

# Spektrofotometrijsko određivanje boje i sadržaja tanina u vinima sorte Pošip

---

**Papić, Gabriel**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, University of Split, Faculty of science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:166:368704>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Science](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za kemiju

Gabriel Papić

**SPEKTROFOTOMETRIJSKO  
ODREĐIVANJE BOJE I SADRŽAJA  
TANINA U VINIMA SORTE POŠIP**

Završni rad

Split, 2022.

Ovaj rad, izrađen u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Renate Odžak, predan je na ocjenu Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnika biologije i kemije.

## **Zahvala**

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Renati Odžak te neposrednoj voditeljici dr. sc. Marini Kranjac za stručno vodstvo, savjetovanje i pomoć pri izradi ovog rada kao i izvedbi eksperimentalnih mjerenja.

Također se zahvaljujem čitavoj svojoj obitelji, a posebno svojoj djevojci Isabeli Marini, za potporu – i strpljenje – prilikom pisanja rada.

Posebne zahvale upućujem vinariji *Testament* iz Šibenika za nabavu dijela uzoraka vina koji su ovaj rad učinili mogućim.

Hvala Vam svima!

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za kemiju  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

Završni rad

### SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE BOJE I SADRŽAJA TANINA U VINIMA SORTE POŠIP

Gabriel Papić

Vino je kemijski složena smjesa različitih vrsta spojeva koji uključuju fenolne spojeve koji doprinose boji vina. U fenolne spojeve spadaju i tanini koji su odgovorni za trpak okus vina. Ovi spojevi u vino dospijevaju procesom maceracije. Maceracija je proces u kojem su pokožice i sjemenke grožđa u kontaktu sa sokom. Bijela vina obično nisu macerirana, a maceracijom bijelog grožđa dobiju se tzv. jantarna, *orange* ili macerirana vina. U ovom radu je UV-VIS spektrofotometrijom određen sadržaj tanina u uzorcima bijelog kao i u uzorcima maceriranog bijelog vina autohtone sorte vinove loze – Pošip. Dobiveni rezultati analize uzoraka iz nekoliko godina berbe pokazuju da macerirana bijela vina imaju višu koncentraciju tanina od nemaceriranih bijelih vina (4,46 g/L za *orange* vino, a 0,547 g/L za bijelo vino iste godine berbe). Također je uočeno kako će maceracija kod većine uzoraka uzrokovati povećanje intenziteta boje maceriranih u odnosu na nemacerirana bijela vina (0,520 i 0,190 za iste uzorke).

**Ključne riječi:** bijelo vino, macerirano bijelo vino, tanini, Pošip, boja vina, maceracija

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

**Rad sadrži:** 33 stranice, 13 grafičkih prikaza, 4 tablice i 28 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** dr. sc. Renata Odžak, izvanredni profesor

**Neposredni voditelj:** dr. sc. Marina Kranjac, viši predavač

**Ocjenjivači:** dr. sc. Renata Odžak, izvanredni profesor

dr. sc. Marina Kranjac, viši predavač

dr. sc. Ivica Ljubenkov, izvanredni profesor

Rad prihvaćen:

## Basic documentation card

University of Split  
Faculty of Science  
Department of Chemistry  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

B. Sc. Thesis

### SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF COLOR AND TANNIN CONTENT IN POŠIP WINES

Gabriel Papić

Wine is a chemically complex mixture of many different compounds which include phenolic compounds that contribute to wine color. Phenolic compounds include tannins which contribute to astringency. These compounds are extracted into wine through maceration. Maceration is a process in which seeds and skins of grapes are kept in contact with grape juice. White wines usually aren't macerated, if they are we obtain what are called orange or amber wines. In this thesis, UV/Vis spectrophotometry was used to determine tannin content of white and amber wines made from the autochthonous Dalmatian white variety – Pošip. Samples from several vintages showed that amber wines had higher tannin concentrations than white wine (4,46 g/L in amber wine, and 0,547 g/L in white wine from the same vintage). We also determined that maceration causes an increase in color intensity of amber wine as opposed to white (0,520 and 0,190 for the previous wine samples).

**Keywords:** white wine, macerated white wine, tannin, Pošip, wine color, maceration

Thesis deposited in the library of Faculty of Science, University of Split

**Thesis consists of:** 33 pages, 13 figures, 4 tables and 28 references, original in: Croatian

**Mentor:** Renata Odžak, Ph.D. *Associate Professor*

**Assistant Supervisor:** Marina Kranjac, Ph.D. *Assistant Professor / Associate Professor / Professor*

**Reviewers:** Renata Odžak, Ph.D. *Associate Professor*

Marina Kranjac, Ph.D. *Senior Lecturer*

Ivica Ljubenković, Ph.D. *Associate Professor*

Thesis accepted:

# Sadržaj

1	UVOD .....	1
2	RAZRADA TEME.....	2
2.1	Vino.....	2
2.2	Proizvodnja i tehnologija vina.....	2
2.2.1	Crna vina .....	2
2.2.2	Bijela vina.....	8
2.2.3	Važnost procesa maceracije .....	11
2.3	Kemijski sastav vina.....	13
2.3.1	Tanini.....	18
2.4	Boja vina.....	20
2.4.1	Boja bijelih vina .....	20
2.5	UV/Vis spektrofotometrija .....	21
3	MATERIJALI I METODE.....	22
3.1	Spektrofotometrijsko određivanje boje i sadržaja tanina u vinu .....	22
3.2	Metode određivanja.....	22
3.2.1	Određivanje ukupnog sadržaja tanina.....	22
3.2.2	Određivanje parametara boje vina.....	23
4	REZULTATI I RASPRAVA .....	24
4.1	Određivanje ukupnog sadržaja tanina uzoraka vina .....	24
4.2	Spektrofotometrijsko određivanje parametara boje vina.....	26
4.2.1	Intenzitet boje .....	26
4.2.2	Kompozicija boje.....	28
5	ZAKLJUČAK .....	31
6	LITERATURA .....	32

# 1 UVOD

Vino kao piće ima povijest gotovo dugu kao i samo čovječanstvo. Vinova loza, *Vitis vinifera* L., prirodno je rasla kao divlja biljka u području Kavkaza. Čovjek je sakupljao njezine plodove kao i ostale biljke koje su bile jestive. Nakon što je čovjek prešao s nomadskog na sjedilački oblik života nije bilo potrebno puno vremena da započne uzgoj vinove loze i njezino širenje s Kavkaza ka bliskom istoku i obalama Mediteranskog mora. Divlje vinove loze bile su dvodomne biljke, što je doprinos izrazitoj prilagodljivosti ove vrste. Također, razmnožavanje raznih jedinki dovelo je do pojave velike genotipske, kao i fenotipske, raznolikosti. Ta raznolikost, skupa sa selektivnim križanjem primjeraka vinove loze poželjnih karakteristika dovela je do izrazito velikog broja kultivara, neki od kojih su važni i danas (Millon, 2013). Od brojnih kultivara prisutnih u Dalmaciji, posebna pozornost u ovom radu posvećuje se jednom autohtonom kultivaru – Pošipu. Pošip bijeli je autohtoni kultivar vinskog grožđa koji potječe s otoka Korčule. Prema legendi težak Marin Tomašić Barbaca sa Smokvice na Korčuli je na području Čare pronašao samoniklu lozu. Ova loza oduševila ga je svojim okusom i aromom, te je sakupio njezine prutiće koje je zasadio i postepeno umnožavao u svom vinogradu. Ime pošip potječe zbog karakteristične izdužene bobice koja nalikuje na glavu maškline, odnosno na Korčuli ima izgled „po šipu“ – pošip. (Kunjašić, 2008). Danas nam je poznato da je pošip uistinu nastao spontanim križanjem dvije bijele vinske sorte – Zlatarice Blatske bijele i Bratkovine bijele (Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, 1996). Većina vina može se svrstati u nekoliko kategorija, od kojih su najpoznatije crna vina te bijela vina. Razlika između ova dva osnovna tipa vina je u vrsti grožđa koja se koristi, kao i u tehnologiji same proizvodnje. U posljednjih nekoliko desetljeća sve veću popularnost uživaju *orange*, jantarna ili macerirana bijela vina. Zbog drugačijeg tehnološkog procesa proizvodnje, takva vina se razlikuju po kemijskom sastavu i kakvoći. Takva vina dobiju se postupkom maceracije soka bijelog grožđa s pokožicama i sjmenekama istog, za razliku od nemaceriranih bijelih vina koja se dobiju fermentacijom bez maceracije (Hammack & Puckette, 2018). Ova maceracija rezultirati će većom količinom fenolnih spojeva u vinu. Ovi spojevi su važni za razvoj boje i organoleptičkih svojstava vina. Važna skupina fenolnih spojeva su tanini koji su odgovorni za osjet trpkosti prilikom konzumacije (Waterhouse, et al., 2016). Cilj ovog rada je spektroskopskim metodama odrediti te usporediti ukupni sadržaj tanina bijelih i *orange* vina proizvedenih od iste sorte bijelog grožđa – Pošipa, kao i svojstva boje navedenih vina.



## 2 RAZRADA TEME

### 2.1 Vino

Smatra se da su prve vinove loze bile crnih pokožica ploda. Kroz vrijeme, kod određenih kultivara mutacijama je narušena funkcija dva srodna gena, VvMYBA1 i VvMYBA2, koji su odgovorni za biosintezu antiocijanina odnosno razvoju boje u pokožici grožđa. To je dovelo do postanka grožđa bijelih pokožica (Walker, et al., 2007).

Povijesni nalazi upućuju da je prvo vino nastalo – slučajno, ako pod vina smatramo sok od grožđa koji je prošao kroz proces alkoholne fermentacije. Sok crnog i bijelog grožđa je svijetlo ili smečkasto žut do zelen, ovisno o kultivaru i zrelosti. Sve potrebno za alkoholnu fermentaciju već je, i oduvijek je bilo, prisutno u prirodi. Kvasac koji prirodno živi u zraku i na pokožicama grožđa hranio se glukozom kojom je sok grožđa bogat i stvarao alkohol, odnosno pretvarao sok u vino. Drugi mikroorganizmi u prirodi također su se hranili glukozom iz soka što je često dovodilo do pretvorbe vina u nepitki ocat. Čovjek je brzo uočio da grožđe za vino mora biti dovoljno slatko, jer ako nije (njemu iz tad nepoznatog razloga) lako bi došlo do kvarenja. Danas je poznato da bi niska razina šećera u protivnom rezultirala niskim udjelom alkohola u vinu, što može omogućiti razvoj mikroorganizama i kvarenje vina. Također je uočeno da je za proces pretvaranja vina u ocat ključan zrak. Samim time je od davnina cilj ograničiti kontakt vina s kisikom iz zraka, čemu je pomoglo doba keramike i razvoj keramičkih posuda uskog grla. Moderni procesi proizvodnje su napredniji u smislu sprečavanja nepoželjnih promjena u vinu. Temeljni proces dobivanja vina iz soka grožđa je ostao isti, samo uz veću kontrolu ljudskog faktora u svakom pojedinom koraku procesa (Millon, 2013).

### 2.2 Proizvodnja i tehnologija vina

#### 2.2.1 Crna vina

Proces proizvodnje svakog vina razlikuje se ovisno o vrsti vina koja se proizvodi. Crna vina proizvode se od crnog grožđa. Za većinu crnih vina grožđe koje dolazi u vinariju prolazi kroz proces muljanja i runjanja kojim se odstranjuju peteljke te bobice drobe kako bi se oslobodio sok (MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Peteljke se uklanjaju jer njihovom fermentacijom zajedno s pokožicama i sjemenkama u soku (smjesu soka s pokožicama i sjemenkama grožđa nazivamo moštom) se luči tanin. Većina kultivara crnog grožđa će dati crna vina koja već imaju dovoljno tanina pa bi dodatni tanin iz peteljke bio suvišan. Naravno, ako je riječ o kultivaru tanje pokožice (primjerice Gamay, Sangiovese i sl.) dobiveno vino može biti niskog sadržaja tanina pa se preskakanjem koraka muljanja i runjanja (odnosno zadržavanjem peteljki) može nadoknaditi sadržaj istog (MacNeil, 2015).

Fermentacija na peteljkama također ima utjecaj i na sama organoleptička svojstva vina. Odrvenjelost peteljke može biti u rasponu od potpuno zelene i fleksibilne do smeđe i lignizirane. Okus i arome koje će peteljke dodati vinu ovisni su o stadiju zrelosti iste. Tako će primjerice zelene peteljke više razvijati arome pokošene trave i zelene paprike, dok će više odrvenjele peteljke primjerice razvijati arome klinčića i zelenog papra. Zelene peteljke mogu otpustiti u mošt skup srodnih spojeva koje zajedno nazivamo metoksipirazinima. To su heterociklički spojevi vrlo izraženog „zelenog“ i „biljnog“ mirisa koji su u nekim vinima (primjerice Cabernet sauvignon ili Sauvignon bijeli) poželjni i dio sortne arome, a u drugima vinima se smatraju kao mana (Franklin, n.d.; Reynolds, 2010).

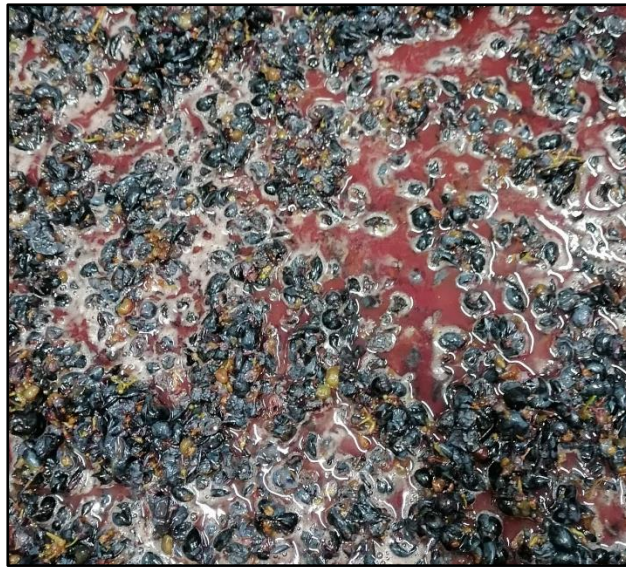
Nakon neobaveznog muljanja i runjanja dobivena masa soka, kožica i sjemenki koju nazivamo mošt se prebacuje u posudu za alkoholnu fermentaciju, koja je ujedno i sljedeći korak u procesu proizvodnje. To je korak u kojem se kvasci hrane šećerom u moštu i pri tome stvaraju alkohol, odnosno pretvaraju mošt u vino. Alkoholna fermentacija može biti potaknuta prirodnim kvascima, tj. onim kvascima koji se već nalaze u zraku ili na pokožicama, ili kultiviranim tj. uzgojenim kvascima. Vinski kvasci spadaju u vrstu *Saccharomyces cerevisiae*, a aroma koju razvijaju u moštu procesom fermentacije je svojstvena za svaki pojedini soj te vrste. Prilikom alkoholne fermentacije kao nusprodukt nastaje ugljikov (IV) oksid, CO<sub>2</sub>, koji odlazi u atmosferu (Hammack & Puckette, 2018; MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Ovaj odlazak CO<sub>2</sub> stvara u moštu silu uzgona koja poguruje pokožice i sjemenke na površinu tekućine. Ova pojava predstavlja problem jer pokožice i sjemenke sadrže važne spojeve koji doprinose boji i trpkosti vina, a za njihovu ekstrakciju ključan je kontakt s tekućinom. Iz tog razloga se isplivale pokožice i sjemenke miješaju natrag u mošt, ponekad i više puta dnevno (MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Alkoholna fermentacija je proces koji obično traje između 14 i 50 dana (Hammack & Puckette, 2018).

Dok kvasac pretvara glukozu u etanol, on svojim metabolizmom oslobađa energiju u obliku topline. To uočavamo kao prirodan porast temperature mošta prilikom fermentacije u rasponu između 16°C i 29°C. Povišenje temperature i nastanak alkohola je ključno za pravilno nastajanje crnih vina. Ako promotrimo mošt prije početka alkoholne fermentacije (tj. kada nema alkohola i porasta temperature) uočiti ćemo da će mošt poprimiti svijetlo ružičastu boju i dalje neće tamniti prema nijansama crvene. Razlog je što otapanje antocijanina iz pokožice i njihov prelazak u mošt je proces koji je znatno djelotvorniji pri povišenoj temperaturi i u prisustvu etanola (MacNeil, 2015; Ruiz-Rodríguez, et al., 2021).

Ovaj proces u kojem je tekući sok u kontaktu sa pokožicama i sjemenkama prilikom čega dolazi do ekstrakcije boje, tanina i aroma jednom riječju nazivamo maceracija (Robinson, 2015).



*Slika 1. Maceracija prilikom proizvodnje crnog vina sorte Tribidrag.*

Fermentacija se može zaustaviti i prije nego kvasac pretvori svu dostupnu glukozu u etanol. Količinu glukoze koja zaostaje na kraju fermentacije nazivamo neprevrelom glukozom, odnosno neprevrelim šećerom (Hammack & Puckette, 2018; Robinson, 2015).

Po količini neprevrelog šećera zaostalog u moštu na kraju fermentacije vino dijelimo u četiri skupine (tablica 1).

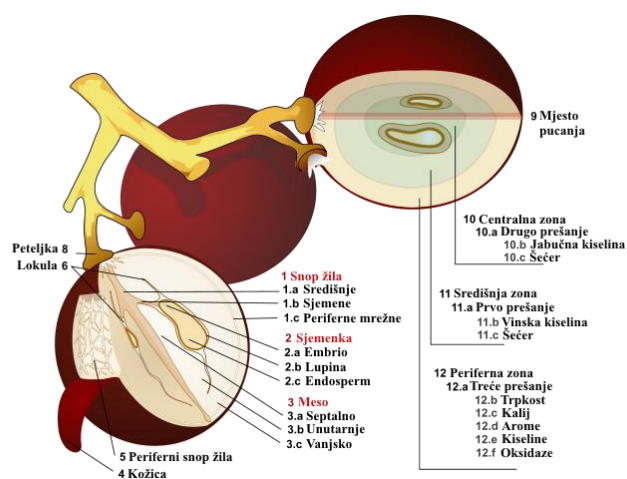
Tablica 1. Kategorizacija vina prema koncentraciji neprevrelog šećera (Pravilnik o proizvodnji vina, NN 96/03)

Skupina vina po neprevrelom šećeru	Koncentracija neprevrelog šećera u vinu
Suho vino	$\leq 4 \text{ g/L}$
Polusuho vino	4 – 12 g/L
Poluslatko vino	12 – 50 g/L
Slatko vino	$\geq 50 \text{ g/L}$

Kada razina šećera u vinu dosegne poželjnu razinu fermentacija prestaje. Ukoliko neće biti produljene maceracije dobiveno vino ide na sljedeći korak – ocijeđivanje i prešanje (MacNeil, 2015).

Iz dobivene mase koja sadrži vino, kožice i sjemenke ocijedi se i odvoji tekuća faza. Ovo vino dobiveno iz čistog soka poznato je pod pojmom „samotok“ i predstavlja vino najviše kvalitete i kakvoće. Preostale kožice, sjemenke i zaostalo vino se prešaju (MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Prešanje se može ponoviti nekoliko puta za istu količinu pokožica i sjemenki, svaki put ekstrahiraju se drugi spojevi iz različitih dijelova bobice. Dijelovi bobice iz kojih se radi ekstrakcija, kao i sastojci koji se dobiju iz svakog pojedinog dijela, prikazani su na slici 2.



Slika 2. Anatomija bobice grožđa te kemijski spojevi koji se oslobode nakon prvog, drugog i trećeg prešanja (Izvor: Mariana Ruiz Villarreal, 2008).

Izlaskom iz prešanja vino se podvrgava odležavanju. Odležavanje vina se događa najčešće u hrastovim bačvama ili u tankovima napravljenim od nehrđajućeg čelika (MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Hrastove bačve su postale popularne još u doba Rimskog Carstva, iz razloga što imaju jedinstven utjecaj na vino koje se u njima čuva. Hrast dozvoljava minimalnoj količini vode i alkohola da kroz duži period vremena postepeno ispare u atmosferu prolaskom kroz strukturu samog drveta. Ova pojava postepeno povećava koncentriranost samog vina. Drvo također omogućava polaganu difuziju kisika iz zraka. To izaziva minimalnu oksidaciju pojedinih spojeva u vinu, što dodatno povećava složenost arome i okusa te čini vino bogatijim. Drvena bačva, osim već spomenutog, postepeno luči iz stanica hrasta u vino kemijske spojeve koji imaju doprinos samom okusu i aromama vina. Većina ovih spojeva su po prirodi tanini te ostali fenolni spojevi. Na točan karakter okusa i arome će utjecati i vrsta hrasta koji se koristi za bačve (MacNeil, 2015).

Od brojnih vrsta hrastova koji postoje, glavni značaj za proizvodnju vina ima nekoliko vrsta hrastova. To su dvije vrste francuskog hrasta (*Quercus petraea* i *Q. robur*), američki hrast (*Q. alba*) te slavonski hrast (*Q. robur subsp. slavonica*). Svaki tip hrasta, kao i zemljopisni položaj šume iz koje potječe, će imati različiti utjecaj na razvoj organoleptičkih svojstava vina (Chira & Teissedre, 2014; MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Američki hrast (*Q. alba*) ima aromatski profil s dominantnim kemijskim spojem vanilinom. Vina koja su odležavala u američkom hrastu će razvijati arome i okuse koji podsjećaju na vaniliju i kokos. Američki hrast također ima manji udio tanina i drugih fenola, samim time će doprinos odležavanja u američkom hrastu na taničnost vina biti niži nego u bačvama neke druge vrste hrasta. Američki hrast razvija u vinima slatkast okus više nego ostale vrste hrastova (Chira & Teissedre, 2014; MacNeil, 2015)

Francuski hrastovi (*Q. petraea* i *Q. robur*) razvijali su ponajviše arome i okuse koji su bili drvenastog karaktera i podsjećali na sam hrast, ali i arome raznih začinskih biljaka. Slavonski hrast (*Q. robur subsp. slavonica*) razvijao je arome i okuse koji su bili između onih američkih i francuskih hrastova, po svom intenzitetu i karakteru (Chira & Teissedre, 2014).

Slavonski hrast izrazito je popularan u vinarijama sjeverne Italije. Smatra se kako je slavonski hrast previše agresivno taničan i dominantan prema francuskim sortama, ali optimalan za talijanske sorte kao što su Sangiovese i Nebbiolo (Robinson, 2015).

Osim tipa hrasta, na razvoj organoleptičkih svojstava vina važan utjecaj ima i starost same bačve. U novijim bačvama su stanice hrasta bogate spojevima koji doprinose okusu i aromi vina te prilikom kontakta s vinom te spojeve ispuštaju. S vremenom, količina ovakvih spojeva postepeno se smanjuje i bačva se „troši“. Nakon 3-4 upotrebe hrastova bačva se smatra „neutralnom“, odnosno ona više ne razvija okuse i arome u vinu povezane s odležavanjem u bačvama. Međutim neutralne bačve i dalje omogućavaju proces postepenog ulaska kisika te isparavanja vode i alkohola iz vina. Iz tog razloga se neutralne bačve koriste za čuvanje vina u kojima nije poželjno da se razviju okusi i arome povezane s kontaktom hrasta, ali postigne koncentriranje vina procesom postepenog isparavanja (MacNeil, 2015).

Za vrijeme odležavanja crnih vina nisu gotove sve mikrobiološke aktivnosti. Naime, tada započinje proces sekundarne fermentacije – jabučno-mliječnog vrenja. Nije u potpunosti točno ovaj proces nazivati vrenjem obzirom da se radi o kemijskoj promjeni koja nije vrenje, ali naziv vrenja postao je uvriježen. Za razliku od alkoholne fermentacije koju provodi kvasac (*Saccharomyces cerevisiae*), jabučno-mliječno vrenje provode bakterije. Ove bakterije su najčešće pripadnici roda *Oenococcus oeni* i mogu biti prisutne prirodno u vinu ili dodani komercijalni, uzgojeni sojevi. Jabučno-mliječno vrenje je proces u kojem bakterije svojim metabolizmom pretvaraju jabučnu kiselinu (oštre kiselosti i okusa po zelenim jabukama i nezrelim kruškama) u mliječnu kiselinu (slabija kiselina čiji okus je nježniji i podsjeća na maslac) uz oslobađanje CO<sub>2</sub> (slika 3). Osim pretvorbe jabučne u mliječnu kiselinu, kao nusprodukt metabolizma stvara se butan-2,3-dion, poznatiji pod nazivom diacetil. Diacetil u nižim koncentracijama odgovoran je za maslačan okus i punoću. Sam proces je dosta sporiji nego alkoholno vrenje i može trajati i do nekoliko mjeseci. Na svom završetku zaustavlja se dodatkom SO<sub>2</sub> na koji su bakterije izrazito osjetljive. Jabučno-mliječno vrenje je korisna kemijska reakcija za crna vina jer ublažava njihovu kiselost i čini ih manje agresivno kiselim. Iz tog razloga gotovo sva crna vina proći će kroz proces jabučno-mliječne fermentacije (MacNeil, 2015; Millon, 2013; Robinson, 2015).



Slika 3. Kemijska reakcija jabučno-mliječnog vrenja (Izvor: Waterhouse, et al., 2016).

Kako vino odležava dolazi do pojave sedimenta na dnu bačve ili tanka. Pojava ovog sedimenta je posljedica završetka alkoholne fermentacije. Sve stanice kvasca koje su bile

prisutne u vinu i obavljale proces alkoholnog vrenja sada odumiru i sakupljaju se na dnu. Osim odumrlih stanica kvasaca, ovaj talog sadrži i stanične stijenke mesa bobice grožđa, taloge netopivih tartarata itd. Vino se s taloga mora ukloniti kako bi se izbjegla razgradnja sastojaka taloga i njihov ulazak u vino koji bi stvorio nepoželjan okus i aromu. Ovaj pretok vina s taloga obavlja se više puta, od kojih je najvažniji prvi jer se u prvom pretoku uklanja najveća količina nepoželjnog taloga. Redovitim pretocima vina omogućava se brže razbistravanje kao i blagi kontakt vina s kisikom iz zraka što spriječava redukciju  $\text{SO}_2$  u  $\text{H}_2\text{S}$  (u slučaju da u vinu postoji suvišak  $\text{SO}_2$ ) (Robinson, 2015).

Kada su vina odležala dovoljno dugo u tanku ili bačvi da razviju organoleptički profil kakav se smatra poželjnim, vino se propušta kroz filter. Filtriranjem se uklanjaju razne čestice koje bi mogle uzrokovati kvarenje vina kao što su bakterije i zaostale stanice kvasaca. Filtriranje obično se radi prolaskom vina pod tlakom kroz filter napravljen od poroznog materijala poput dijatomejske zemlje. Većina vina filtrira se samo jednom, i to neposredno prije punjenja u boce. Filtriranje se odvija pri sobnoj temperaturi. Nakon filtriranja vino je spremno za buteljiranje. U bocama vino može još odležavati ili odmah ići u prodaju i konzumaciju (Hammack & Puckette, 2018; MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Dodatno odležavanje u boci razlikuje se od onog u tanku ili bačvi. Staklo je materijal koji je kemijski inertan, samim time neće izravno utjecati na reakcije koje se odvijaju u vinu. Pluteni čepovi (kao i popularni čepovi na navoj) propuštaju iznimno malu količinu kisika u bocu u usporedbi s hrastovom bačvom. Samim time, promjene koje vino doživljava u boci su promjene koje se događaju zbog reakcija spojeva koji su u vino došli drugim tehnološkim procesima poput odležavanja, alkoholne fermentacije, jabučno-mliječnog vrenja itd (MacNeil, 2015).

### 2.2.2 Bijela vina

Najveći dio bijelih vina svijeta proizvodi se od bijelih sorti grožđa. Ove sorte se obično beru ranije dok nisu u potpunosti zrele. Razlog je što u bijelim vinima ciljamo na svježije, kiselije okuse i arome koje postizemo ranijom berbom (Hammack & Puckette, 2018; MacNeil, 2015).





*Slika 4. Grožđe pošipa pred berbu (Autor: Ana Marelić, 2022).*

Kako bobice grožđa sazrijevaju, njihova biokemijska svojstva (samim tim i svojstva njihovog soka) se mijenjaju. Zrenjem udio šećera u bobicama postepeno raste, dok paralelno tom porastu šećera udio organskih kiselina (posebno jabučne kiseline) postepeno opada. To se može uočiti kao postepeni porast pH vrijednosti soka (Bigard, et al., 2019).



*Slika 5. Pošip nakon berbe. Čara, otok Korčula (izvor: Ana Marelić, 2022).*

Nakon berbe bijelo grožđe također prolazi kroz procese muljanja i runjanja kako bi se odstranile peteljke. Peteljke su u bijelim vinima nepoželjne iz istog razloga kao i u crnim vinima – izvor su agresivnih tanina i nepoželjnih aroma. Glavna razlika u proizvodnji crnih i bijelih vina je što nakon muljanja i runjanja kod crnih vina dobiveni mošt (koji sadrži sjemenke i pokožice) odlazi u posudu za fermentaciju, dok kod bijelih vina dobiveni mošt nakon muljanja i runjanja ide izravno na proces prešanja, prije početka alkoholne fermentacije. Razlog je što kod bijelih vina poželjno nam je imati svježije vino s puno manjom količinom tanina nego crno



vino. To se postiže minimalizacijom procesa maceracije. Prešanje neposredno nakon muljanja i runjanja omogućava nam minimalan kontakt soka s pokožicama i sjemenkama, a samim time i minimalnu ekstrakciju tanina i drugih fenolnih spojeva. Nakon prešanja odvaja se sok koji se prebaci u posudu za taloženje. Alkoholna fermentacija soka bijelog grožđa odgađa se nekoliko dana dok se sav netopivi materijal u soku (najvećim udjelom sastavljen od sitnih komada mesa bobica) ne istaloži. Nakon taloženja gornji bistri sok se odvoji i spreman je za alkoholnu fermentaciju (Hammack & Puckette, 2018; MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Kod bijelih vina za vrijeme tranjanja alkoholne fermentacije poželjna je što niža temperatura. Razlog je što brojni spojevi koji su odgovorni za okus i aromu bijelih vina su hlapivi i pretjeranim zagrijavanjem bi isparili iz mošta. Takvo vino postalo bi „bljutavog“ okusa, bez posebno izražene arome. Za pojavu ovog fenomena isparavanja arome dovoljan je čak prirodni porast temperature koji rezultira metabolizmom kvasca za vrijeme alkoholne fermentacije (MacNeil, 2015; Samoticha, et al., 2019).

Iz navedenog razloga kod fermentacije bijelih vina uvijek je potrebno pažljivo kontrolirati temperaturu, a često mošt i hladiti za vrijeme odvijanja fermentacije. Za fermentaciju bijelih vina najčešće se odabiru tankovi od nehrđajućeg čelika. Razlog je što su takvi tankovi neutralni po svom utjecaju na razvoj arome i okusa u vinu, kao i razlog što se moderni tankovi mogu podesiti na održavanje konstante temperature u moštu hlađenjem tanka. Za gotovo sva bijela vina donja granice temperature tijekom fermentacije je 10°C, a gornja 18°C (MacNeil, 2015).

Ako temperatura za vrijeme fermentacije padne ispod 10°C, dolazi do značajnog usporavanja, pa čak i zaustavljanja procesa fermentacije. Niska temperatura u moštu mijenja fluidnost stanične membrane kvasca i usporava unutarstanične procese kao što su sinteza proteina te rad enzima. Ovo se očituje kao usporeni pad u koncentraciji šećera u moštu, kao i smanjena količina proizvedenog CO<sub>2</sub> (Bisson, 1999).

Po završetku fermentacije bijela vina, kao i crna, idu na odležavanje. Međutim za razliku od crnih, gotovo sva bijela vina će odležavati u tankovima od nehrđajućeg čelika kako bi se sačuvao njihov svjež, vočkast okus. U bijelim vinima također dolazi do stvaranja taloga nakon alkoholne fermentacije koji je potrebno ukloniti. Iz tog razloga se sloj bistrog vina vakuumski odvaja sa taloga. Važna razlika je što u gotovo svim bijelim vinima se izbjegava proces jabučno-mliječnog vrenja. Razlog je što u bijelim vinima ciljamo na vino koje je svježije te kiselije nego crna vina, samim time prisustvo jabučne kiseline (koja je jača kiselina nego mliječna) nam je

poželjno. Obzirom da su bakterije koje uzrokuju jabučno-mliječno vrenje gotovo uvijek prirodno prisutne u moštu, jabučno-mliječno vrenje se može izbjeći dodatkom SO<sub>2</sub> koji ima izrazito baktericidno djelovanje. Većina bijelih vina nakon prestanka pojave taloga (za što je obično potrebno 6 mjeseci od početka fermentacije) su spremna za konzumaciju. Takva vina se mogu filtrirati i na kraju buteljirati (Hammack & Puckette, 2018; MacNeil, 2015; Millon, 2013).

Ovom općem pravilu odležavanja u nehrđajućem čeliku te izbjegavanja jabučno-mliječnog vrenja postoji jedna vrlo značajna iznimka. Riječ je o sorti Chardonnay koja ima izrazito neutralan sortni okus i miris. Iz tog razloga se često propušta kroz jabučno-mliječno vrenje te odležava u hrastovim bačvama. Cilj tih procesa je stvaranjem novih spojeva u vinu povećati složenost arome i okusa vina (MacNeil, 2015).

### 2.2.3 Važnost procesa maceracije

Maceraciju smo definirali kao proces kontakta soka grožđa s pokožicama i sjemenkama prilikom kojeg dolazi do ekstrakcije boje te drugih spojeva. Maceracija kod crnih vina se prirodno odvija tijekom fermentacije (obzirom da je za vrijeme fermentacije sok u kontaktu sa pokožicama i sjemenkama). Maceracija se ne mora nužno odvijati samo za vrijeme trajanja same fermentacije, već se može odvijati prije početka ili nakon završetka iste. Oba procesa imaju prednost što za vrijeme fermentacije neće svi sastavni elementi boje i arome biti u potpunosti ekstrahirani iz pokožica i sjemenki. Nastavak maceracije nakon završetka alkoholne fermentacije je proces koji nazivamo „produljenom maceracijom“. Produljena maceracija ima prednost veće ekstrakcije organskih spojeva iz pokožica i sjemenki. Obično vrijedi pravilo da vina dobivena dužom fermentacijom imaju duži vijek života, zbog veće koncentracije tanina koji se ekstrahiraju duljom maceracijom. Međutim, pretjerana maceracija može ekstrahirati i previše nepoželjnih i agresivnih tanina. Maceracija prije početka fermentacije ima drugačiji niz ekstrahiranih tvari zbog odsustva alkohola u moštu. Sama maceracija ima vrlo velik utjecaj na razvoj boje i okusa vina, prvenstveno trpkosti koja rezultira ekstrakcijom tanina (Robinson, 2015).

Obzirom da je sok crnog grožđa zelenkasto-žute boje, zaustavljanjem procesa maceracije možemo utjecati na razvoj boje u vinu. Ako fermentiramo mošt crnog grožđa kao uobičajeno dobiti ćemo crno vino. Međutim ako isti mošt pošaljemo odmah na proces prešanja (kao što je običaj s moštovima bijelog vina) i sok odvojimo od pokožica i sjemenki gotovo odmah, dobiti ćemo bijelo vino. Razlog je što kemijski spojevi odgovorni za boju nisu imali priliku ekstrahirati se u sok jer je sok bio odvojen od kontakta s pokožicama i sjemenkama.

Ovakvo dobiveno vino često se označava francuskim pojmom „*blanc de noir*“, u doslovnom prijevodu „bijelo od crnog“. Ovaj pojam je od posebnog značenja u francuskoj pokrajini Champagne, gdje označava bijelo pjenušavo vino dobiveno od crnog grožđa. Ovom pojmu srodan je i pojam „*blanc de blancs*“, u prijevodu „bijelo od bijelog“. Ovaj pojam tehnički označava sva bijela vina dobivena od bijelog grožđa, ali u francuskoj pokrajini Champagne označava bijelo pjenušavo vino napravljeno isključivo od bijelog grožđa sorte Chardonnay (Robinson, 2015).

Od mošta crnog grožđa izravnim prešanjem (odnosno potpunim izostankom maceracije) nakon muljanja i runjanja dobijemo bijelo vino. Fermentacijom s pokožicama i sjemenkama (potpunom maceracijom) dobijemo crno vino. Međutim, ako dozvolimo kratku maceraciju prije fermentacije, a onda prešamo vino dobijemo drugačiji tip vina. Rezultat takvog procesa su ružičasta odnosno *rosé* vina. To su vina čiji intezitet boje može biti u rasponu od vrlo blijede narančaste ili ružičaste pa sve do svijetlo crvene. Zbog kratkog vremena maceracije, dio sastavnica boje, okusa i arome ima priliku se otopiti u soku. Prešanjem nakon ove kratke maceracije osiguravamo zaustavljanje bilo kakvog daljnjeg razvoja boje prema duboko crvenoj kakvu bismo očekivali kod crnih vina. Dobiveni mošt ružičastog vina nakon prešanja se fermentira kao i kod bijelih vina – u tanku od nehrđajućeg čelika pri temperaturi nižoj nego crna vina kako bi se sačuvala svježije arome (Hammack & Puckette, 2018; Millon, 2013).

Ružičasta vina uživaju dugu tradiciju proizvodnje u Dalmaciji. Tradicionalno se ovakva vina u Dalmaciji označavaju pojmom „opolo“ koji je danas reguliran zakonom. Zakonski propisi kontroliraju koncentraciju kiseline i alkohola u vinu kako bi se osiguralo vino koje je svježije i pitko (Lista tradicionalnih izraza za vino, NN 96/2007).

Promotrimo li mošt bijelog grožđa, u uobičajenom procesu proizvodnje bijelog vina odmah nakon muljanja i runjanja mošt se šalje na prešanje kako bi se odvojio sok. Tretiramo li mošt bijelog vina kao da je mošt crnog, odnosno ako odgodimo prešanje do nakon alkoholne fermentacije, a sok fermentiramo zajedno s pokožicama i sjemenkama također dobivamo posebnu vrstu vina. Obzirom da pokožice bijelog grožđa ne sadrže spojeve odgovorne za nastanak boje crnih vina, ovakva vina će zadržati žućkastu boju. Boja će maceracijom postati intenzivnija zbog ekstrakcije ponajviše lignina iz sjemenki, ali i drugih fenolnih spojeva iz pokožica i sjemenki. Ovakav tip bijelog vina nazivamo maceriranim bijelim, jantarnim ili *orange* vinima (Hammack & Puckette, 2018; Robinson, 2015).

Ovakav stil vina vuče korijene kao izrazito star način proizvodnje vina, a u posljednje vrijeme popularizirao ga je slovenski vinar Joško Gravner. Gravner ima vinariju u sjeveru Italije koja proizvodi isključivo crna i narančasta vina. Međutim boja narančastih vina nije jedina razlika u njihovom kemijskom sastavu u usporedbi s nemaceriranim „klasičnim“ bijelim vinima. Prilikom maceracije dolazi do ekstrakcije fenolnih spojeva, prvenstveno tanina. Iz tog razloga macerirana vina, osim intenzivnije boje izazvane ekstrakcijom lignina, sadrže veću količinu tanina nego nemacerirana bijela vina (Robinson, 2015).

### 2.3 Kemijski sastav vina

Nezanemariva je činjenica da je vino, iako poznato čovjeku od davnina, izrazito složena kemijska smjesa. Iako velikim udjelom od čak 97% sačinjena od jednostavnih otapala – vode i etanola, bilo koja osoba koja je pila vino može potvrditi da tih 3% ostalih sastavnica čine svako vino posebnim i drugačijim od ostalih. Najjednostavnijom kemijskom definicijom vino se može smatrati umjereno kiselom (zbog pH koji je obično u rasponu od 3-4) vodeno-alkoholnom otopinom (Waterhouse, et al., 2016).

U preostalih 3% sastojaka svakog vina pronalazimo neke zajedničke spojeve. To su organske kiseline, alkoholi, aldehidi i ketoni, ugljikohidrati, minerali, dušikovi spojevi, fenolni spojevi, sumporovi spojevi, esteri, terpeni te brojne druge skupine organskih spojeva (Ribereau-Gayon, et al., 2006; Waterhouse, et al., 2016).

Organske kiseline u vinu odgovorne su za niži pH vina. Vrlo su važne iz razloga što niži pH ometa razvoj štetnih mikroorganizama koji bi bili opasni po zdravlje ili izazvali degradaciju vina te su odgovorne za organoleptičku percepciju kiselosti i svježine. Većina kiselina u vinu su nastale oksidacijom šećera te su prisutne u grožđu od samog razvoja plodova. To su primjerice vinska kiselina, limunska kiselina te jabučna kiselina. Neke kiseline nastaju kao nusprodukt metabolizma kvasca pa se samim time javljaju u vinu tek nakon fermentacije. To su primjerice sukcininska i pirogroždana kiselina. Druge kiseline poput mliječne nastaju u vinu iz metabolizma drugih mikroorganizama (jabučno-mliječnim vrenjem). Kiseline zajedno sa svojim mineralnim solima tvore pufer unutar samog vina koji ima vrlo važnu ulogu u održavanju stabilne pH vrijednosti u vinu (Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Daleko najveći udio alkohola u vinu otpada na etanol. Etanol nastaje alkoholnim vrenjem iz šećera (Ribereau-Gayon, et al., 2006; Waterhouse, et al., 2016).

Etanol u vinu, osim svoje antimikrobne uloge, ima važnu organoleptičku ulogu. Pri niskim udjelima alkohol izaziva pojačanu percepciju slatkoće. Pri udjelima u kojima se obično nalazi u vinu (oko 11-15% vol.) percipira se kao gorčina. Ako je udio alkohola veći od 15% dominantan osjet je žarenje i grijanje jezika i grla. Uz to etanol ima mogućnost prikrivanja kiselih okusa u vinima visoke kiseline, kao i smanjivanje jačine aroma vina (Waterhouse, et al., 2016).

Nakon etanola najzastupljeniji alkohol u vinu je glicerol. Nastaje metabolizmom kvasca na samom početku alkoholne fermentacije, a u vinima je odgovoran za percepciju punoće okusa i blage slatkoće (Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Od ostalih alkohola u vinu prisutan je metanol. Metanol je otrovan, ali koncentracije u vinu su izrazito niske. Ne nastaje fermentacijom već djelovanjem enzima na metoksi skupine pektina čime se iste hidroliziraju do metanola. U vinu (zbog izrazito niske koncentracije) metanol nema nikakav utjecaj na organoleptička svojstva (Hodson, et al., 2017).

Aldehidi i ketoni u vinima, osim onih koji su nastali u grožđu, dospijevaju u vino najviše oksidacijom odgovarajućih alkohola. Pri većim koncentracijama mogu izazivati mane u okusu i posebno u aromi vina (Waterhouse, et al., 2016).

Razni ugljikohidrati su prisutni u vinima. Heksoze (posebno glukoza i fruktoza) nastaju u vinovoj lozi fotosintezom te se zrenjem gomilaju u grožđu. Ugljikohidrati u vinima služe kao gorivo kvascima za stvaranje etanola. Preostali ugljikohidrati koji nisu fermentirali u vinu se često nalaze esterificirani s organskim kiselinama, posebno vinskom kiselinom (Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Fenolni spojevi su izrazito velika skupina spojeva prisutnih u svim vinima, u većoj ili manjoj mjeri. Pod fenolne spojeve svrstavamo svaki kemijski spoj u vinu koji ima barem jednu hidroksilnu skupinu vezanu izravno za aromatski prsten. Složenost ovih tvari može biti u rasponu od vrlo jednostavnih (sa samo jednim aromatskim prstenom) do polimerskih polifenola izrazito složene građe. Ovi spojevi nastaju u biljci metaboličkim reakcijama te imaju razne uloge (Crozier, et al., 2007; Waterhouse, et al., 2016).

Kod svih biljaka (pa tako i kod vinove loze) fenolne spojeve može podijeliti u dvije skupine: flavonoide i neflavonoide. Neflavonoidi su važna grupa polifenolnih spojeva prirodno prisutnih u vinu i u moštu. Možemo ih podijeliti u tri osnovne grupe: hidroksicimene kiseline, stilbeni te hidroksibenzojeve kiseline (Ribereau-Gayon, et al., 2006; Waterhouse, et al., 2016).

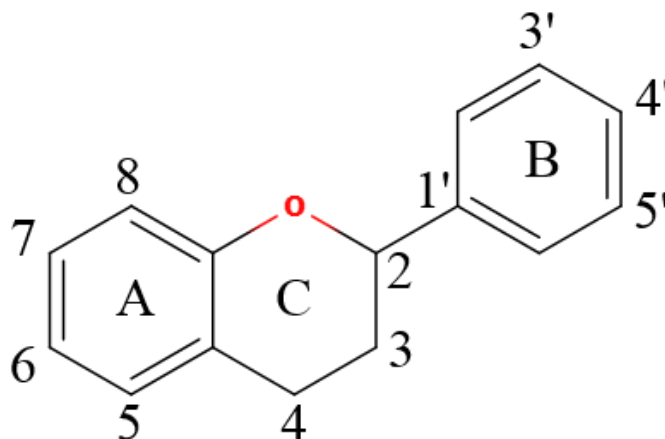
Hidroksicimetne kiseline su spojevi koji su derivati *p*-hidroksicimetne kiseline, odnosno spojevi koji imaju konjugiranu dvostruku vezu između karboksilne skupine propilnog ogranka i fenilnog prstena. Hidroksicimetne kiseline su većinski sastavnici neflavonoida crnih, kao i bijelih vina. Crna i bijela vina posjeduju približno jednake koncentracije ovih kiselina. U grožđu se javljaju kao esteri s hidroksilnim skupinama vinske kiseline, pa se takvi mogu naći i u vinu. Izrazito su podložni oksidaciji, te su obično prvi spojevi koji oksidiraju prilikom muljanja i runjanja grožđa. Ta pojava može se zapaziti kao pojava smečkastog obojenja u moštu (Waterhouse, et al., 2016).

Od hidroksibenzojevih kiselina najznačajniju ulogu igra galna kiselina, odnosno 3,4,5-trihidroksibenzojeva kiselina. Galna kiselina nije prirodno prisutna u grožđu u svom slobodnom obliku ali se u tom obliku može naći u vinima. U vino dospijeva u sklopu hidrolizabilnih i kondenziranih tanina hrasta koji potječu od hrastovih bačvi. Samim time očekujemo povećane koncentracije u vinima koji su bili u kontaktu s drvenim bačvama. Hidrolizom tih spojeva nastaje slobodna galna kiselina. Kao i hidroksicimetne kiseline, hidroksibenzojeve kiseline podložne su reakcijama oksidacije koje rezultiraju pojavom žuto-smeđeg obojenja u vinu. Uz galnu kiselinu važna hidroksibenzojeva kiselina je i elagična kiselina. Ove dvije kiseline su glavni gradivni elementi hidrolizabilnih tanina (Ribereau-Gayon, et al., 2006; Waterhouse, et al., 2016).

Svi stilbeni su derivati istoimenog spoja – stilbena, odnosno 1,2-difeniletena. Najznačajniji stilben u vinu i grožđu je resveratrol. Resveratrol je spoj koji je većim koncentracijama u pokožicama grožđa, ali je prisutan u svim dijelovima vinove loze u raznim koncentracijama. Postoji u svom *cis* kao i *trans* obliku. Vinova loza sintetizira *trans* oblik, ali do promjene konfiguracije može doći pri izlaganju svjetlosti. Ovaj spoj se stvara kao inaktivni glukozid i služi u obrani biljke od gljivičnih napada. Kada je potrebna aktivacija aglikoni se oligomeriziraju u spojeve s anti-fungalnim djelovanjem koje nazivamo viniferinima. Zbog najveće koncentracije resveratrola u pokožici grožđa, očekivano je da je najveća koncentracija istog pronađena u crnim vinima (Waterhouse, et al., 2016).

Flavonoidi su spojevi koje, obzirom da u svojoj strukturi imaju više aromatskih prstenova na koji su izravno vezane hidroksilne skupine, svrstavamo u polifenole. Važno je naglasiti da polifenol nije sinonim za polimer koji sadrži aromatske prstenove. Samim time, ovi spojevi mogu se pojaviti kao jednostavni monomeri ili u sklopu složenih polimernih mreža. Svi flavonoidi su građeni od sustava s tri prstena, od kojih je središnji prsten heterociklički zbog prisutnog kisikovog atoma. Prstenovi u ovim spojevima označavaju se slovima A, B i C. C

prstenom zovemo središnji prsten koji je supstituiran kisikom. C prsten čini dio aromatskog prstena A, a za aromatski prsten B povezan je jednostrukom vezom (slika 6) (Crozier, et al., 2007; Waterhouse, et al., 2016).

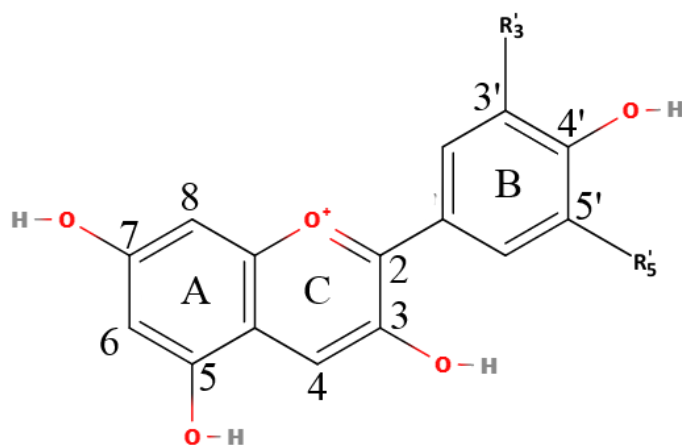


Slika 6. Opća strukturalna formula flavonoida (Izvor: Waterhouse, et al., 2016).

Flavonoidi se dijele u podvrste na temelju oksidacijskog broja kisikova atoma te supstitucija na prstenu C. Svi flavonoidi u vinima imaju hidroksilne skupine na A prstenu, na ugljicima 5 i 7. Od svih postojećih podskupina flavonoida kao fenolni spojevi u vinu značajne su tri: flavonoli, antocijanini te flavan-3-oli (Waterhouse, et al., 2016).

Flavonoli su grupa flavonoida koji na poziciji 4 imaju keto skupinu, na poziciji 3 hidroksilnu skupinu te dvostruku vezu između ugljika 2 i ugljika 3. Flavonoli su najzastupljeniji fenolni spojevi koje nalazimo u vinovoj lozi i u vinu. Najveća koncentracija flavonola nalazi se u epidermalnom sloju pokožice grožđa, a u vino dospijevaju maceracijom. Iz toga možemo zaključiti da je koncentracija ovih spojeva značajno veća u crnih i narančastih nego u bijelih vina. U procesu otapanja pomaže fermentacija obzirom da su ovi spojevi dobro topljivi u etanolu. Najvećim udjelom u vinu javljaju se u glikozidom obliku vezani na kisik šećera preko C3 atoma. Vremenom ovi glikozidi postepeno se raspadaju (Crozier, et al., 2007; Ribereau-Gayon, et al., 2006; Waterhouse, et al., 2016). Obzirom da se nalaze u epidermalnom sloju pokožice te da snažno apsorbiraju UV zračenje na 360 nm može se zaključiti da ovi spojevi imaju ulogu zaštite bobice od oštećenja izazvanih UV zračenjem. To podupiru eksperimentalni podatci koji su pronašli da je koncentracija flavonola deseterostruko veća u bobicama izloženim suncu, nego u onima koje su bile u hladu. Ovi spojevi su organoleptički gorkog okusa, međutim osjet gorčine se javlja pri koncentracijama puno većim nego onim koje se mogu naći u vinima (Waterhouse, et al., 2016).

Antocijanini su polifenolni pigmenti izrazito žarkih crvenih i plavih boja. Sintetiziraju se u obojenim dijelovima biljaka (cvijetovi, plodovi i sl.), a u vinovoj lozi su odgovorni za boju pokožice crnog grožđa kao i crnih vina. Uloga u biljci im je zaštita od svjetla kao i privlačenje insekata (Crozier, et al., 2007; Ribereau-Gayon, et al., 2006; Waterhouse, et al., 2016). Ove molekule se u prirodi javljaju gotovo isključivo u obliku glikozida vezanih za šećer preko ugljikova atoma 3, pa tako i u vinima. Taj glikozidni oblik je puno stabilniji od aglikonskog oblika. Glikozidne molekule nazivamo antocijaninima, dok se aglikonski oblik naziva antocijanidin. Riječ je o molekulama koje imaju sustav konjugiranih dvostrukih veza između prstenova A i C. Također postoji i unakrsna konjugacija C prstena s B prstenom. Kisikov atom C prstena ovih spojeva nosi neto pozitivan naboj (slika 7). Ove konjugirane veze su razlog snažne apsorpcije zelene svjetlosti na 520 nm što je razlog njihove crvene boje. Zbog pozitivnog naboja ove molekule imaju elektrofilna svojstva te reagiraju sa nukleofilima u vinu (kao što su voda i bisulfitni anion) pri čemu gube svoju konjugaciju, a samim time i boju. Zbog pozitivnog naboja stabilniji su u kiselom mediju. Također, osim nukleofilne adicije ovi glikozidi se mogu nekovalentno vezati s drugim fenolnim spojevima u vinu (posebno taninima) pri čemu se stabiliziraju i daju stabilne crvene pigmente. Ovi pigmenti imaju vrlo važan doprinos stabilnosti boje crnih vina (Crozier, et al., 2007; Ribereau-Gayon, et al., 2006).

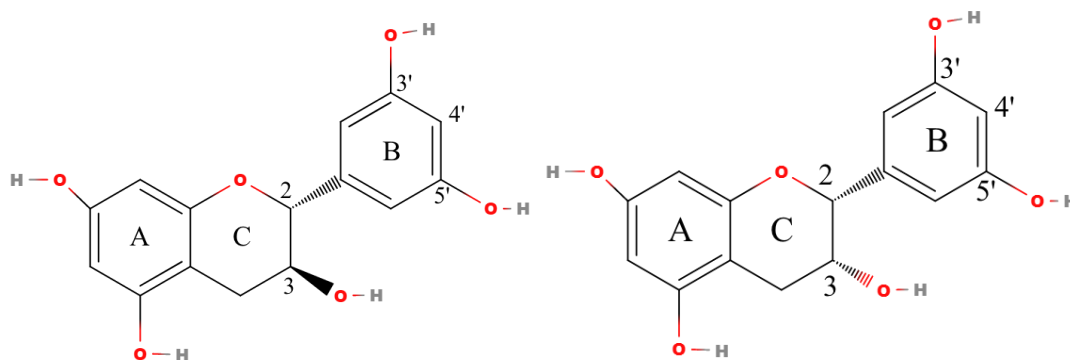


Slika 7. Opća strukturna formula antocijanidina. Šećer se veže za položaj 3 pri čemu nastaje antocijanin (Izvor: Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Flavan-3-oli su spojevi dosta zastupljeni u pokožicama i sjemenkama grožđa. Po samom nazivu flavan-3-ola možemo zaključiti da je riječ o spojevima koji na položaju 3 flavonoidnog prstena imaju hidroksilnu skupinu. Imaju svojstvo da položaj 2, kao i položaj 3, mogu biti u *cis* ili u *trans* konfiguraciji. Kako bi se imenovanje ovih spojeva pojednostavnilo, kada se obe veze nalaze u *cis* formi prema C prstenu imenu takvog izomera nadodajemo prefiks „epi“ (slika 8). Na B prstenu najčešće vidamo hidroksilne skupine na položajima 3' i 4'. Ako imamo hidroksilne



skupine na položajima 3',4, i 5', tada B prsten strukturno podsjeća na galnu kiselinu pa se ovakvi spojevi označavaju prefiksom „galo“. Ovi spojevi se vrlo rijetko viđaju kao glikozidi već su prisutni gotovo isključivo u slobodnom obliku. Tipičan primjer ove grupe spojeva je katehin. Ove tvari su nam posebno značajne jer su gradivne jedinice tzv. kondenziranih tanina.



Slika 8. Strukturna formula (+)-katehina (lijevo) te (-)-epikatehina (desno). Ovi spojevi predstavljaju modelne flavan-3-ole (Izvor: Waterhouse, et al., 2016).

### 2.3.1 Tanini

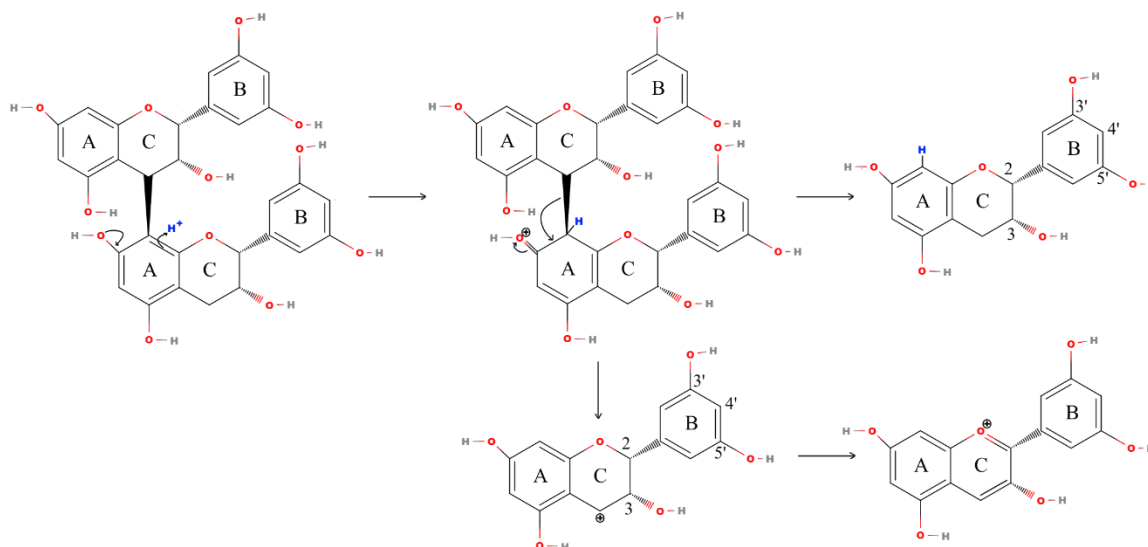
Tanin je pojam koji u izvornom značenju obuhvaća grupu spojeva koji imaju mogućnost da vežu i uzrokuju taloženje proteina, a dobivaju se iz biljnog tkiva. Danas nam je poznato da svi tanini su zapravo dio fenolnih spojeva u vinu, posebno fenolnih polimera visoke molekulske mase. Odgovorni su za osjet oporosti i isušivanja jezika prilikom konzumacije vina zbog vezanja za glikoproteine u slini kao i proteine na receptorima jezika. U vinu imaju značajnu ulogu u vezivanju antocijanina i njihove stabilizacije, također lako vežu kisik kao i produkte oksidacije i na taj način štite vino od štetnih i nepoželjnih produkata oksidacije. Na temelju monomera koji izgrađuju taninske polimere, kao i kemijskih svojstava samih polimera, tanine dijelimo u dvije velike skupine: hidrolizabilne tanine i kondenzirane tanine (Ribereau-Gayon, et al., 2006; Waterhouse, et al., 2016).

Ako se tanin sastoji od estera galne i elagične kiseline s glukozom riječ je o hidrolizabilnim taninima. Ovi tanini nastaju vezanjem galne i elagične kiseline esterskom vezom na hidroksilne skupine glukoze ili neke druge heksoze. Ako su u esterskoj vezi s šećerom samo molekule galne kiseline riječ je o galotaninima. Analogno tome, kada je u vezama samo elagična kiselina govorimo o elagitaninima. U prirodi biljke sintetiziraju čiste galotanine i elagitanine relativno rijetko, već je riječ o taninima koji su mješovitog sastava. Nazivaju se hidrolizabilnima jer su zbog esterskih veza dosta skloni hidrolizi pri blago sniženim pH vrijednostima i blago

povišenim temperaturama pri čemu se ester raspada na slobodan šećer i galnu odnosno elagičnu kiselinu. Hidrolizabilni tanini nisu produkti metabolizma vinove loze pa se ne mogu naći u njenim organima ili plodovima. Ove tanine prirodno sintetizira hrast, a u vino dospijevaju zbog odležavanja vina u hrastovim bačvama. Samim time, prisustvo ovih tanina u vinu dokaz je da je vino bilo u kontaktu s hrastom u nekom dijelu svog života (Waterhouse, et al., 2016).

Kondenzirani tanini su oligomeri ili polimeri čija je monomerna jedinica iz grupe flavan-3-ola, posebno katehina i epikatehina. Kondenzirani tanini nose takvo ime jer nastaju biološkim reakcijama kondenzacije monomernih jedinica flavan-3-ola. Kondenzacijom se stvaraju jednostruke veze između jedinica flavan-3-ola koje su najčešće veze ugljika 4 jedne molekule na ugljik 8 druge (4 → 8) te veze ugljika 4 na ugljik 6 (4 → 6). U vinu su kondenzirani tanini ponajviše bogati epikatehinom, dok se katehin najčešće nalazi na terminalnim krajevima. Ovu grupu tanina skupnim nazivom nazivamo proantocijanidinima. Razlog je što prilikom zagrijavanja ovih spojeva pri visokoj temperaturi u prisustvu koncentrirane mineralne kiseline dolazi do Bate-Smithove reakcije raspadanja ovih spojeva u antocijanidine (Ribereau-Gayon, et al., 2006; Waterhouse, et al., 2016).

Ova reakcija temelj je eksperimentalnog određivanja ovog rada, pa ćemo joj podariti posebnu pažnju. Kako bismo proučili mehanizam ove reakcije, kao primjer uzeti ćemo dimer epikatehina (slika 9).



Slika 9. Mehanizam Bate-Smithove reakcije dobivanja antocijanidina iz epikatehinskog dimera (Izvor: Rayess, et al., 2014).

Kada se taj dimer kondenziranog tanina zagrijava u prisustvu jake kiseline, dolazi do elektrofilne aromatske supstitucije na A prstenu napadnutog monomera. Ukoliko je supstitucija

uspješna dolazi do pucanja 4 → 8 veze između dvaju epikatehina te se oslobađa jedan epikatehin u svom slobodnom obliku. U ovoj reakciji od drugog epikatehina nastaje benzilni kation. Zbog izrazito oksidirajuće sredine ovaj benzilni kation brzo se oksidira te se pozitivan naboj prebacuje na kisik. Dobivena struktura spada u kategoriju antocijanidina, i samim tim je obojena. Ovo nastalo obojenje može se mjeriti, te usporedbom s baždarnim pravcom standardne otopine antocijanidina, i kvantificirati. Ova reakcija nije stereokemijski specifična. Zbog koraka nastanka karbokationa dolazi do narušavanja i gubitka stereokemijske strukture katehinskih i epikatehinskih jedinica (Rayess, et al., 2014; Waterhouse, et al., 2016).

## 2.4 Boja vina

Boja vina prvo je svojstvo vina koje uočimo prilikom pijenja istog. Intenzitet kao i nijansa boje često nam daju uvid u podatke o vinu kao što su sorta grožđa od koje je vino napravljeno, duljina maceracije, količina oksidacije, starost vina i sl. Boja crnih vina potječe od topivih antocijanina koji se u grožđu nalaze unutar vakuola stanica kože (Francis, 1999; MacNeil, 2015; Walker, et al., 2007), a koji su otopljeni u vinu prilikom maceracije. Mlada crna vina izrazito su bogata antocijaninima koji im daju žarko crvenu boju. Ta žarkost crvene boje može se i objasniti postojanjem maksimuma apsorpcije na 520 nm što odgovara maksimumu apsorpcije antocijanina. Starenjem vina spektar boje polako se pomiče prema žutoj kako dolazi do reakcije antocijanina sa spojevima koji su nastali oksidacijom, posebno acetaldehidom dobivenim oksidacijom etanola. Nastali adukti pomiču maksimum apsorpcije s 520 nm na 509 nm, što odgovara pomaku apsorpcije s žarko crvene boje na ciglasto crvenu. U starijim vinima dio crvene boje također potječe i od stabiliziranih pigmenata nastalih nekovalentnim vezanjem antocijanina za tanine (Reynolds, 2010).

### 2.4.1 Boja bijelih vina

Boja bijelih vina za razliku od boje crnih je područje koje je dosta manje istraženo i poznato. Razlog za postojanje boje je prisustvo raznih fenolnih spojeva. Ovi spojevi su lokalizirani u najvišim koncentracijama u pokožicama i sjemenkama grožđa. Tipična bijela vina zbog svog procesa proizvodnje imaju minimalan kontakt s pokožicama i sjemenkama. Međutim neki kontakt je neizbježan, iako nam je obično cilj ga minimalizirati. Taj izrazito kratki kontakt rezultira nam ekstrakcijom fenolnih spojeva u vino, iako u niskim koncentracijama. Najveći udio tih ekstrahiranih spojeva čine hidrokisimne kiseline te u manjoj mjeri flavan-3-oli. Žuta boja bijelih vina potječe nam od produkata reakcija oksidacije ovih spojeva. Prilikom muljanja,

runjanja i prešanja dolazi do kontakta s kisikom iz zraka. U soku je prirodno prisutan enzim polifenoloksidaza koji pretvara hidroksicimetne kiseline i flavan-3-ole u kinone. Nastali kinoni se vezuju na tripeptid glutation i tvore bezbojni adukt. Proces se nastavlja dok sav slobodan glutation ne bude potrošen. Tada nastali kinoni reagiraju s nukleofilima u moštu pri čemu nastaju žuto obojeni pigmenti. Isti pigmenti mogu nastati iz kinona i neenzimskim putem koji još nije u potpunosti razjašnjen. Kod maceriranih bijelih vina, obzirom da imamo maceraciju koja traje za vrijeme same fermentacije, količine flavan-3-ola i hidroksicimetnih kiselina koje se otapaju u vino su značajno veće. Obzirom na značajno veću koncentraciju reaktanata za reakcije koje razvijaju žute pigmente možemo protumačiti tamniju, jantarno-zlatnu boju maceriranih bijelih vina (Reynolds, 2010).

## 2.5 UV/Vis spektrofotometrija

Spetroskopske metode analize temelje se na interakciji između analita i elektromagnetskog zračenja. Ovo zračenje možemo objasniti valnom, odnosno kvantnom teorijom. Elektromagnetsko zračenje, zbog svojih valnih svojstava, možemo opisati valnom duljinom odnosno frekvencijom. Na temelju valnih duljina odnosno frekvencija elektromagnetski spektar je podijeljen u područja (Hollas, 2002).

Elektromagnetski val koji spada u područje ultraljubičastog i vidljivog dijela (svjetlost) elektromagnetskog spektra (energija u rasponu od 310 do 12 000  $kJ/mol$ ) uzrokovati će zbog apsorpcije energije (kvanta) pobuđivanje elektrona iz nižih energetske nivoa u više (Harris, 2010). Apsorpcija elektromagnetskog zračenja (pobuđivanje elektrona) može se detektirati i mjeriti instrumentom koji se naziva spektrometar ili spektrofotometar (Hollas, 2002).

## 3 MATERIJALI I METODE

### 3.1 Spektrofotometrijsko određivanje boje i sadržaja tanina u vinu

U ovom istraživanju odabrano je pet uzoraka vina proizvedenih od autohtone hrvatske sorte vinove loze Pošip. Od pet uzoraka tri su proizvedena standardnom tehnologijom proizvodnje bijelih vina te su različitih godina berbe, i to: 2019., 2020. te 2021. Preostala dva uzorka su macerirana bijela vina iste sorte iz godina berbe 2018. te 2019. Sva vina potječu iz vinogradarske regije Primorska Hrvatska, podregije Sjeverna Dalmacija (zona CIII) iz Šibenskog vinogorja. Nemacerirani uzorci fermentirani su u tankovima od nehrđajućeg čelika, a u istima su i odležavali prije buteljiranja sljedeće godine. Macerirana vina su nakon maceracije koja je trajala za vrijeme alkoholne fermentacije prvo odležavala u tankovima od nehrđajućeg čelika, a potom u bačvama napravljenim od američkog i francuskog hrasta zapremnine 500 L. Sva vina su buteljirana u maslinasto-zelene staklene boce zapremnine 750 mL koje su zatvorene čepom od prirodnog pluta. Svi uzorci vina prema količini neprevrelog šećera svrstavaju se među suha vina. Mjerenja apsorbancije izvršena su na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda Bio 40. Obzirom da su uzorci vina obojeni, u ovom radu su sva mjerenja izvršena u vidljivom dijelu elektromagnetskog spektra valnih duljina 380 – 730 nm.

### 3.2 Metode određivanja

#### 3.2.1 Određivanje ukupnog sadržaja tanina

Metoda određivanja ukupnog sadržaja tanina (eng. *Total tannin content, TTC*) u vinu temelji se prema metodi koju su razvili Ribereau-Gayon, et al. (2006). Uzorci vina se razrijede destiliranom vodom u volumnom omjeru 1:10 (Hosu, et al., 2012; Pandeya, et al., 2018). Nakon što se uzorci vina razrijede, za svaki uzorak vina pripreme se po dvije epruvete (A i B). U svaku epruvetu se doda 1 mL destilirane vode, 3 mL klorovodične kiseline (HCl,  $c = 12 \text{ M}$ ) te alikvot od 2 mL razrijeđenog uzorka vina. Jedna epruveta (A) se 30 minuta zagrijava u vodenoj kupelji na 100 °C. U drugu epruvetu (B, kontrola) se doda 0,5 mL etanola ( $\geq 95\% \text{ vol.}$ ) i čuva se u tami pri sobnoj temperaturi. Po isteku vremena eksperimentalna epruveta A se stavi u tamu dok se dijelom ne ohladi, te se u nju doda 0,5 mL etanola. Nakon hlađenja, izmjeri se apsorbancija

za svaki pripremljeni uzorak (A i B) na spektrofotometru pri 470, 520 i 570 nm. Izračuna se razlika u apsorbanciji ( $\Delta A$ ) između dva uzorka (A i B) izmjerena pri danoj valnoj duljini i prikaže kao  $\Delta A_{470}$ ,  $\Delta A_{520}$  i  $\Delta A_{570}$ . Razlike u apsorbanciji  $\Delta A_{470}$  i  $\Delta A_{570}$  se izraze kao  $\Delta A_{520}$  koristeći sljedeće formule:

$$\Delta A_{520} = 1,1 \cdot \Delta A_{470}$$

$$\Delta A_{520} = 1,54 \cdot \Delta A_{570}$$

Sadržaj (masena koncentracija) ukupnih tanina u uzorku izračuna se prema formuli:

$$\text{Masena koncentracija tanina (g/L)} = 15,7 \cdot \text{minimum } (\Delta A_{520}).$$

Mjerenja su ponovljena tri puta za svaki od uzoraka bijelih kao i maceriranih bijelih vina. Za račun se uzima u obzir najniža vrijednost od triju dobivenih apsorbancija (Ribereau-Gayon, et al., 2006).

### 3.2.2 Određivanje parametara boje vina

Za određivanje parametara boje uzoraka vina izmjerene su apsorbancije nerazrijeđenih uzoraka pri 420 nm, 520 nm te 620 nm. Mjerenja su ponovljena tri puta za svaki od uzoraka vina. Izvršena mjerenja apsorbancije korištena su za određivanje intenziteta i kompozicije boje.

Intenzitet boje predstavlja količinu boje pojedinog uzorka vina. Vrijednost intenziteta dobije se kao zbroj vrijednosti apsorbancije vidljive svjetlosti pri 420 nm, 520 nm te 620 nm, odnosno prema formuli:

$$\text{Intenzitet boje} = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Kompozicijom boje uzoraka se smatra udio (%) crvene, žute i plave komponente boje u ukupnoj boji vina. Ovaj postotak je izražen kao kvocijent vrijednosti apsorbancije izmjerene na određenoj valnoj duljini (420 nm, 520 nm ili 620 nm) koja predstavlja svaku pojedinu boju i zbroja apsorbancija na sve tri valne duljine, a računa se prema sljedećim formulama:

$$\% \text{ Crvene boje} = \frac{A_{520}}{A_{420} + A_{520} + A_{620}} \cdot 100\%$$

$$\% \text{ Žute boje} = \frac{A_{420}}{A_{420} + A_{520} + A_{620}} \cdot 100\%$$

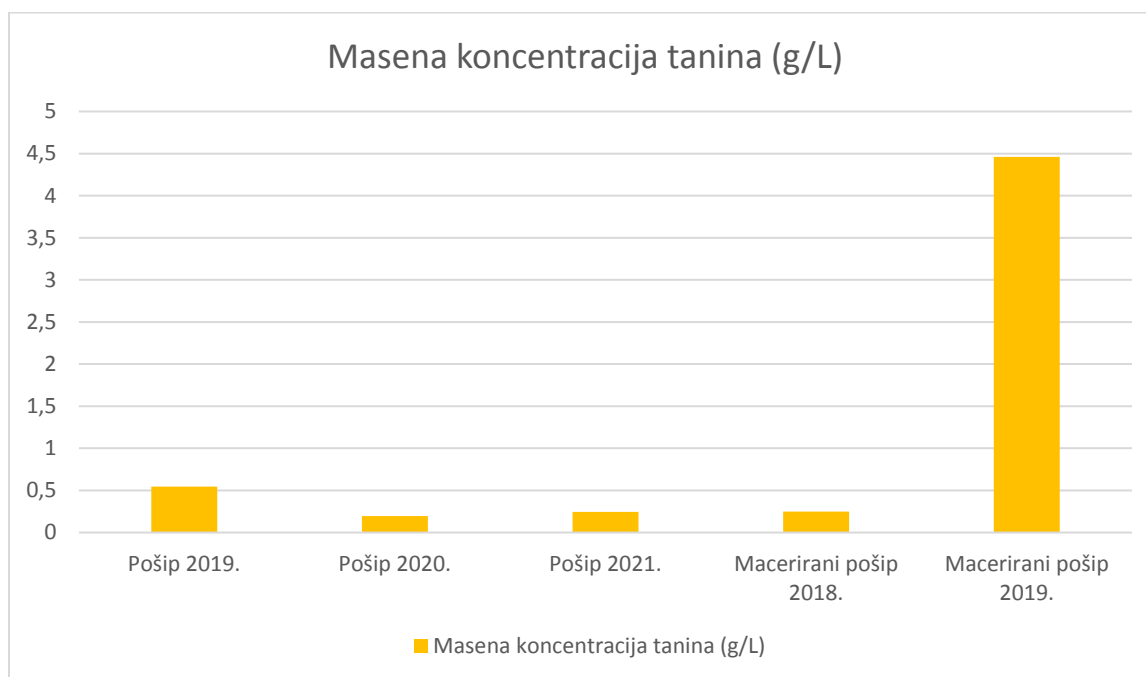
$$\% \text{ Plave boje} = \frac{A_{620}}{A_{420} + A_{520} + A_{620}} \cdot 100\%$$

## 4 REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1 Određivanje ukupnog sadržaja tanina uzoraka vina

Tablica 2. Ukupni sadržaj tanina izražen kao masena koncentracija u uzorcima vina

Uzorak vina	Masena koncentracija tanina (g/L)
Pošip 2019.	0,547
Pošip 2020.	0,196
Pošip 2021.	0,245
Macerirani Pošip 2018.	0,249
Macerirani Pošip 2019.	4,46



Graf 1. Masena koncentracija tanina (g/L) u uzorcima maceriranih i nemaceriranih vina sorte pošip.

Vrijednosti sadržaja tanina u uzorcima bijelih vina Pošip 2019., Pošip 2020., Pošip 2021. su redom 0,547, 0,196 te 0,245 g/L.

Sadržaj tanina u vinu ovisan je o sorti grožđa, kao i o primijenjenom tehnološkom procesu proizvodnje vina (MacNeil, 2015).

Razlike u sadržaju tanina u uzorcima bijelog vina dobivenog iz iste sorte grožđa kao i iz istog tehnološkog postupka proizvodnje najvjerojatnije su rezultat različitih godina berbe, odnosno sezonskih razlika. (Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Značajne razlike u sadržaju tanina se primjećuju kod maceriranog Pošipa 2019. (4,46 g/L) kod kojeg je primijenjen postupak produžene maceracije bijelog grožđa i uzorka bijelog vina iste godine berbe sa sadržajem tanina od 0,547 g/L. Također, sadržaj tanina maceriranog Pošipa iz 2019. godine je znatno veći nego u svim ostalim analiziranim uzorcima vina i njegova vrijednost je usporediva sa sadržajem tanina u crnim vinima.

Prema Ribereau-Gayon, et al., (2006) vrijednost za ukupni sadržaj tanina kod crnih vina je obično u rasponu od 1 – 4 g/L. Samim time rezultat od 4,46 g/L odgovara rasponu ukupnog sadržaja tanina kakav pronalazimo kod crnih vina.

Međutim, treba uzeti u obzir činjenicu da je navedeno da ova metoda određivanja često može rezultirati povišenim vrijednostima koncentracije tanina (Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Iz dobivenih rezultata jasno je vidljivo da je koncentracija tanina u uzorku maceriranog vina Pošip 2018. (0,249 g/L) veća nego u uzorcima bijelih vina godina berbe 2020. i 2021. (0,196 g/L i 0,245 g/L). Međutim, navedena razlika nije značajna, kao što je to slučaj kod uzoraka bijelog i maceriranog bijelog vina iste godine berbe (2019.). Treba napomenuti da je i trajanje maceracije kod uzorka maceriranog vina Pošip 2018. kraće nego kod uzorka maceriranog vina Pošip 2019. Od svih istraživanih uzoraka bijelog vina samo uzorak vina berbe 2019. predstavlja iznimku i pokazuje veću koncentracijom tanina 0,547 g/L u usporedbi sa uzorkom maceriranog vina Pošip 2018. Ovakav rezultat može se objasniti senzonskom varijabilnošću u sadržaju tanina u vinima različitih godina berbe.

Obzirom da je vino prirodni proizvod, uvjeti u prirodi prilikom berbe kao što su vlažnost zraka, prosječna dnevna temperatura, razina padalina i sl. će također imati utjecaj na konačne kemijske parametre vina. Uz samu maceraciju, važan faktor koji doprinosi sadržaju tanina je odležavanje vina. Nadalje, obzirom da su macerirani uzorci odležavali u hrastovim bačvama očekivano je da će imati nešto veći sadržaj tanina (MacNeil, 2015).

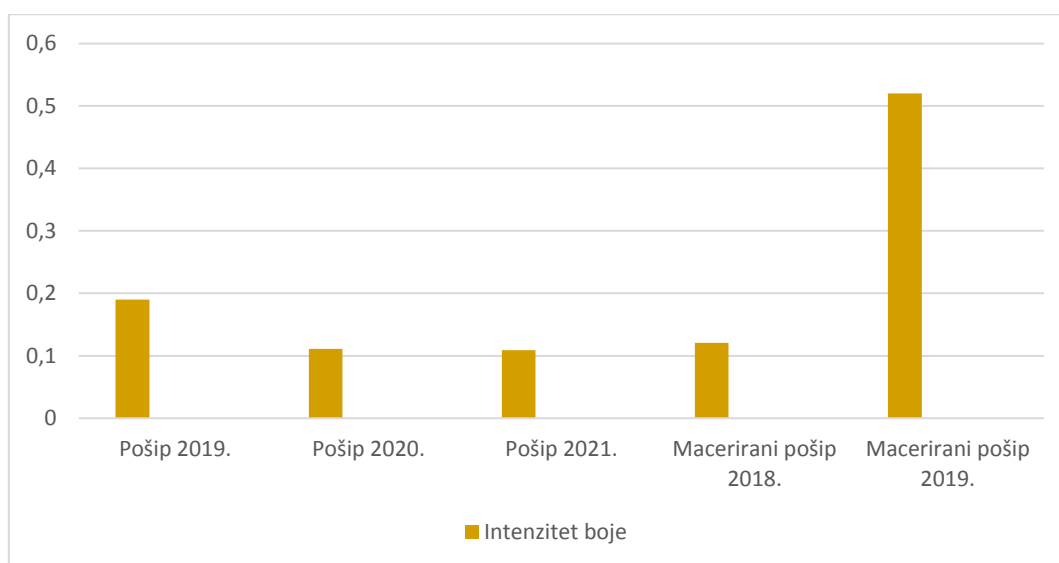


## 4.2 Spektrofotometrijsko određivanje parametara boje vina

### 4.2.1 Intenzitet boje

Tablica 3. Apsorbancije te intenzitet boje uzoraka

Uzorak vina	Apsorbancija (420nm)	Apsorbancija (520nm)	Apsorbancija (620nm)	Intenzitet boje
Pošip 2019.	0,153	0,0314	0,00520	0,190
Pošip 2020.	0,0905	0,0171	0,00370	0,111
Pošip 2021.	0,0845	0,0204	0,00440	0,109
Macerirani Pošip 2018.	0,0940	0,0210	0,00550	0,121
Macerirani Pošip 2019.	0,378	0,110	0,0317	0,520



Graf 2. Intenzitet boje kod bijelih i maceriranih bijelih vina .

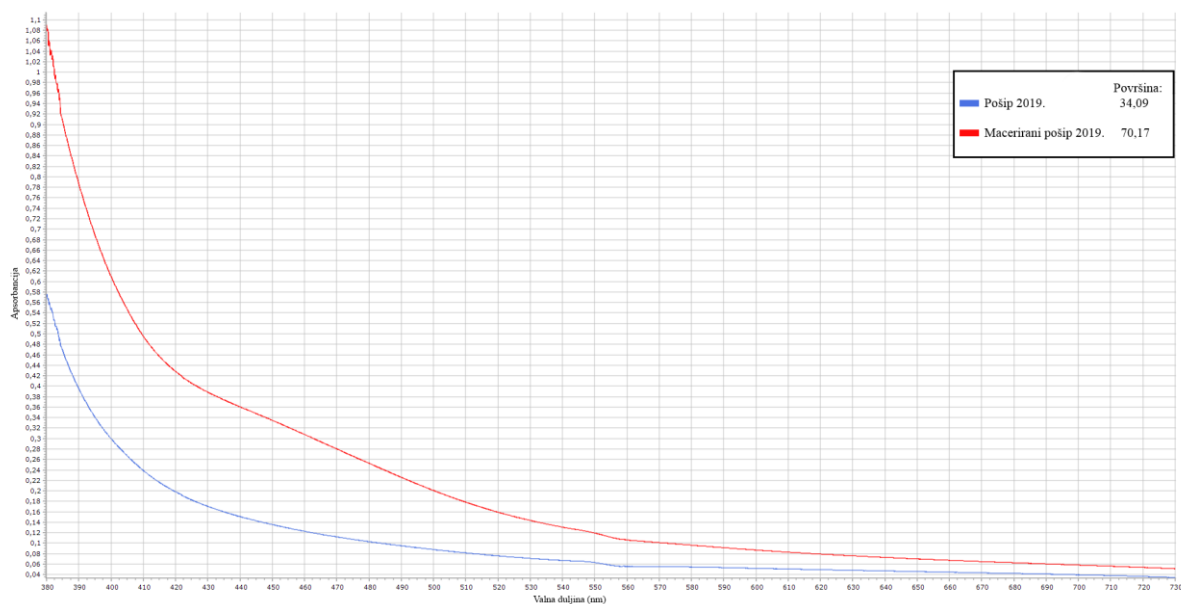
U tablici 3 su prikazane vrijednosti apsorbancije uzoraka bijelih vina i maceriranih bijelih vina izmjerenih pri valnim duljinama od 420 nm, 520 nm i 620 nm, kao i vrijednost intenziteta boje. Za procjenu boje bijelih vina najznačajnija je apsorbancija pri valnoj duljini od 420 nm, koja je karakteristična za žuto obojene tvari. Za bijela vina ovaj broj predstavlja ukupnu količinu žutog, odnosno smeđeg pigmenta prisutnog u vinu. Obzirom da žuto i smeđe obojenje nastaje kao produkt raznih procesa oksidacije, intenzitet boje može se i interpretirati kao mjera stupnja oksidacije vina (Moreira, et al., 2018). Intenzitet boje kod crnih vina obično iznosi od 0,3 do 1,8 (Moreira, et al., 2018; Pandeya, et al., 2018; Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Usporedbom dobivenih vrijednosti intenziteta boje (tablica 2, graf 2) može se uočiti da svi uzorci imaju nizak intenzitet boje naspram onog kod crnih vina. To je očekivano obzirom da je koncentracija fenolnih spojeva, koji doprinose boji crnih vina, u bijelim vinima značajno niža.

U suhim bijelim vinima, ukupni sadržaj fenolnih spojeva je u rasponu između 50 i 250 mg/L, što predstavlja količinu koja je manja od 10% ukupne količine istih u crnim vinima (Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Također uočavamo kako macerirana bijela vina (Macerirani pošip 2018. te Macerirani pošip 2019.) imaju veće vrijednosti intenziteta boje (0,121 i 0,520) od uzoraka nemaceriranih vina (0,111 za berbu 2020. te 0,109 za 2021.), uz iznimku pošipa berbe 2019. godine (0,190). Povećan intenzitet boje uzorka Pošip 2019. može se protumačiti različitom godinom berbe, odnosno sezonskom varijabilnošću u kemijskom sastavu grožđa, a potom i vina. Također, kod ovog uzorka je (zbog procesa proizvodnje bijelog vina) maceracija bila gotovo zanemariva u usporedbi sa maceriranim uzorkom iz iste godine berbe. Duži postupak maceracije kod uzorka maceriranog Pošipa rezultirao je značajno većom ekstrakcijom fenolnih spojeva iz pokožice grožđa koji doprinose nastanku boje bijelog vina (Ribereau-Gayon, et al., 2006), a samim time i razumljivo većom vrijednosti intenziteta boje (0,520) u usporedbi s nemaceriranim bijelim vinom iz iste godine berbe (0,190).

Spektar bijelih vina nema izražen maksimum u vidljivom području elektromagnetskog spektra (Ribereau-Gayon, et al., 2006). Valne duljine na kojima su izvršena mjerenja boje su odabrana na temelju komplementarnosti, odnosno reflektirane boju koju predstavljaju. Apsorpcija na 420 nm interpretira se kao žuta, na 520 nm kao crvena te na 620 nm kao plava boja.



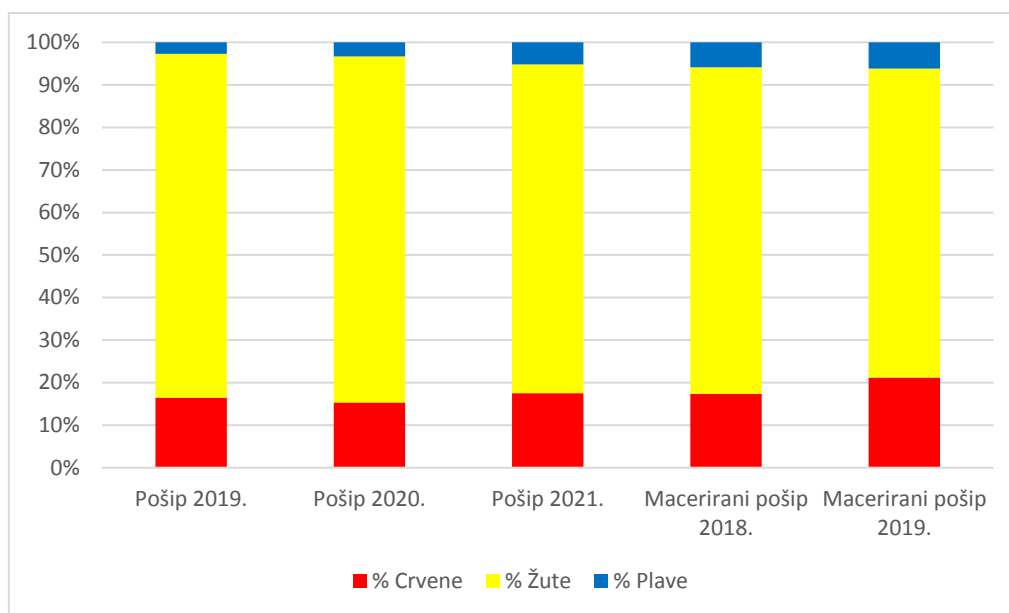
Slika 10. Apsorpcijski spektar maceriranog i nemaceriranog vina sorte pošip iz godine berbe 2019. .

Iz apsorpcijskog spektra maceriranog i nemaceriranog uzorka iz iste godine berbe (2019) može se primjetiti kako *orange* vina, kao i bijela vina, nemaju maksimum apsorpcije u vidljivom području. Spektar je snimljen pri valnim duljinama vidljivog VIS područja u rasponu od 380 – 730 nm čime su obuhvaćene apsorpcije komponentata koje čine boju ovih vina. Kao što je vidljivo iz VIS spektra (slika 10), veće vrijednosti apsorpcije pokazuje macerirani uzorak (crvena linija) u cijelom mjerenom VIS području zbog ukupno veće koncentracije tvari koje doprinose boji istog.

#### 4.2.2 Kompozicija boje

Tablica 4. Kompozicija boje uzoraka

Uzorak vina	% Crvene boje	% Žute boje	% Plave boje
Pošip 2019.	16,5	80,8	2,70
Pošip 2020.	15,3	81,4	3,30
Pošip 2021.	17,5	77,3	5,20
Macerirani Pošip 2018.	17,4	76,70	5,90
Macerirani Pošip 2019.	21,2	72,6	6,20



*Graf 3. Kompozicija boje uzoraka*

U tablici 4 su prikazani podaci o kompoziciji boje uzoraka bijelih i *orange* vina, odnosno udjeli žute, crvene i plave boje koje doprinose sastavu ukupne boje uzoraka. Dobivene vrijednosti su vizualno prikazane na grafu 3.

Različiti postotci mjerenih boja doprinose specifičnoj boji svakog uzorka. Žuta boja potječe od fenolnih spojeva, kao i produkata oksidacije istih u vinu. Crvena boja potječe od antocijanina, dok plava boja potječe od piranoantocijaninskih dimera koji nastaju u vinu (Oliveira, et al., 2010; Pandeya, et al., 2018; Ribereau-Gayon, et al., 2006).

Iz dobivenih vrijednosti za kompoziciju boju može se uočiti kako je kod svih uzoraka najvećim udjelom zastupljena žuta boja (80,8% za Pošip 2019; 81,4% za Pošip 2020; 77,3% za Pošip 2021.; 76,7% za macerirani Pošip 2018. te 72,6% za macerirani Pošip 2019.), što je u skladu s bojom bijelih i maceriranih bijelih vina. Postotak crvene boje je sljedeći: 16,5% za Pošip 2019; 15,3% za Pošip 2020; 17,5% za Pošip 2021.; 17,4% za macerirani Pošip 2018. te 21,2% za macerirani Pošip 2019. Udio plave boje je viši u uzorcima maceriranih bijelih vina (5,90% za macerirani Pošip 2018. te 6,20% za macerirani Pošip 2019.) nego u bijelim vinima (2,70% za Pošip 2019; 3,30% za Pošip 2020; 5,20% za Pošip 2021).

Prema Oliveira, et al., 2010 plava boja u vinu rezultat je nastanka piranoantocijaninskih dimera. Razvitku ovih spojeva pogoduje niska pH vrijednost vina.

Iako bijelo vino ne sadrži antocijanine u značajnim koncentracijama, iz dobivenih rezultata kompozicije boje može se pretpostaviti da su koncentracije ovih spojeva veće u

maceriranim bijelim vinima nego u bijelim vinima koja nisu prošla kroz proces maceracije. Objašnjenje ove pojave može nuditi činjenica da je maceracijom udio fenolnih spojeva u uzorcima vina povećan (Ribereau-Gayon, et al., 2006). Također, ne može se isključiti činjenica da postoje razni fenolni spojevi koji se enzimskim i neenzimskim reakcijama mogu pretvoriti u antocijanine (Reynolds, 2010). Dobiveni antocijanini bi potom zbog niske pH vrijednosti medija (koja je obično niža nego pH vrijednost crnih vina) mogli reagirati i nizom kemijskih reakcija dati plavo obojene pigmente. Riječ je o reakcijama kojima pogoduje niža vrijednost pH (Oliveira, et al., 2010).

## 5 ZAKLJUČAK

Iako čovjeku poznato od davnina, vino je kemijski izrazito složena smjesa. Zbog tehnološkog procesa proizvodnje različite vrste vina imati će različita kemijska svojstva, a samim time i kemijski sastav. Mjerenjem sadržaja tanina u bijelim i *orange* vinima sorte Pošip uočeno je da unutar iste godine berbe macerirano bijelo vino pokazuje značajno višu koncentraciju tanina nego bijelo vino. Stoga se može zaključiti da se postupkom maceracije kod vinifikacije *orange* vina može postići povećanje sadržaja tanina u vinu od približno 8 puta. Razlog te pojave je što se procesom maceracije fenolni spojevi iz pokožica i sjemenki grožđa ekstrahiraju u vino. Također, uočeno je da je uzorak maceriranog vina sa kraćim trajanjem maceracije pokazao i manji porast u sadržaju tanina u usporedbi s uzorcima bijelih vina iz godine berbe 2020. i 2021. Primijenjena spektrofotometrijska metoda je jednostavna i brza, što je čini korisnom za brzu procjenu sadržaja tanina u uzorcima vina. Kod određivanja intenziteta boje vina uočeno je da *orange* vina imaju više vrijednosti intenziteta boje od većine analiziranih uzoraka bijelih vina. Povećava vrijednosti apsorbancije, kao i veća vrijednost površine ispod krivulje, u cijelom mjerenom VIS području elektromagnetskog spektra za uzorak maceriranog Pošipa 2019. naspram bijelog vina Pošip 2019. ukazuje na povećani sadržaj obojenih tvari. Postojanje koraka maceracije uzorkuje povećanje koncentracije ovih spojeva, a samim time i povećanu koncentraciju pigmenta odgovornih za boju vina. Kod kompozicije boje, najveći udio u svim istraživanim uzorcima vina sačinjava žuta boja. Udio plave boje je veći u maceriranim bijelim vinima u odnosu na sve uzorke bijelih vina što je vjerojatno posljedica nastajanja piranoantocijaninskih dimera iz fenolnih spojeva u maceriranim bijelim vinima. Daljnja istraživanja su potrebna na području utjecaja postupka maceracije na kemijski sastav *orange* vina, čime se može utjecati na kakvoću istih.

## 6 LITERATURA

- Bigard, A. i dr., 2019. The kinetics of grape ripening revisited through berry density sorting. *Oeno-one*, 53(4).
- Bisson, L. F., 1999. Stuck and Sluggish Fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, Svezak 50, pp. 107-119.
- Chira, K. & Teissedre, P.-L., 2014. Chemical and sensory evaluation of wine matured in oak barrel:. *European Food Research and Technology*, p. 533–547.
- Crozier, A., Jaganath, I. & Clifford, M. N., 2007. Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. U: *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Oxford: Blackwell, pp. 1-24.
- Francis, F. J., 1999. *Colorants*. s.l.:Eagan Press.
- Franklin, N., n.d. *Wine Folly*. [Mrežno]  
Dostupno na: <https://winefolly.com/deep-dive/stemmy-wines-lets-talk-whole-cluster-fermentation/>  
[Pokušaj pristupa 22 Kolovoz 2022].
- Hammack, J. & Puckette, M., 2018. *Wine Folly: Magnum Edition: The Master Guide*. New York: Penguin Random House LLC.
- Harris, D. C., 2010. *Quantitative Chemical Analysis*. 8th ur. New York: W. H. Freeman and Company.
- Hodson, G., Wilkes, E., Azevedo, S. & Battaglene, T., 2017. Methanol in wine. *BIO Web of Conferences*, Svezak 9.
- Hollas, J. M., 2002. *Basic Atomic and Molecular Spectroscopy*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Hosu, A., Cristea, V.-M. & Cimpoiu, C., 2012. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. *Food Chemistry*, Issue 150, pp. 113-118.
- Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, 1996. *Vitis International Variety Catalogue*. [Mrežno]  
Dostupno na: <https://www.vivc.de/>  
[Pokušaj pristupa 9 rujan 2022].
- Kunjašić, Lj., (2008). Značaj kultivara Pošip bijeli (V. Vinifera L.) na otoku Korčuli. Završni rad. Zagreb: Agronomski fakultet Zagreb.
- Lista tradicionalnih izraza za vino. s.l.: NN 96/2007.
- MacNeil, K., 2015. *Wine Bible*. Revised second edition ur. New York: Workman Publishing Co., Inc. .

- Millon, M., 2013. *Wine: a global history*. London: Reaktion Books Ltd.
- Moreira, N. i dr., 2018. Sensory attributes and volatile composition of a dry white wine under different packing configurations. *J Food Sci Technol*, 55(1), p. 424–430.
- Oliveira, J. i dr., 2010. Pyranoanthocyanin Dimers: A New Family of Turquoise Blue Anthocyanin-Derived Pigments Found in Port Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 58(8), p. 5154–5159.
- Pandeya, A., Rayamajhi, S., Pokhrel, P. & Giri, B., 2018. Evaluation of secondary metabolites, antioxidant activity, and color parameters of Nepali wines. *Food Science & Nutrition*, 6(8), pp. 2252-2263.
- Pravilnik o proizvodnji vina. (NN 96/03)
- Rayess, Y. E., Barbar, R., Wilson, E. A. & Bouajila, J., 2014. Analytical methods for wine polyphenols analysis and for their antioxidant activity evaluation. U: *Wine: Phenolic Composition, Classification and Health Benefits*. New York: Nova Publishers, pp. 71-102.
- Reynolds, A. G., 2010. Viticultural and vineyard management practices and their effects. U: A. G. Reynolds, ur. *Managing wine quality Volume 1: Viticulture and wine quality*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. & Dubourdieu, D., 2006. *Handbook of Enology Volume Two: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. 2nd ur. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Robinson, J., 2015. *The Oxford Companion to Wine*. 4 ur. Oxford: Oxford University Press.
- Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M. & Barroso, C., 2021. Influence of Temperature during Pre-Fermentative Maceration and Alcoholic Fermentation on the Phenolic Composition of ‘Cabernet Sauvignon’ Wines. *Foods*.
- Samoticha, J., Wojdyło, A., Chmielewska, J. & Nofer, J., 2019. Effect of Different Yeast Strains and Temperature of Fermentation on Basic Enological Parameters, Polyphenols and Volatile Compounds of Aurore White Wine. *Foods*, 8(12).
- Walker, A. R. i dr., 2007. White grapes arose through the mutation of two similar and. *The Plant Journal*, Issue 49, pp. 772-785.
- Waterhouse, A. L., Sacks, G. L. & Jeffery, D. W., 2016. *Understanding Wine Chemistry*. Chichester: John Wiley & Sons, Inc..