U uzorcima vina Malvazija istarska berbe 2019. i Žlahtina berbe 2018. dobivena je viša razina slobodnog SO₂ odnosno niža razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, a može se protumačiti dovoljnom razinom slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu.

- U uzorcima vina Malvazija istarska berbe 2016. i desertnom vinu Malvazija istarska berbe 2015. dobivena je niža razina slobodnog SO₂ odnosno viša razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, a može se protumačiti nedovoljnom razinom slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu.
- Jedino je u uzorku vina Žlahtina berbe 2019. dobivena viša razina slobodnog SO₂ odnosno niža razina vezanog SO₂ u odnosu na izračun u proizvodnim uvjetima, bez obzira što je vino imalo najnižu razinu slobodnog SO₂ u početnom, kontrolnom vinu.

POPIS LITERATURE

Popis Knjiga

1. Jacobson, J. L., Introduction to Wine Laboratory Practices and Procedures. Springer, Berlin, 2006.
2. Maletić, E., et al., Green book: Indigenous grapevine varieties of Croatia, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, 2015.
3. Mirošević, N., Turković, Z., Ampelografski atlas, Golden marketing- Tehnička knjiga, Zagreb, 2003.
4. Ribéreau-Gayon, P., Maujean, A., i Dubourdieu, D. (2000), Handbook of Enology, Volume The Chemistry of wine. Stabilization and Treatments. John Wiley & Sons Ltd, England.
5. Šantek, M. (1991) Sumporni dioksid i vino, vlastita naklada, Zagreb, str. 13.
6. Zoričić, M., Kultura vina, Bratovština hrvatskih vinskih vitezova, Zagreb 2009.
7. Zoričić, M., Vinova loza u prošlosti i sadašnjosti Opatijsko-Riječko- Vinodolskog vinogorja, Bratovština hrvatskih vinskih vitezova, Kastav 2017.

Radovi

1. Ariga, T. i Hamano, M. (1990), Radical scavenging action and its mode in procyanidin B-1 and B-3 from Azuki beans to peroxy radicals, *Agric. Biol. Chem.*, 54, 2499-2504.
2. Bradshaw M.P., Prenzler P.D., Scollary G.R. (2001): Ascorbic acid-induced browning of (+)- catechin in a model wine system. *J. Agr. Food Chem.* 49: 934-939.
3. Bradshaw M.P., Prenzler P.D., Scollary G.R. (2004): Examination of the sulfur dioxide-ascorbic acid anti-oxidant system in a model white wine matrix. *J. Sci. Food Agricul.* 84: 318-324
4. Citron, G. (2007), L“informatore agrario, n.10, 73-77
5. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1995): How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem. Soc. Symp.* 61: 73-101.
6. Khanbabaee, K., i Van Ree, T., (2001), Tannins: Classification and definition, *Nat. Prod. Rep.*, 18:641-649
7. Li H., Guo A., Wang H. (2008): Mechanism of oxidative browning of wine. *Food Chem.* 108: 1- 13.
8. Radeka, S., Doktorski rad: Maceracija masulja i primarne arome vina Malvazija Istarska, 2005.

POPIS SLIKA

Slika 1. Rasprostranjenost sorte Malvazija istarska	19
Slika 2. Malvazija istarska	21
Slika 3. Rasprostranjenost sorte Žlahtina	24
Slika 4. Grozd sorte Žlahtina.....	25
Slika 5. Kalijev metabisulfit (Enartis).....	26
Slika 6. Nooxid (Ever)	27
Slika 7. Korišteni tanini u pokusu	28
Slika 8. Priprema otopine tanina	29
Slika 9. Laboratorijske probe u malo	30
Slika 10. Otopine za određivanje slobodnog SO ₂ po Ripperu	32

POPIS TABLICA

Tablica 1. Analiza SO ₂ u vinu Malvazija istarska berbe 2019. (suho vino).....	33
Tablica 2. Analiza SO ₂ u vinu Malvazija istarska berbe 2016. (suho vino).....	34
Tablica 3. Analiza SO ₂ u vinu Malvazija istarska berbe 2015. (desertno vino).....	35
Tablica 4. Analiza SO ₂ u vinu Malvazija istarska berbe 2019. (suho vino).....	36
Tablica 5. Analiza SO ₂ u vinu Žlahtina berbe 2019. (suho vino)	37
Tablica 6. Analiza SO ₂ u vinu Žlahtina berbe 2018. (suho vino)	38