

Primjena hiperoksidacije u proizvodnji vina 'Chardonnay' i 'Traminac'

Sošić, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:112800>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**PRIMJENA HIPEROKSIDACIJE U PROIZVODNJI VINA
‘CHARDONNAY’ I ‘TRAMINAC’
DIPLOMSKI RAD**

Maja Sošić

Zagreb, travanj, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:
Vinogradarstvo i vinarstvo

**PRIMJENA HIPEROKSIDACIJE U PROIZVODNJI VINA
‘CHARDONNAY’ I ‘TRAMINAC’
DIPLOMSKI RAD**

Maja Sošić

Mentor: doc.dr.sc. Ana-Marija Jagatić Korenika

Zagreb, travanj, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Maja Sošić**, JMBAG 0178095401, rođena dana 11.05.1994. u Puli, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

PRIMJENA HIPEROKSIDACIJE U PROIZVODNJI VINA 'CHARDONNAY' I 'TRAMINAC'

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Maja Sošić**, JMBAG 0178095401, naslova

PRIMJENA HIPEROKSIDACIJE U PROIZVODNJI VINA 'CHARDONNAY' I 'TRAMINAC'

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. doc. dr. sc. Ana-Marija Jagatić Korenika, mentor

2. prof. dr. sc. Ana Jeromel, član

3. doc.dr.sc. Luna Maslov, član

Sadržaj

Sažetak.....	1
1. Uvod	1
Cilj istraživanja.....	2
Hipoteza istraživanja	2
2. Pregled literature	3
2.1. Polifenoli.....	3
2.1.1. Neflavonoidi	4
2.1.2. Flavonoidi	5
2.2. Enzimatska i neenzimatska oksidacija.....	7
2.2.1. Tirozinaza.....	9
2.2.2. Lakaza	10
2.3. Sumporov dioksid.....	10
2.4. Kisik.....	11
2.5. Utjecaj sorte	12
3. Materijali i metode.....	14
3.1. Sortiment.....	14
3.1.1. Chardonnay	14
3.1.2. Traminac.....	14
3.2. Grožđe i vinograd	15
3.3. Klimatski uvjeti	16
3.4. Plan pokusa	16
3.5. Analiza vina.....	16
3.5.1. Alkohol.....	16
3.5.2. Kiseline i pH	17
3.5.3. Šećer	17
3.5.4. Ekstrakt i pepeo.....	17
3.5.5. SO ₂	17
3.5.6. Analiza polifenolnog sastava	18
4. Rezultati i rasprava	19

4.1. Rezultati osnovne kemijske analize.....	19
4.1.1. Kontrolno vino.....	19
4.1.2. Hiperoksidirana vina.....	20
4.2. Rezultati analize fenolnih spojeva.....	21
4.2.1. Mošt	21
4.2.2. Vino.....	23
Chardonnay	24
Traminac.....	26
5. Zaključak.....	29
6. Popis literature	30
7. Prilog.....	33
7.1. Popis tablica, slika i grafikona	33
Životopis	34

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Maje Sošić**, naslova

PRIMJENA HIPEROKSIDACIJE U PROIZVODNJI VINA 'CHARDONNAY' I 'TRAMINAC'

Veliki izazov u proizvodnji bijelih vina predstavlja oksidacija – utjecaj kisika, koja može uzrokovati tamnjenje njegove boje te razvoj nepoželjnog mirisa i okusa. Za navedenu manu vina odgovorna je grupa spojeva - polifenoli, koji su podložni enzimatskoj te neenzimatskoj oksidaciji.

Cilj ovog pokusa bio je inducirati oksidaciju direktnim izlaganjem mošta kisiku, kako bi se pokrenuo rad oksidativnih enzima te stvorili tamni polimeri fenolnih spojeva koji se talože te ih je na taj način moguće ukloniti prije početka alkoholne fermentacije kako bi se spriječila oksidacija tijekom daljnje proizvodnje vina. Pokus je obavljen na moštu sorata 'Chardonnay' i 'Traminac', proizvedenih na znanstveno-nastavnom pokušalištu "Jazbina", Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Rezultati analiza osnovnog kemijskog te pojedinačnog polifenolnog sastava, hiperoksidiranih moštova i vina, uspoređeni su s kontrolom na kojoj se provodila uobičajena vinifikacija s dodatkom SO₂, bez izlaganja kisiku.

Osnovna kemijska analiza pokazala je kako su parametri proizvedenih vina unutar uobičajenih, propisanih raspona vrijednosti za bijela vina. Kod obje sorte uslijed oksidacije se povećala pH vrijednost te alkoholna jakost vina. Rezultati nisu bili ujednačeni kod obje sorte, ali svakako je vidljiv utjecaj na koncentraciju katehina, kaftarne i galne kiseline te glukozida kvercetina. Pokus na vinu 'Chardonnay' nije završio s očekivanim rezultatima, dok je kod vina 'Traminac' hiperoksidacija imala značajniji utjecaj, pri čemu su reducirane kaftarna, kutarna, kavna i kumarna kiselina te procijanidin B1.

Ključne riječi: hiperoksidacija, kisik, fenolni spojevi, 'Chardonnay', 'Traminac'

Summary

Of the master's thesis – student **Maja Sošić**, entitled

USE OF HYPEROXIDATION ON 'CHARDONNAY' AND 'TRAMINAC' WINE PRODUCTION

Oxidation represents a big challenge in white wine production because it can cause darkening of wine's color and development of unwanted aromas and flavors. Polyphenols – a group of chemical compounds, are also responsible for this wine fault since they are susceptible to enzymatic and non-enzymatic oxidation.

The objective of this experiment was to induce oxidation through directly exposing wine juice to the oxygen so it can initiate oxidation enzymes activity and create dark polyphenol polymers that will sediment so it's possible to remove them before alcoholic fermentation starts and therefore prevent oxidation during further wine production. The experiment was made on the wine juice of 'Chardonnay' and 'Traminac' grape varieties, that were vinified on experimental station 'Jazbina' which is part of Faculty of Agronomy and Zagreb University. Results of primary chemical, as well as individual polyphenol composition of hyperoxidized juice and wine, were compared with the control wine and juice which were made with standard vinification that includes the addition of SO₂ and no contact with oxygen.

Primary chemical analysis showed that concentration of wine compounds is accordant with standard and regulated limits for white wines. Both varieties showed increased pH value and alcohol content as an oxidation outcome. Collected results were not uniform for both of the varieties but there is a clear influence of oxidation on the catechin concentration, caftaric and gallic acid, as well as the quercetin glucoside. Experiment on the 'Chardonnay' wine didn't end up with expected results, while oxidation of 'Traminac' wine had more influence on polyphenol composition because of the reduced concentration of caftaric, coumaric, caffeic and cumaric acid, as well as the procyanidin B1.

Key words: hyperoxidation, oxygen, phenolic compounds, '*Chardonnay*', '*Traminac*'

1. Uvod

Kisik u procesu vinifikacije postaje važan u interakciji s enzimima, kvascima, aromatskim spojevima, taninima i fenolima. Ima važan utjecaj na polimerizaciju tanina, boju vina, prisutnost reduktivnih i oksidativnih spojeva (Charest, 2015). U proizvodnji bijelih kvalitetnih vina, uglavnom ima negativnu ulogu te se tradicionalno njegov utjecaj sprječava preventivno, dodatkom sulfita ili askorbinske kiseline u masulj, mošt ili u vino, u svim fazama proizvodnje vina i neposredno prije punjenja u boce. Štoviše, vinifikacija nekih bijelih aromatičnih sorata provodi se u potpuno reduktivnim uvjetima, bez kontakta s kisikom, uz pomoć inertnih plinova i kontrolirane temperature.

Poznato je kako oksidacija vina dovodi do preranog starenja vina, degradacije boje i arome, a najlakše ju je primijetiti uslijed tamnjenja boje. Posebno su tome podložna vina više pH vrijednosti i ona koja se čuvaju na višim temperaturama (Ferreira i sur., 2003; Macheix i sur. 1991). Primjerice, pri pH vrijednosti od 3,7 dvostruko je veća mogućnost oksidacije nego pri pH 3,5. Takvo vino užitno je za konzumaciju kao mlado, no ima vrlo kratki vijek trajanja (Charest, 2015). U oksidiranom vinu pojavljuju se i strani mirisi; nalik na trulu jabuku, karton, med, karamel, kuhane krumpire, sjeno, štalu, drvo (Ferreira i sur., 2003).

Hiperoksidacija mošta postupak je koji se može koristiti kao prirodna alternativa dodavanju SO₂, odnosno za sprječavanje oksidacije budućeg vina. Tome u prilog ide i porast popularnosti 'prirodnih' i nesulfitiranih vina, kao posljedica sve negativnije slike kupaca o vinima koja sadrže sulfite.

Osnovna značajka hiperoksidacije jest dopuštanje kisiku da dođe u kontakt s moštom tijekom vinifikacije. Obogaćivanje mošta kisikom može se izvesti prepumpavanjem mošta iz jednog tanka u drugi ili iz preše u tank, a kisik se dodaje putem difuzera postavljenog u cijev za prepumpavanje. Drugi način je dodavanje kisika difuzerom u cijev kroz koju mošt kruži u tanku, a može se dodati izravno u tank, također s difuzerom, ali je u tom slučaju potrebno miješati mošt. Ako se provodi bistrenje mošta flotacijom, pritom se može koristiti kisik (Schneider, 1998).

Primarni cilj ovog postupka zapravo je jednostavnim načinom iz vina ukloniti fenolne spojeve odgovorne za posmeđivanje, astringentnost i gorčinu vina, te eventualno osigurati dulje i sigurnije starenje vina (Cejudo-Bastante i sur., 2011b). Naime, prekursori navedenih spojeva oksidirati će u polimere velike molekularne mase koji se ne mogu otopiti u moštu te će doći do njihove sedimentacije. Tako nastao talog topljiv je u alkoholu, radi čega se mora ukloniti prije početka alkoholne fermentacije, kako se ne bi poništio učinak cijelog procesa (Cheynier, 1991).

Učinak hiperoksidacije ima veći značaj u bijelim moštovima pošto crna vina zbog veće koncentracije fenola mogu tolerirati veće količine kisika, a tijekom oksidativnog starenja

dolazi do kondenzacije antocijana i boja im postaje stabilnija (Mayen i sur., 1996). Crna vina imaju i više fenolnih oblika otpornijih na oksidaciju (primjerice antocijan malvidin), zbog čega bijela vina usvajaju više O₂ po fenolnoj jedinici (Singleton, 1987). Uspješnost provođenja hiperoksidacije ovisi o samoj sorti, sastavu mošta te količini prisutnog kisika (Cejudo-Bastante, 2011b). Prema Charest (2015), proces nije poželjno provoditi na aromatičnim bijelim sortama poput 'Sauvignona bijelog', 'Traminca', 'Viogniera' pošto su nosioci njihove sortne arome tioli koji vrlo lako oksidiraju, što dovodi do gubitka sortne arome.

Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je utvrditi posljedice hiperoksidacije moštova sorata 'Chardonnay' i 'Traminac' na osnovne kemijsko-fizikalne parametre i polifenolni sastav mošta te gotovog vina.

Hipoteza istraživanja

U velikom broju znanstvenih radova hiperoksidacija je ocjenjena kao proces s pozitivnim rezultatima u pogledu sprječavanja oksidacije bijelih vina tijekom starenja u boci, a da pritom nije došlo do negativnih utjecaja na kvalitetu vina. U istim radovima, zaključak je bio da je za taj rezultat odgovorno značajno reduciranje koncentracije fenolnih spojeva u moštu. Stoga se pretpostavlja da će i ovo istraživanje navedenih bijelih vina imati slične rezultate te da će vina biti stabilnija kod odležavanja.

2. Pregled literature

Prva istraživanja utjecaja oksidacije na mošt i vino započela su još u 70-im godinama prošloga stoljeća (Schneider, 1998) kada se htjelo saznati više o kemijskim i senzornim promjenama koje se događaju pod utjecajem kisika. Za povećan interes zaslužan je i razvoj strojne berbe koja je dovela do većeg broja puknutih bobica prije početka prerade, što je rezultiralo izlaskom soka i njegovim kontaktom s kisikom tijekom transporta te neposrednom oksidacijom (Pocock, 1998; Macheix i sur., 1991; Charest, 2015).

2.1. Polifenoli

Ciljane komponente mošta na koje djeluje hiperoksidacija jesu fenoli koji imaju najveći utjecaj na okus i boju vina. Različitih su struktura; građeni su od aromatskog prstena sa 6 atoma ugljika i jednom ili više OH (hidroksilnih) skupina vezanih za C atom (Jeromel, 2017). Dijele se na dvije osnovne skupine - flavonoide i neflavonoide. U bobicama su smješteni u vakuolama kože, mesa i sjemenkama (Macheix i sur., 1991). Koncentracija polifenola u bijelom grožđu obično iznosi 4000 mg/kg, dok crne sorte mogu imati 5500 mg/kg GAE¹ (Zoecklin i sur., 2013). Koncentracija ovisi o agrotehničkim uvjetima i *terroiru*, no najveći utjecaj ima sama sorta (Macheix i sur., 1991).

Postupak vinifikacije bijelih vina obično podrazumijeva brzo prešanje i izlazak soka iz bobice ili masulja, zbog čega najčešće imaju nisku koncentraciju ukupnih fenolnih spojeva (0,2-0,5 g/L) u odnosu na crna vina nastala maceracijom (1-5 g/L) (Oliveira i sur., 2011). Većinu navedene koncentracije čine neflavonoidi (Macheix i sur., 1991), koji potječu iz mesa bobice te stoga lako prelaze u sok (Creasy i Creasy, 2009).

Povećanje ukupnih fenola (i flavonoida) ovisi o dodatnoj ekstrakciji iz čvrstih dijelova, primjerice mljevenjem tkiva mehaničkim postupcima, dodavanjem SO₂, maceracijom te višim temperaturama i pritiskom kod prešanja (Macheix i sur., 1991; Oliveira i sur., 2011, Cheynier, 1989).

Fenolni sastav vina razlikuje se ovisno o sorti grožđa, načinu vinifikacije te reakcijama koje se događaju tijekom njegovog starenja (Macheix i sur., 1991). Zriobom se povećava stupanj polimerizacije fenola, ali prezrelo grožđe sadrži manje polifenola (Zoecklin i sur., 2013). U vinu se nalazi manja koncentracija ukupnih polifenola nego u moštu, a za to su zaslužni kvasci, nastali etanol te stabilizacija i bistrenje vina (Macheix i sur., 1991; Schneider, 1998).

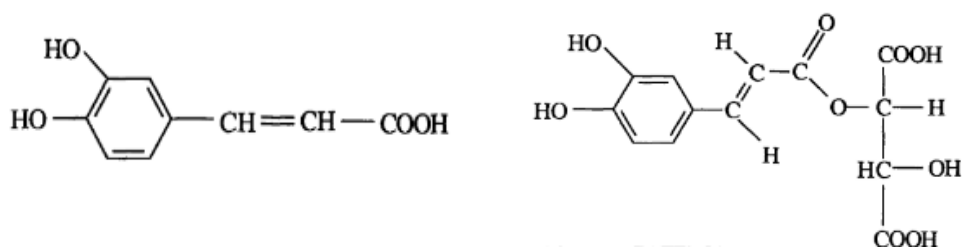
¹ Izraženo u ekvivalentima galne kiseline.

2.1.1. Neflavonoidi

Neflavonoidi su građeni od jednog aromatskog prstena, a dijele se na hidroksicimetne i hidroksibenzojeve kiseline, hlapive fenole i stilbene. Čine 75% ukupnih fenola bijelih vina (Zoecklin i sur., 2013). Najvažnije hidroksicimetne kiseline jesu *p*-kumarna, kafeinska i ferulinska (Oliveira i sur. 2011; Singleton i sur. 1986; Singleton, 1987). Mogu se pronaći kao esteri s vinskom kiselinom, a većinom su prisutne kao stabilniji *trans* izomeri. Derivati hidroksicimetnih kiselina u pravilu su najzastupljeniji neflavonoidni spojevi moštova (Graber i Nagel, 1988). Većinu udjela zauzima kaftarna kiselina (kafeinska + vinska kiselina), prosječno sa 145 mg/L (Singleton i sur., 1986).

Kutarna kiselina (ester kumarinske i vinske kiseline) u bijelim se moštovima obično nalazi u koncentraciji od prosječno 20 mg/L, a prisutna je još i fertarna (ester ferulinske i vinske kiseline) s prosječno 5 mg/L (Singleton i sur., 1986). Sukladno tome, najvažnije hidroksicimetne kiseline kod posmeđivanja vina jesu kaftarna i kumarna, koje su i najosjetljivije na kontakt s kisikom (Cejudo-Bastante i sur., 2011ab; Rigaud i sur., 1991; Mayen i sur., 1996). Koncentracija hidroksicimetnih kiselina u bobici povećava se tijekom rasta i dozrijevanja bobice, a zatim postaje konstantna (Singleton, 1987; Macheix i sur., 2011). U vinu i tijekom vinifikacije dolazi do njihove hidrolize te oslobađanja slobodnih hidroksicimetnih kiselina (Cejudo-Bastante, 2011b).

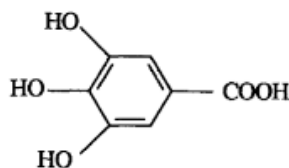
Prema Singleton (1986), mošt 'Chardonnay'-a sadržavao je 122-135 mg/L *trans*-kaftarne kiseline te 1-3 mg/L *cis*-izomera, dok je u moštu 'Traminca' bilo 54 g/L te 1 g/L. *Trans*-kutarne bilo je 12-15 mg/L, 3-4 mg/L *cis*-kutarne, odnosno 3 mg/L i 1 mg/L za 'Traminac'.



Slika 2.1. Kavna kiselina te njen ester s vinskom kiselinom (kaftarna kiselina)

Druga podskupina jesu hidroksibenzojeve fenolne kiseline, koje se nalaze u mesu i sjemenkama bobice. Najčešće su prisutne gentizinska, salicilna, galna i *p*-hidroksibenzojeva kiselina (Jeromel, 2017). Najznačajnija je galna kiselina (1-2 mg/L u moštu prema Su i Singleton, 1969), koja je slobodna i jednostavno se dobiva zbog čega se koristi za izražavanje

ukupnih fenola (Creasy i Creasy, 2009). Kada se veže s flavan-3-olima, nastaju esteri galokatehin, epigalokatehin, epikatehin-3-galat i dr.



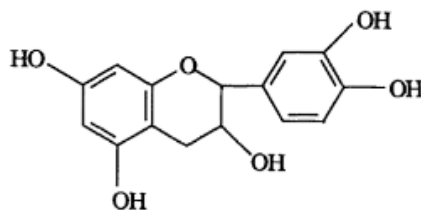
Slika 2.2. Galna kiselina

U neflavonoide također spadaju i stilbeni, a najvažniji predstavnik je resveratrol, spoj koji je poznat po antikancerogenim i antimutagenim svojstvima. Njegova se koncentracija u vinu prepolovi hiperoksidacijom (Castellari, 1998), no to nije od većeg značaja u bijelim vinima, pošto je zbog načina vinifikacije sadržaj već nizak (0,1-0,8 mg/L) (Stecher i sur., 2001).

2.1.2. Flavonoidi

Flavonoidima pripadaju spojevi odgovorni za gorčinu i astringenciju, ali i za boju vina (Schneider, 1995; Cejudo-Bastante, 2011b). U moštu bijelih kultivara čine do 20% svih polifenola (Zoecklin i sur., 2013). Dijelev se na flavanole koji polimeriziraju u tanine; flavonole te antocijanidine koji su u grožđu prisutni kao monomerni glikozidi ili acilirani glikozidi (Jeromel, 2015).

Flavan-3-oli su najzastupljenija podskupina flavonoida u bijelim moštovima. Potječu iz sjemenke i kože, gdje se nalaze kao monomeri, oligomeri i polimeri ('procijandini'/'kondenzirani tanini'). Ekstrakcija iz kože lakša je nego iz sjemenke (Zoecklin i sur., 2013), dok se u mesu bobice flavan-3-oli nalaze samo u tragovima, uglavnom kao procijanidini B1-B4 (Moreno-Arribas i Polo, 2009). Najzastupljeniji flavanolni monomer grožđa jest katehin te njegov izomer epikatehin, a dimer procijanidin B1 (Zoecklin i sur., 2013). Koncentracija monokatehina u bobici raste do šare, zatim naglo pada dok se ne stabilizira u zriobi (Macheix i sur., 1991). Stupanj polimerizacije raste s dozrijevanjem, a u trenutku berbe on je veći u koži nego u sjemenkama. Katehin je kao monomer gorkog okusa, a polimeri su u osnovi astringentni (Oliveira i sur. 2011; Zoecklin i sur., 2013). U vinu se flavan-3-oli mogu nalaziti u koncentraciji 10-50 mg/L (Crasy i Creasy, 2009). Iako se sporije oksidiraju od hidroksicimetnih kiselina, katehini i njihovi polimeri su u visokoj korelaciji s posmeđivanjem vina (Macheix i sur., 1991). Također, doprinose i senzornim svojstvima jer im je osjetilna granica gorčine 20 mg/L (Zoecklin i sur., 2013).



Slika 2.3. Prikaz molekule katehina

Tanini sjemenke prvenstveno su polimeri (+)katehina, (-)epikatehina ili (-)epikatehin galata, dok tanini kože mogu sadržavati i (-)epigalokatehin te male količine (+)epigalokatehin galata. U bijelom vinu procijanidini i kondenzirani tanini nalaze se u koncentraciji od oko 100 mg/L, no sadržaj je vrlo varijabilan ovisno o tipu prešanja (Oliveira i sur., 2011).

Flavonoli su blijedo žuti pigmenti smješteni u koži te zajedno s karotenoidima i klorofilom daju nijanse bijelom vinu (Keller, 2010). U grožđu se nalaze uglavnom kao 3-glukurozidi kvercetina te 3-glikozidi kvercetina i kampferola, dok je najzastupljeniji flavonol bijelih sorata kvercetin (Creasy i Creasy, 2009). Kako se bijela vina uglavnom proizvode bez maceracije, u njima su prisutni u tragovima ili ih nema. Najznačajniji flavonol bijelih vina jest kvercetin (10 mg/L) (Zoecklin i sur., 2013).

Flavonoidi podliježu enzimatskoj i kemijskoj promjeni. Najvažniji enzimi koji ih koriste kao supstrat su polifenoloksidaze (PPO) lakaza i peroksidaza (Oliveira i sur., 2011). U vinu flavonoidi sudjeluju i u interakciji s proteinima i polisaharidima te uzrokuju zamućenja vina.

Proučavajući dostupnu literaturu, može se zaključiti da se hiperoksidacijom smanjuje količina svih istraživanih fenolnih komponenti (Cejudo-Bastante i sur., 2011ab; Cheynier i sur. 1989; Cheynier i sur., 1991; Macheix i sur., 2011; Perez-Juan i sur., 1995; Robbins i sur., 2017; Sereni, 2016; Vaimakis i Roussis, 1993). Prema nekim autorima, glavni uzrok poboljšanih senzornih svojstava jest uklanjanje flavonoida koji uzrokuju gorčinu, astringenciju, posmeđivanje, 'pinking' te razvoj negativnih aroma tijekom oksidativnog starenja bijelih vina (Schneider, 1995; Cheynier i sur., 1991; Pocock i sur., 1998; Oliveira i sur., 2011b).

Schneider (1995) zaključuje da bi se hiperoksidacija mogla koristiti kao alternativa stabilizatorima i bistrilima, kao što su kazein i PVPP obzirom da je za identično smanjenje koncentracije polifenola potrebna velika količina tih sredstava, pri čemu iz vina nestaju i neke druge komponente, što nije uvijek cilj (Schneider, 1995). Vaimakis i Roussis (1993), za stolna vina preporučuju proces oksidacije umjesto kazeina, PVPP-a te aktivnog ugljena.

2.2. Enzimatska i neenzimatska oksidacija

Oksidacija mošta je enzimatska, dok je oksidacija vina neenzimatska ('kemijska'). Glavni enzimi odgovorni za oksidaciju fenolnih spojeva jesu oksidoreduktaze koje koriste kisik kao akceptor elektrona, peroksidaze koje koriste vodikov peroksid te monooksigenaze. Oksidoreduktazama su donori elektrona katekoli (dihidroksibenzeni), a ta skupina enzima obuhvaća tirozinazu ('katekolaza', 'oksidaza'), lakazu (ili *p*-difenol oksidaza) te orto-aminofenol oksidazu (Oliveira i sur., 2011).

Tirozinaza je prirodni enzim grožđa (Oliveira i sur., 2011; Michaux i sur., 1991; Schneider, 1998; Singleton, 1987) te ima dvije aktivnosti. Jedna je fenol-*o*-hidroksilazna ('krezolaza') u kojoj umetanjem kisika transformira monofenol u katekol, a druga je katekolazna, u kojoj oksidiranjem katekola stvara smeđi pigment melanin (Oliveira i sur., 2011).

Lakaza je prisutna samo u grožđu zaraženom plemenitom plijesni - *Botrytis cinerea* (Michaux i sur., 1991; Schneider, 1998; Singleton, 1987), a njezina aktivnost obuhvaća oksidaciju *p*-hidrokinona u *p*-benzokinone (Oliveira i sur., 2011).

Dva najvažnija enzima koji provode proces hiperoksidacije, tirozinaza i lakaza, pripadaju skupini polifenol-oksidaza (PPO), a nalaze se u citoplazmi stanica kože bobice (Macheix i sur., 1991) i oslobađaju se iz grožđa tijekom muljanja ili prešanja (Rigaud i sur., 1991; Cheynier, 1991; Macheix i sur., 1991). Enzimi pritom dolaze u kontakt s kisikom, a on ih aktivira tako da im mijenja konformaciju blizu aktivnog mjesta (Macheix i sur., 1991).

Najvažniji supstrat za enzime jesu hidroksicimetne kiseline, a tijekom njihove oksidacije oslobađa se jedna molekula vode (Oliveira i sur., 2011; Singleton i sur., 1987).

Grožđe također sadrži tripeptid glutation koji se veže na primarni produkt oksidacije fenola – kinon kaftarne kiseline, te nastaje GRP ('grape reaction product'), odnosno 2-*S*-glutacionil kaftarne kiseline. GRP je bezbojan produkt koji tirozinaza ne može oksidirati te se na taj način ograniči tamnjenje mošta (Cejudo-Bastante i sur., 2011a; Rigaud i sur., 1991; Cheynier i sur., 1991; Oliveira i sur., 2011b; Macheix i sur., 1991). Sukladno tome, može se zaključiti da kinetika oksidacije velikim dijelom ovisi o molarnom omjeru hidroksicimentih kiselina i glutationa.

No, ako u moštu ponestane slobodnog glutationa, preostali kinon kaftarne kiseline oksidira druge spojeve mošta, što osim flavanola može uključivati i GRP (Macheix i sur., 1991; Cheyner, 1991; Rigaud i sur. 1991; Oliveira i sur. 2011). Reakcijom s GRP nastaje *o*-kinon GRP koji može biti oksidiran od strane lakaze ili ga može zarobiti druga molekula glutationa da bi nastao GRP2 (2,5-di-*S*-glutacionil kaftarne kiseline), također podložan oksidaciji lakazom (Cejudo-Bastante 2011a; Cheyner i sur., 1990). U slučaju navedene oksidacije, stvara se ortokinon koji brzo formira smeđe polimere (Macheix i sur., 1991).

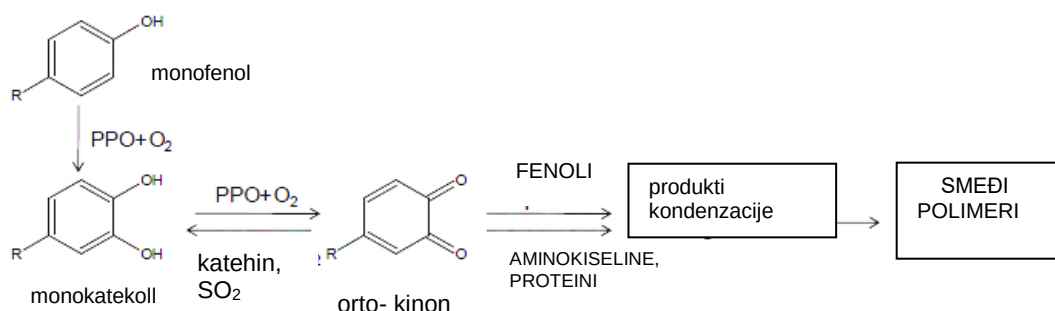
Kod sorata s malim udjelom glutaciona, dolazi do brze potrošnje te do neenzimatskih reakcija posmeđivanja. Naime, kinoni oksidiraju flavonoide do dimera i produkata polimerizacije koji su ponovno oksidirani zbog nižeg redoks potencijala od originalnog kinona. Oksidacijski produkti su smeđe boje i netopivi u moštu (Oliveira i sur., 2011; Macheux i sur., 1991).

Takvi produkti mogu nastati i uparenom oksidacijom, odnosno kada kinon kaftarne kiseline oksidira fenolne komponente, a istovremeno se reducira natrag u kaftarnu kiselinu (katekol) koja je kao takva ponovno podložna oksidaciji (Macheux i sur., 1991; Mayen i sur., 1996; Oliveira i sur. 2011).

Osim s fenolima, kinoni mogu reagirati i s aminima, aminokiselinama, tiolima i sulfitima. (Vaimakis i Roussis., 1992; Oliveira i sur. 2011). Reakcijom kinona s cisteinom i sumpornim spojevima, sprječava se posmeđivanje vina (Macheux i sur., 1991).

Kada se promatra kinetika oksidacije, u obzir se treba uzeti i interakcija različitih fenola koja se mijenja ovisno o njihovom sastavu i koncentraciji; prema Macheux i sur. (1991), degradacija flavan-3-ola i GRP bila je mnogo brža u prisustvu kaftarne kiseline, upravo zbog mehanizma uparene oksidacije. Njena uloga u oksidaciji fenola je stoga iznimno važna, posebice kod monomernih, dimernih i polimernih flavanola.

Brzina uparene oksidacije slaže se s rastom redoks potencijala fenola koji u njoj sudjeluju: epikatehin galat < procijanidini < GRP < epikatehin, katehin < kaftarna kiselina. Askorbinska kiselina i SO₂ štite mošt i vino od oksidacije zato što imaju najniži redoks potencijal te se prve vežu na nastali kinon i sprječavaju njihovu polimerizaciju (Macheux i sur., 1991).



Slika 2.4. Prikaz kemijskog puta enzimatskog posmeđivanja. Izvor: Oliveira i sur., 2011.

Oksidacija vina može započeti i nakon punjenja u boce, kada kisik prođe kroz pluteni čep. SO₂ koji je dodan radi zaštite, veže se za jedan dio kisika, no veći dio ipak stupa u reakciju s fenolima. Flavonoidi usvajaju kisik, prolaze polimerizaciju (Cejudo-Bastante i sur., 2011b) i pojavljuju se neželjena svojstva, a njihov prag osjeta je sve manji kako polimerizacija napreduje (Arnold i sur., 1980). Ovo je neenzimatska oksidacija vina, sporija od oksidacije mošta uzrokovane PPO kojima je aktivnost smanjena zbog etanola, nižeg pH, SO₂, taloženja, bistrjenja i dorađivanja vina (Mayen i sur., 1996).

2.2.1. Tirozinaza

Tirozinaze potječu iz bobice grožđa, a njihova aktivnost smanjuje se povećanjem koncentracije šećera i smanjenjem kiselosti, odnosno dozrijevanjem grožđa. Prema Macheix i sur. (1991), kod bijelih vinskih sorata najviša aktivnost bila je pri 9-21,3 °Brix.

Tijekom dozrijevanja grožđa, aktivnost netopivog dijela enzima povećava se u odnosu na topivi dio, zbog čega se bistranjem mošta nakon prešanja ukloni veliki dio tirozinaza. U slučaju dodatka sulfita i smanjivanja temperature (0-5°C), moguće je reducirati 90 % ukupne aktivnosti (Macheix i sur. 1991).

Aktivnost počinje rasti pri prvom mehaničkom oštećenju bobice (strojna berba, prešanje). Vjerojatno je uzrok stres ili biosinteza enzima, ali je također moguće i zbog premještanja topivih enzima iz bobice u medij. To je razlog zašto nesulfirani moštovi gotovo smjesta nakon prešanja poprimaju tamne nijanse boje. Dokazano je da se posmeđivanje i smanjenje ukupnih fenola može odviti samo u prisustvu O₂, pošto nije došlo do istih efekata kada se grožđe prešalo u atmosferi s dušikom (Macheix i sur. 1991).

Kako vinifikacija odmiče, enzimima se generalno smanjuje ili potpuno nestaje aktivnost zbog alkoholne fermentacije, odnosno porasta razine etanola te zbog taloženja čvrstih dijelova bobice iz kojih potječu. Dokazano je da je isparavanjem alkohola moguće povratiti do 80% početne aktivnosti tirozinaze (Macheix i sur. 1991).

Tirozinazu mogu inhibirati određeni kemijski spojevi, a neki od njih su: askorbinska kiselina, kalij-metabisulfit, glutation, L-cistein. Spoj 2,3-naftalendiol specifični je inhibitor katekolaze. Najveća učinkovitost tih spojeva primijećena je kod koncentracije 0,5-5 mM. Mnoga istraživanja potvrdila su značajno smanjenu aktivnost tirozinaze pri temperaturama većima od 25°C (ili 30°C). Najveća djelotvorna koncentracija bentonita ne može ukloniti više od 30% aktivnosti (Macheix i sur. 1991).

2.2.2. Lakaza

Plijesan *B. cinerea* stvara i u medij izlučuje topljive enzime lakaze. One se mogu razlikovati ovisno o mediju u kojem nastaju, a dokazano je i da im se aktivnost povećava s porastom šećera u mediju. Koncentracija lakaza nije proporcionalna razini zaraženosti grožđa s plijesni. Naime, ona najvećim dijelom ovisi o kemijskom sastavu bobice, ali i prisutnosti drugih gljivica koje napadaju vinovu lozu (*Penicillium*, *Aspergillus*), koje mogu potpuno onemogućiti nastajanje enzima. Stvaranje enzima osim o fenolnom sastavu medija i o sekundarnim čimbenicima, kao što su primjerice derivati pektina (Macheix i sur. 1991).

Aktivnost lakaza mijenja se ovisno o pH medija i temperaturi. Maksimalna aktivnost primjećena je između pH vrijednosti 4- 4,75, a na temperaturama 40-50 °C. No, enzim nastao od plijesni koji se razvio u moštu pokazao je optimalnu pH vrijednost 3,4. Takvoj lakazi se sa smanjenjem pH povećava osjetljivost na temperaturne promjene te ju je lakše inhibirati.

Jedan od inhibitora je cijanid, no potrebne su velike količine za čak i djelomičan gubitak aktivnosti. Potpuno uklanjanje iz vina moguće je brzim zagrijavanjem mošta iznad 60°C. Lakaza nema netopivih oblika, no ultrafiltracijom s posebnim membranama može se ukloniti i 74% ukupnih (topivih) enzima (Macheix i sur. 1991).

Uz specifičnu aktivnost za 7-difenole, lakaza ima velik spektar supstrata u grožđu, moštu i vinu na koje može djelovati (m-difenoli, o-trifenoli, galna kiselina, katehini, epikatehini, tanini, esteri fenolnih i vinskih kiselina, neki monofenoli), a vrlo malo inhibitora. Naime, lakaza može neke od tirozinaznih inhibitora koristiti kao supstrate, jednako kao i produkte oksidacije, GRP te GRP2. Također, otporna je na više različitih uvjeta u vinu nego tirozinaza (uključujući dodatak bentonita) i tek se djelomično uklanja tijekom alkoholne fermentacije (Macheix i sur. 1991).

2.3. Sumporov dioksid

Već je navedeno da se hiperoksidirana vina sulfitiraju u mnogo manjoj mjeri. Osim povišenog interesa za vina bez sulfita, prednost je i u činjenici da su količine dodanog SO₂ zakonom ograničene u proizvodnji organskih vina. Hatfield i sur. (2003) navode da visoke količine mogu uzrokovati oštrinu okusa, Charest (2015) spominje da SO₂ može prigušiti arome vina, dok neki autori upozoravaju na posljedice na ljudsko zdravlje, kao što su alergijske reakcije (Cejudo-Bastante i sur., 2011b) te nadraženje pluća (Macheix i sur., 1991).

Kada bi se mošt/masulj predviđen za hiperoksidaciju sulfitirao, proces se ne bi mogao provesti jer ne bi došlo do taloženja polifenolnih spojeva. Naime, SO₂ štiti vina od oksidacije tako da čini flavonoide stabilnim u otopini vezivanjem na njihov C4 atom (Hatfield i sur.,

2003), onemogućuje aktivnost enzima modifikacijom njihove proteinske građe (redukcija atoma Cu^{2+} u Cu^{+}) te reakcijom s kinonom stvara bezbojni produkt (Macheix i sur., 1991). S dodanih 50 mg/L mošta, ukupna aktivnost reducirana je za 75-90% (Schneider, 1998). Prema Macheix i sur. (1991), 25 ppm postepeno je smanjivalo aktivnost tirozinaze i unutar 40-50 dana nakon prešanja dovelo do njenog potpunog nestanka, dok je pri 50 i 100 ppm SO_2 , aktivnost gotovo odmah prestala.

Zaštitna uloga sulfita opada s vremenom, što je ubrzano s deficitom slobodnog SO_2 , većom stopom usvajanja kisika, porastom pH te lošijim zdravstvenim stanjem grožđa. U vinu je zbog nižeg pH moguće potpuno ukloniti tirozinaznu aktivnost s dvostruko manjom koncentracijom SO_2 nego u moštu. Primjerice, na pH 3,4 potrebno je 50 mg/L za tirozinazu te 125 mg/L za lakazu (Macheix i sur., 1991).

H_2S učinkovitiji je inhibitor lakaze (1-2,5 mg/L dovoljno je za stabilizaciju vina), ali se ne koristi zbog opasnosti od razvoja spojeva merkaptana neugodnog mirisa.

Nakon uklanjanja taloga i završene AF, SO_2 se dodaje ako se želi spriječiti malolaktična fermentacija (Cheynier, 1991; Cejudo-Bastante i sur., 2011b) ili zbog zaštite vina prije punjenja u boce.

U slučaju da se SO_2 doda u mošt u količinama manjima nego što je potrebno za inhibiranje PPO, ono djeluje kao reduktant i povećava kapacitet adsorpcije kisika (Rigaud i sur., 1991).

2.4. Kisik

Vremenski period u kojem se mošt izlaže zraku/kisiku ovisi o zrelosti grožđa, ukupnoj kiselosti te razini hranjiva dobivenoj iz grožđa. Primjerice, ako je proizvodna godina bila jako topla, potrebno je više kisika kako bi se potakla fermentacija koja je bila otežana zbog nedovoljno prirodnih nutrijenata za kvasce (Charest, 2015).

Manje kisika potrebno je samotoku, a više soku koji je produkt prešanja i ima više fenolnih spojeva (Charest, 2015).

Kisik poboljšava alkoholnu fermentaciju tako što doprinosi sintezi sterola i dugolančanih (C16-C18) masnih kiselina, a uklanjanju toksičnih srednje lančanih (C8-C12) masnih kiselina. Na taj način kvascima je omogućeno bolje usvajanje šećera u završnoj fazi alkoholne fermentacije. Također, kvasci se obogaćuju sterolima koji im povećavaju toleranciju na povišenu koncentraciju alkohola. Zbog prisutnosti kisika, oni mogu koristiti i inače nedostupnu aminokiselinu prolin kao izvor dušika (hranjiva), a sve navedeno konačno rezultira kompletnijom fermentacijom (Schneider, 1998).

Charest (2015) savjetuje da se dodatni kisik za fermentaciju doda odjednom, odnosno u prvoj trećini alkoholne fermentacije. Također dodaje da u praksi mnogi proizvođači 'Chardonnay'-a agresivno prozračuju mošt tijekom fermentacije, 20-30 min dnevno keramičkim difuzerom dodanim u tank.

Kapacitet usvajanja kisika od strane mošta vrlo je varijabilan i najviše ovisi o početnoj koncentraciji hidroksicimetnih kiselina (Schneider, 1998) i koncentraciji enzima (Macheix i sur., 1991). Brzina usvajanja kisika veća je na početku oksidacije i smanjuje se trošenjem fenolnih supstrata. Za obrnuti slučaj odgovorna je regeneracija kaftarne kiseline, kao što je navedeno u poglavlju 2.2. Opadanje je usporeno ako je prisutna lakaza, pošto njezina aktivnost nije smanjena polifenolnim produktima oksidacije, kao što je slučaj s tirozinazom. Također, zbog manjeg spektra supstrata tirozinaze, oni se prije istroše (Macheix i sur., 1991).

Usvajanje kisika u moštu od strane PPO u uvjetima bez SO₂ varira od 0.5 do 4.6 mg O₂/L/min pri 25°C, prosječno iznosi 2 mg/L/min (Macheix i sur., 1991.)

2.5. Utjecaj sorte

Prema Cheyner i sur. (1990), molarni omjer hidroksicimentih kiselina i glutaciona ima najveći utjecaj na kinetiku oksidacije. Navode da je ono specifično za svaku sortu, a one se prema njemu mogu podijeliti u tri grupe:

- Prvu grupu čine sorte koje imaju omjer u rasponu 0,9-2,2. Karakterizirane su kratkom lag fazom, a vrlo brzom oksidacijom hidroksicimetnih kiselina i stvaranjem GRP. Zbog redukcije kinona u kaftarnu kiselinu, usporeno je uklanjanje kaftarne kiseline iz mošta. Nakon brze oksidativne faze, dolazi do uparene oksidacije GRP te se njegov o-kinon odmah transformira u GRP2 i u kompeticiji je sa stvaranjem GRP.

Nakon provedene oksidacije, moštovi ovih sorata svijetle su boje.

Prema navedenim autorima, u ovu grupu spadaju 'Plemenka', 'Clairette', 'Chenin blanc'.

- Kod sorata omjera 1,1-3,6; GRP dosegne maksimalnu koncentraciju nakon par minuta te zatim mirno opada. Glutacion se troši, kaftarna kiselina i GRP o-kinoni se prvo nakupljaju, a zatim reagiraju do produkata kondenzacije. Nastane malo GRP2 te on odmah nestane iz mošta, vjerojatno uparenom oksidacijom.

Njihovi moštovi srednje su tamni. Takve sorte su 'Chardonnay', 'Sauvignon blanc', 'Ugni blanc', Pinoti, 'Muškat aleksandrijski', 'Muscadet'.

- Sorte omjera 3,8-5,9 imaju manje maksimalne razine GRP i GRP o-kinona, a više kaftarnog kinona. U njihovim moštovima ne pojavljuje se GPR2 jer se glutacion potroši prije nego započne oksidacija GRP, zbog niske koncentracije glutaciona u odnosu na hidroksicimetnu kiselinu.

Moštovi su tamne boje, a sorte 'Rizling', 'Garnache', 'Listan', 'Chazan', pokazale su takve parametre (Cheyner i sur., 1990).

U moštu je stvaranje GRP u kompeticiji s bakrom, koji reagira s glutationom i smanjuje njegovu količinu, zbog čega treba obratiti pozornost na rezidue pesticida u grožđu u trenutku berbe (Rigaud i sur., 1991).

Uspješna hiperoksidacija uz poboljšanje kvalitete zabilježena je kod vina 'Chardonnay', 'Muškat aleksandrijski', 'Macabeo', 'Muškat' i 'Parelladi', dok su suprotni rezultati kod sorata 'Semillon', 'Chenin blanc', 'Muscadell' (Cejudo-Bastante i sur., 2011a). Robbins i sur. (2017) navode da između pokusnog i kontrolnog vina nije bilo senzornih razlika, ali je hiperoksidirano vino dulje zadržalo kvalitetu tijekom starenja, čak i pri višim temperaturama.

3. Materijali i metode

3.1. Sortiment

3.1.1. Chardonnay

Sorta 'Chardonnay' podrijetlom je iz Francuske. Predstavlja jednu od najpopularnijih i najrasprostranjenijih bijelih sorata na svijetu (~199 000 ha) (Pucket, 2015), što duguje svojoj adaptabilnosti i dobrim gospodarskim svojstvima. Najviše joj odgovara uzgoj na južnim položajima s propusnim tlom, no podnosi i niske temperature (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008). Čak i u hladnijim krajevima nakuplja dovoljne količine šećera.

Jedna je od sorti koje su jako osjetljive na *Botrytis*, no radi ranog dozrijevanja (2. epoha) u nekim se krajevima to može spriječiti berbom prije jesenskih kiša. Potrebno je pratiti ulazak u tehnološku zrelost, pošto dozrijevanjem sorta ima tendenciju smanjenja sadržaja kiselina. Opasnost od mraza uzrokovana ranim otvaranjem pupova, može se odgoditi do dva tjedna rezom neposredno prije pupanja, dok se u hladnijim krajevima koriste klonovi kasnijeg pupanja (Robinson, 2006). Osrednje je do vrlo dobre rodosti (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008).

Osim o utjecaju *terroir*-a na grožđe, najveće razlike u stilu vina ovise o vinifikaciji i dozrijevanju vina, odnosno odlučili li se ili ne za provedbu malolaktične fermentacije, *sur lie* te za starenje gotovog vina u drvu ili odležavanje u boci.

Vina su voćna, punog tijela, viših alkohola i umjerene kiselosti. Glavne arome jesu one jabuke, dunje, tropskog voća; a starenjem u drvenoj bačvi ili korištenjem enološkog čipsa, poprima arome karamela, tosta, cimeta, kokosa. Koristi se za proizvodnju suhog vina, predikate i pjenušce (Pucket, 2015).

3.1.2. Traminac

Traminac je također svjetski poznata sorta (14 000 ha), a najvećim je dijelom rasprostranjena u Europi (Pucket, 2015). Najbolje uspijeva na bogatim, dubokim, mineralnim i ocjeditim tlima.

Poznat je po svojoj karakterističnoj cvjetno-voćnoj aromi te malim, aromatičnim i crvenkastim bobicama, od kojih se dobiva bijelo vino. Dozrijeva u drugoj epohi te nije osjetljiv na sivu plijesan zbog debele kože (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008). U kožici se nalaze aromatski spojevi odgovorni za specifičnu aromu te se radi bolje ekstrakcije zato provodi sporo prešanje pod manjim tlakom (Clarke, 2001).

Zbog ranog otvaranja pupova, osjetljiv je na kasne mrazove. U toplijim krajevima nakuplja mnogo šećera te može doći do gubitka kiselina i sortne arome što rezultira neharmoničnim vinom (Clarke, 2001). Daje manji, ali visokokvalitetni urod te se koristi za proizvodnju suhih vina i predikata (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008).

Vina 'Traminca' izrazito su voćna, viših koncentracija alkohola, nižih koncentracija kiselina, s aromama ruže, citrusa i tropskog voća te intenzivne zlatno-žute boje (Pucket, 2015). Najvažnija su kao mlada vina, čuvaju se najviše 3-4 godine jer starenjem dolazi do degradacije okusa. Iznimka su vina iz godina kada je nakupljena veća koncentracija kiselina u kombinaciji s manjim urodom, i takva vina mogu duže odležavati, do 10 godina. U takvim vinima nestaje specifičan naglašeni miris ruže i okus ličija, ali nastaju nove medne, kompleksnije arome (Clarke, 2001).

3.2. Grožđe i vinograd

Grožđe za pokus je ubrano ručno, u fazi tehnološke zrelosti. Vinograd pokušališta Jazbina, Agronomskog fakulteta, smješten je u podnožju Medvednice kao dio vinogorja Zagreb, podregije Prigorje-Bilogora. Nalazi se u području umjerene kontinentalne klime, na nadmorskoj visini 200-300 m, a okrenut je jugu i jugozapadu (Dolanjski i Stričević, 1996). Tlo je blago kiseli (pH=6) antropogeni pseudoglej na podlozi pliocenskih glina i pleistocenskih ilovina, porozno i uglavnom manje plodno (Škorić, 1986).



Slika 3.1. Nasad 'Chardonnay' na pokušalištu "Jazbina". Izvor: www.agr.unizg.hr

3.3. Klimatski uvjeti

Grožđe je ubrano u proizvodnoj 2017. godini, kada je srednja godišnja temperatura iznosila 12,6°C, što omogućuje normalan rast i razvoj vinove loze unatoč tome što bi idealna temperatura za postizanje optimalne kvalitete grožđa u ovom području iznosila 10-12°C (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008).

Insolacija u vegetaciji iznosila je 1722,9 sati što je unutar optimalnog raspona od 1500-2500 h (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008). Količina oborina u vegetaciji bila je 596 mm, a tijekom cijele godine palo je ukupno 897 mm, što je nešto više od optimalnog raspona 600-800 mm za vinovu lozu (Mirošević i Karoglan-Kontić, 2008). Rujan je s 239,6 mm/mj. bio jedini mjesec s oborinama višim od prosjeka (izvor: DHMZ).

3.4. Plan pokusa

Pokus je proveden u eksperimentalnom podrumu na znanstveno-nastavnom pokušalištu Jazbina, gdje se nalazi i opisani vinograd. Nakon berbe obavljena je primarna prerada, a moštovi obje sorte bili su intenzivno pretakani i izloženi kisiku tijekom 24 h, kako bi u njima došlo do oksidacije. Kontrolni mošt od obje sorte dobiven je standardnom vinifikacijom, uz dodatak SO₂ i bez izlaganja kisiku. Nakon procesa taloženja, uzeti su uzorci moštova. Alkoholna fermentacija provedena je u kontroliranim uvjetima, pri temperaturi 18°C te s dodatkom selekcioniranih kvasaca EC1118 (Lallemend). Kontrolni i pokusni uzorci fermentirali su zasebno u demižonima volumena 10 litara. Po završetku alkoholne fermentacije, vino je pretočeno te su uzeta 4 uzorka za fizikalno-kemijsku i analizu polifenolnog sastava.

3.5. Analiza vina

Osnovna fizikalno-kemijska analiza vina obuhvaća evaluaciju specifične težine, alkohola (g/L te vol%), ekstrakta, reducirajućih šećera; ukupnih, hlapivih i nehlapivih kiselina; pH vrijednosti,; slobodnog, vezanog i ukupnog SO₂ te pepela.

3.5.1. Alkohol

Alkoholna jakost vina određena je metodom destilacije prema specifičnoj težini destilata na 20°C, d(20/20). Konačni rezultat volumnih postotaka dobiven je očitavanjem vrijednosti na Riechardovim tablicama.

3.5.2. Kiseline i pH

Ukupne kiseline (slobodne organske i neorganske te njihove soli) određene su metodom direktne titracije, odnosno neutralizacijom lužinom. Kao indikator korišten je bromtimol plavi, a koncentracija je izražena u g/L vinske kiseline. Za uzorak se uzima 10 ml vina, uz dodatak 2-3 kapi bromtimola nakon čega se tretira s 0,1 M NaOH do promjene boju u modro-zelenu.

Hlapive kiseline određene su metodom neutralizacije s 0,1M otopinom NaOH uz indikator 1% otopinu fenolftaleina, a uzorak je prethodno destiliran vodenom parom. Koncentracija je izražena u g/L kao octena kiselina.

pH vrijednost je utvrđena korištenjem pH-metra Beckman expandomatic tip SS 2.

3.5.3. Šećer

Reducirajući šećeri su svi šećeri koji imaju keto ili aldehidnu funkcionalnu skupinu. Određuju se metodom po Rebeleinu, a izražavaju u g/L.

3.5.4. Ekstrakt i pepeo

Ukupni ekstrakt čine sve tvari u vinu koje nisu hlapive. Izračunat je denzimetrijski iz ostatka destilacije, a dobivene vrijednosti proizašle su iz specifične težine ekstrakta pri 20°C, $d(20/20)$, koje su se očitale sa Reichardovim tablicama (g/L).

Ekstrakt bez šećera izračunat je oduzimanjem sadržaja šećera od vrijednosti ukupnog suhog ekstrakta. Na jednaki način izračunat je i ekstrakt bez šećera i nehlapivih kiselina (g/L).

Sadržaj pepela proizlazi iz sagorijevanja suhe tvari, odnosno talog preostao nakon isparavanja vina žari u mufolnoj peći na temperaturi 525°C.

3.5.5. SO₂

Sumporni dioksid izdvaja se metodom po Paulu, iz uzorka vina koje se zakiseli fosfatnom kiselinom. Koristi se struja zraka da se mjehurićima zraka SO₂ provede kroz razrijeđenu i neutralnu otopinu H₂O₂. Nastala sumporna kiselina odredi se titracijom sa standardnom otopinom natrijeva hidroksida uz mješavinu indikatora metilen crveno i metilen plavo. Slobodni sumporni dioksid izdvaja se na niskoj temperaturi (10° C), a ukupni zagrijavanjem na visokoj temperaturi (približno 100° C). Oba se izražavaju u mg/L.

Vezani sumporni dioksid izračuna se računski pomoću prethodno dobivena dva rezultata.

3.5.6. Analiza polifenolnog sastava

Koncentracije pojedinačnih fenola određene su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC). Kromatografska analiza provedena je metodom vanjskog standarda. Fenolni spojevi razrijedili su se na analitičkoj koloni Nucleosil 5U C-18 100A, 5µm (250x4.60 mm I.D.)

4. Rezultati i rasprava

4.1. Rezultati osnovne kemijske analize

4.1.1. Kontrolno vino

Vino 'Chardonnay' dobiveno standardnom vinifikacijom, sadržavalo je sve parametre unutar granica određenih Zakonom o vinu za bijela suha vina (NN br. 96/96, 7/97, 117/97, 57/00, 102/04). Rezultati osnovne kemijske analize prikazani su u tablici 1. Alkoholna jakost iznosila je 13,74 vol%, što je unutar raspona vrijednosti za suha bijela vina od 10-15 vol%; ekstrakt bez šećera bio je 24,7 g/L (prema Zakonu: min. 15-18 g/L); pepeo 1,98 (min. 1,2-1,6 g/L); reducirajući šećer 2,3 g/L čime ulazi u kategoriju suhog vina (do 4 g/L), ukupna kiselost 6 g/L (min 4,5 g/L); hlapive kiseline 0,55 g/L (max. 1 g/L); ukupni SO₂ u vinu iznosio je 144 mg/L (max. 210 mg/L), od čega je slobodni činio 24 mg/L. pH vrijednost vina od 3,48 nešto je viša u odnosu na uobičajan pH bijelih vina koji varira u rasponu 3,0-3,4 (winespectator.com).

Vino dobiveno standardnom vinifikacijom grožđa 'Traminca' ubranog u kasnoj berbi, prema sadržaju reducirajućeg šećera od 13,4 g/L, pripada kategoriji poluslatkih vina (12-50 g/L). Osnovnom kemijskom analizom utvrđeni su sljedeći parametri (Tablica 1): alkoholna jakost bila je nešto viša te je iznosila 14,37 vol% ; ekstrakt bez šećera 22 g/L (min. 15-18 g/L); pepeo 2,1 g/L (min 1,4 g/L); ukupna kiselost 6,1 g/L (min. 4,5 g/L), od čega hlapiva kiselost čini 0,62 g/L (max. 1 g/L); ukupni SO₂ iznosio je 100 mg/L (max 300 g/L), a slobodni 13 g/L.

Tablica 4.1. Rezultati kemijske analize vina 'Chardonnay' i 'Traminac' s provedenom hiperoksidacijom te kontrole (Jazbina, 2017)

Analizarni parametri	Chardonnay K	Chardonnay H	Traminac K	Traminac H
Specifična težina	0,9903	0,9910	0,9948	0,9907
Alkohol (g/L)	108,5	111,4	113,5	118,5
Alkohol (vol%)	13,74	14,11	14,37	15,01
Ekstrakt ukupni (g/L)	20,9	23,7	34,4	25,5
Šećer reducirajući (g/L)	2,3	1,9	13,4	1,8
Ekstrakt bez šećera (g/L)	19,6	22,8	22,0	24,7
Ekstrakt bez šeć. i nehl. kis.(g/L)	14,3	17,4	16,7	20,0
Ukupne kiseline (g/L) ¹	6,0	6,2	6,1	5,3
Hlapive kiseline (g/L) ²	0,55	0,64	0,62	0,44
Nehlapive kiseline (g/L)	5,3	5,4	5,3	4,7
pH	3,48	3,73	3,34	3,81
SO ₂ slobodni (mg/L)	24,0	0	13,0	0
SO vezani (mg/L)	120,0	58,0	87,0	37,0
SO ₂ ukupni (mg/L)	144,0	58,0	100,0	37,0
Pepeo (g/L)	1,98	2,67	2,10	3,17

Objašnjenje kratica: K- kontrola, H- hiperoksidirano; 1 – izraženo kao vinska kiselina; 2 – izraženo kao octena kiselina.

4.1.2. Hiperoksidirana vina

Kao što je vidljivo u Tablici 4.1., vino 'Chardonnay' dobiveno od hiperoksidiranog mošta imalo je viši postotak alkohola u odnosu na kontrolno vino, jednako kao i viši ekstrakt, ukupne i hlapive kiseline te pH vrijednost. No, reducirajući šećeri preostali nakon fermentacije bili su niži, što se može objasniti povoljnim utjecajem kisika na kvasce i potpuniju alkoholnu fermentaciju, zbog čega dolazi i do veće koncentracije alkohola u odnosu na kontrolno vino. Hlapive kiseline kao normalan produkt metabolizma kvasaca i u ovom slučaju su još uvijek bile ispod maksimalne dopuštene granice (1,1 g/L).

Pokusno vino 'Traminac' također je imalo viši pH, alkoholnu jakost te manje reducirajućih šećera, no potpuno različite rezultate za ukupne, hlapive i nehlapive kiseline. One su bile niže u odnosu na kontrolni 'Traminac', što je dovelo i do više pH vrijednosti. U odnosu na kontrolno vino koje je poluslatko, tretirano vino je suho s minimalnim rezidualnim šećerima što je dokaz potpuno završene fermentacije. Kod tretiranog vina uočena je i veća koncentracija ekstrakta bez šećera.

Povećana pH vrijednost dobivena kod oba hiperoksidirana vina, u skladu je s istraživanjima oksidacije vina 'Chardonnay' u slučaju Nagel i Graber (1988), ali i 'Garnacha bijela' (Cejudo-

Bastante i sur., 2011b; Cheynier i sur., 1989). Drugačiji rezultati, gdje se vrijednost pH nije značajnije promijenila, dobiveni su u vinu 'Chardonnay' od strane Cheynier i sur. (1989), vinu 'Garnacha bijela' (Ricardo-da-Silva i sur., 1993), 'Pedro Ximenez' (Perez-Juan i sur., 1995) te 'Traminac' (Nagel i Graber, 1988). Oksidacijom se pH smanjio jedino kod vina sorte 'Riesling' (Robbins i sur., 2017).

Povišenu koncentraciju alkohola kod sorte 'Chardonnay' zabilježili su i Cejudo-Bastante i sur. (2011b), Nagel i Graber (1988) te Sereni (2016), a Vaimakis i Roussis (1993) kod sorte 'Debina', dok su smanjenje primjetili Perez-Juan i sur. (1995) kod 'Pedro Ximenez' te Nagel i Graber (1988) za oksidirano vino sorte 'Traminac'. U vinu 'Garnacha bijela' (Ricardo-da-Silva i sur., 1993) i 'Debina' (Vaimakis i Roussis, 1996) oscilacije vrijednosti su bile neznatne.

Kad su u pitanju kiseline, istraživanja su uglavnom rezultirala sa smanjenom koncentracijom hlapive ili ukupne kiselosti (Cejudo-Bastante i sur., 2011b; Cheynier i sur., 1989; Ricardo-da-Silva i sur., 1993; Vaimakis i Roussis, 1993) odnosno obje (Perez-Juan i sur., 1995; Robbins i sur. 2017). Hlapive kiseline nisu mijenjale koncentraciju nakon oksidacije kod sorte 'Chardonnay' (Cejudo-Bastante i sur., 2011b) te 'Garnacha bijela' (Ricardo-da-Silva i sur., 1993).

Rezultati analize reducirajućih šećera u skladu su s podacima Perez-Juan i sur. (1995) te Ricardo-da-Silva i sur. (1993), dok su kod oksidacije vina 'Chardonnay' oni veći (Cejudo-Bastante i sur., 2011b).

4.2. Rezultati analize fenolnih spojeva

4.2.1. Mošt

Chardonnay

Analiza pojedinačnih fenola u moštovima prikazana je u Tablici 4.2. Najzastupljeniji fenolni spoj mošta bila je kaftarna kiselina (27,22 mg/L), dok su ostale hidroksicimetne kiseline imale niže koncentracije, u tragovima ili nisu detektirane. Nakon hiperoksidacije, došlo je do očekivanog povećanja koncentracije GRP (5,45 mg/L) i manjeg smanjenja kaftarne kiseline koja može reagirati s glutationom i cisteinom.

Od hidroksibenzojevih kiselina, galna kiselina (4,39 mg/L) bila je prisutna u većoj mjeri od siringične (1,41 mg/L), te su se obje povećale hiperoksidacijom (6,29 mg/L te 2,53 mg/L).

Galna kiselina, jednako kao i kutarna, bile su više no što literatura spominje za bijele moštove 1-2 mg/L za galnu (Su i Singleton, 1969); 20 mg/L za kutarnu kiselinu (Singleton i sur., 1986), dok je fertarne bila mnogo manje, prosječno 1,15 mg/L u odnosu na 5 mg/L prema Singleton i sur. (1986).

Drugi najzastupljeniji spoj mošta, procijanidin B1 (11,55 mg/L), ostao je gotovo nepromijenjen, jednako kao i B4, dok se B2 i B3 povećao.

Sadržaj epikatehina i katehina, kao i estera epigalokatehina, povećao se, a galokatehin se smanjio.

Pri analizi oksidiranog mošta sorte 'Chardonnay' te 'Airen' (Cejudo-Bastante i sur., 2011ab), primijećeni su drugačiji te vrlo uniformni rezultati. Naime, došlo je do smanjenja svih proučavanih neflavonoida i estera hidroksicimetnih kiselina, jednako kao i GRP, katehina i epikatehina te svih oblika kvercetina. Epikatehin galat nije pronađen.

Traminac

Kao što je prikazano u Tablici 4.2., u moštu 'Traminac', kaftarna kiselina je fenolni spoj s najvećom koncentracijom. Ona se nakon hiperoksidacije u moštu smanjila za 60%, a kutarna kiselina za 72%, što je i očekivano zbog njenog iskorištavanja od strane enzima ili nastajanja GRP.

Drugi po količini bio je procijanidin B1 (8,8 mg/L) koji se povećao oksidacijom te GRP (8,21 mg/L) koji se reducirao, za razliku od mošta 'Chardonnay'.

Svi ostali flavan-3-oli pronađeni su u manjoj količini nego u kontrolnom moštu, osim estera galokatehina (za 1,6 mg/L više) te epikatehin-3-galata. Od hidroksibenzojevih kiselina, galna, treći spoj po zastupljenosti (5,5 mg/L), reducirana je za 80%, a siringična za 28%.

Glukozida kvercetina bilo je 56% više nego kod mošta 'Chardonnay', a on se oksidacijom još povećao za gotovo 3 puta (12,27 mg/L) (Tablica 4.2).

Tablica 4.2. Rezultati analize polifenolnog sastava kontrolnog i hiperoksidiranog mošta sorata 'Traminac' i 'Chardonnay' (Jazbina, 2017)

Spoj	Chardonnay K	Chardonnay H	Traminac K	Traminac H
Hiperozid	0,48	0,39	1,24	2,32
Kvercetin-3-O-glukozid	1,83	1,36	4,22	12,27
Kvercetin	0	0	0	0
Resveratrol-3-O-glukozid	0,26	0,35	0,27	0
Resveratrol-3-O-glukozid	0	0	0	0
GRP	4,8	5,45	8,21	5,19
2-S-cisteinil-trans-kaftarna	0,78	0,87	3,98	1,39
2-S-glutationil-cis-kaftarna	2,66	2,67	2,74	2,74
Kaftarna kiselina	27,22	26,25	11,54	4,59

Nastavak tablice 4.2.

Kutarna kiselina	3,68	4,12	2,61	0,72
Fertarična kiselina	1,14	1,17	1,73	1,93
Kavna kiselina	0,65	0,68	0,6	0,45
Kumarna kiselina	tr	tr	tr	tr
Ferulična kiselina	0	0	0,11	0,13
Sinapična kiselina	0	0	0,12	0,17
Galna kiselina	4,39	6,29	5,5	1,07
Siringična kiselina	1,41	2,53	1,22	0,87
Prokatehinska kiselina	1,21	1,2	1,71	3,64
Katehin	3,84	5,45	4,39	2,82
Epikatehin	2,64	3,62	2,27	1,26
Galokatehin	1,98	1,65	3,52	5,12
Epigalokatehin	4,52	6,41	7,5	7,34
Epikatehin-3-O-galat	0,54	0,54	2,09	2,87
Procijanidin B1	11,55	11,34	8,8	9,4
Procijanidin B2	1,13	1,65	1,02	0,81
Procijanidin B3	0,59	0,94	0,28	0,2
Procijanidin B4	1,37	1,39	3,75	3,66

Objašnjenje kratica: K- kontrola, H- hiperoksidirano. Sve koncentracije izražene su u mg/L.

4.2.2. Vino

Tablica 4.3. Rezultati analize polifenolnog sastava kontrolnog i hiperoksidiranog vina 'Traminac' i 'Chardonnay' (Jazbina, 2017)

	Chardonnay K	Chardonnay H	Traminac K	Traminac H
Hiperozid	0	0	0,41	1,59
Kvercetin-3-O-glukozid	0	0	1,43	4,97
Kvercetin	0,21	0,17	0,95	0,98
Resveratrol-3-O-glukozid	0,17	0,22	0,13	0
Resveratrol-3-O-glukozid	0	0	0,21	0
GRP	1,88	2,66	3,09	3,44
2-S-cisteinil-trans-kaftarna	0,24	0,45	1,23	0,77

2-S-glutationil-cis-kaftarna	2,64	1,6	2,65	2,66
Nastavak tablice 4.3.				
Kaftarna kiselina	23,23	22,74	10,76	4,17
Kutarna kiselina	3,02	3,93	2,04	0,67
Fertarična kiselina	1,08	1,1	0,39	1,86
Kavna kiselina	1,12	0,87	1,45	0,86
Kumarna kiselina	0,85	0,36	0,37	0,02
Ferulična kiselina	0,33	0,25	1,74	1,88
Sinapična kiselina	0	0	0,19	0,21
Galna kiselina	4,28	6,42	5,34	9,73
Siringična kiselina	0,44	0,7	0,79	0,91
Prokatehinska kiselina	2,77	3,2	1,98	5,14
Katehin	28,33	48,44	13,81	16,47
Epikatehin	2,65	3,9	2,24	1,42
Galokatehin	3,12	2,24	3,47	5,17
Epigalokatehin	2,99	5,27	4,94	6,88
Epikatehin-3-O-galat	0,16	0,17	0,36	0,32
Procijanidin B1	1,29	4,29	2,05	1,84
Procijanidin B2	1,01	1,98	0,98	1,09
Procijanidin B3	0,35	0,4	1,14	0,8
Procijanidin B4	1,97	2,5	4,16	4,71

Objašnjenje kratica: K- kontrola, H- hiperoksidirano. Sve koncentracije izražene su u mg/L.

Chardonnay

Gledajući najvažnije hidroksicimetne kiseline, odnosno njihove tartaratne estere: kaftarnu, kutarnu i fertaričnu kiselinu, svima se koncentracija smanjila nakon alkoholne fermentacije, neovisno o oksidaciji (Tablica 4.3.). Kaftarna kiselina reducirana je u gotovo jednakom postotku kod oba vina, te nije bilo velike razlike u koncentraciji (K: 23,23 mg/L; H: 22,74 mg/L). No, sva proučavana istraživanja pokazala su značajan pad kutarne i kaftarne kiseline u oksidiranom vinu 'Chardonnay' (Cejudo-Bastante i sur., 2011b; Cheynier, 1989; Cheynier, 1991), 'Airen' (Cejudo-Bastante i sur., 2011a) te 'Garnacha bijela' (Ricardo-da-Silva i sur., 1993; Cheynier, 1989). Sukladno smanjenju estera hidroksicimetnih kiselina, povećala se koncentracija njihovih slobodnih kiselina, za što je odgovorna hidroliza tijekom

fermentacije. U hiperoksidiranom vinu bilo ih je manje nego u kontrolnome, što je sukladno rezultatima Cejudo-Bastante i sur. (2011ab).

Količina GRP te 2-S-cisteinil-*trans*-kaftarne kiseline bila je manja nego u moštu, što se događa uslijed uklanjanja taloga ili otapanja u etanolu.

Jedina veća promjena uzrokovana utjecajem alkoholne fermentacije zabilježena je kod siringične kiseline, koja se u hiperoksidiranom vinu smanjila za 72%. Jednako kao i kod galne, viša koncentracija bila je u hiperoksidiranom vinu, što je suprotno rezultatima Cejudo-Bastante i sur. (2011ab).

Resveratrola je nešto više u hiperoksidiranom vinu (za 0,5 mg/L), a obje koncentracije standardne su za bijelo vino prema Stecher i sur. (2001).

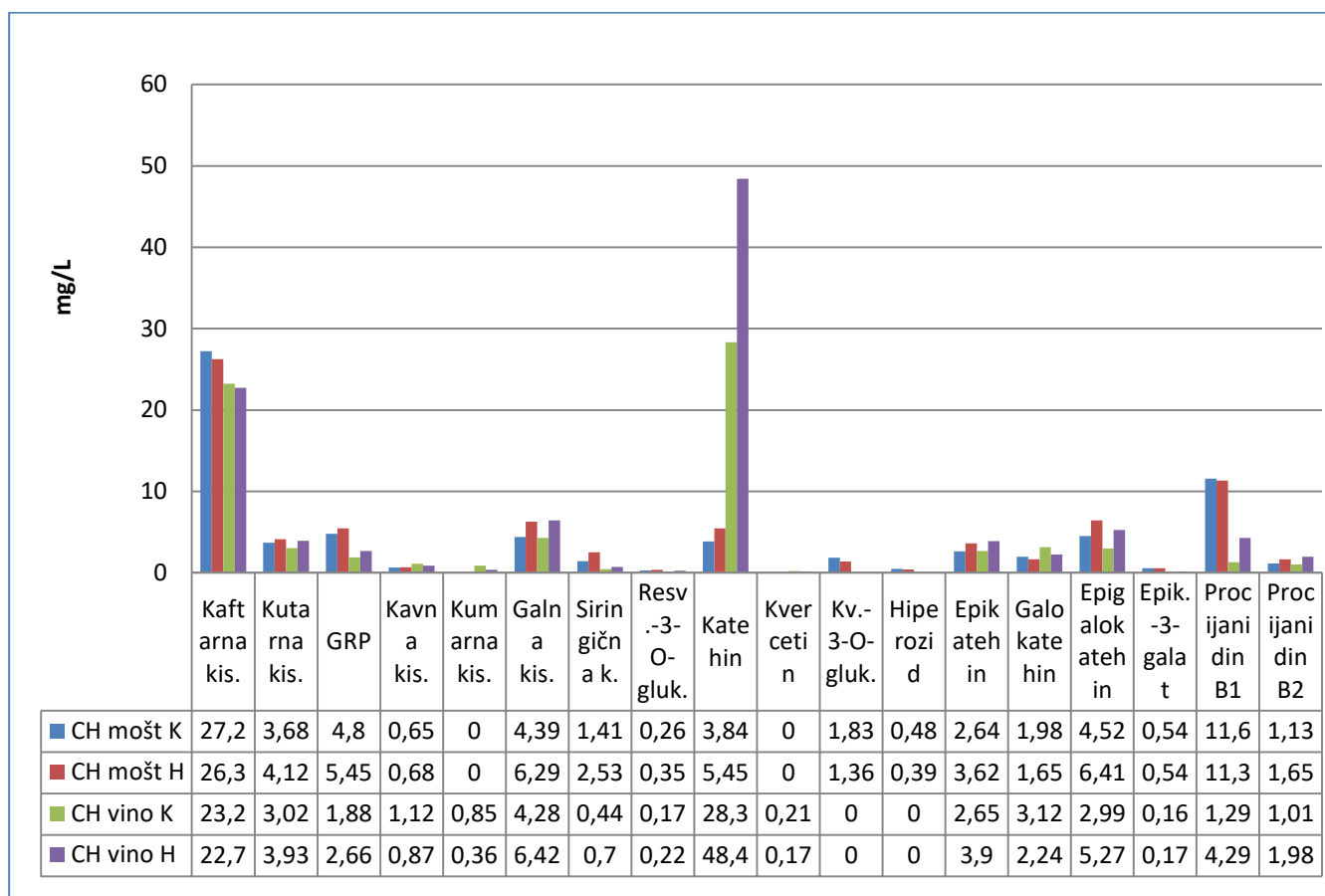
Promjene kod flavonola se događaju uslijed hidrolize glukozidnog i galaktozidnog oblika kvercetina (hiperozid) iz mošta te oslobađanja aglikona. Isti slučaj povećanja aglikona nakon fermentacije zabilježili su Cejudo-Bastante i sur. (2011ab), no razlika između kvercetina u kontrolnom i oksidiranom vinu bila je značajno veća, dok je u ovom slučaju gotovo nezamjetna. Koncentracija kvercetina je niža od 10 mg/L koje navode Zoecklin i sur., (2013) za bijela vina (K:0,21 mg/L; H:0,17 mg/L).

U grupi flavan-3-ola, dolazi do povećanja koncentracije katehina također zbog hidrolize estera katehina/epikatehina tijekom fermentacije. Kod hiperoksidiranog vina taj rast bio je 8 puta veći, te je ono u konačnici imalo 70% više katehina (K:28,33 mg/L; H:48,44 mg/L). Navedena koncentracija veća je od osjetilnog praga gorčine 2,4 puta. Iznimka je ester galokatehin, kojem se koncentracija nije smanjila tijekom fermentacije, već se povećala u oba vina. Hiperoksidirano vino sadržavalo je više epigalokatehina (76% više) i epikatehina (47%), kao i njegovog estera s galnom kiselinom te manje galokatehina.

Cejudo-Bastante i sur. (2011ab) u oba pokusa s oksidacijom dobili su suprotne rezultate – katehin se značajno smanjio nakon kontakta mošta s kisikom, a razlika se dodatno naglasila nakon završene fermentacije. Isto tako, oksidirana vina 'Chardonnay' i 'Airen' sadržavala su značajno manje koncentracije katehina od kontrolnog vina (jednako kao Vaimakis i Roussis (1996 i 1993) te Cheynier i sur., 1991). Epikatehin se u oba vina značajno povećao nakon alkoholne fermentacije, dok epikatehin-galat nije pronađen u moštu i vinu.

Svih procijanidina bilo je više u oksidiranom nego u kontrolnom vinu, posebice B1 (4,29 mg/L; za tri puta više) i B2 (96% povećanje). Prvi se tijekom fermentacije smanjio, a drugi povećao. Ricardo-da-Silva i sur. (1993) nakon oksidacije zamijetili su pad svih procijanidina do tragova u vinu, Cheynier i sur. (1989) za 1 mg/L, a Vaimakis i Roussis (1996) zabilježili su značajan pad procijanidina sa 60 na 9 mg/L.

Rezultati analize vina 'Chardonnay' grafički su prikazani u Grafikonu 4.1.



Grafikon 4.1. Usporedba kontrolnih i tretiranih moštova i vina sorte 'Chardonnay'

Traminac

Rezultati analize polifenolnog sastava vina 'Traminac' nalaze se u Tablici 4.3. Slobodni oblici hidroksicimetnih kiselina povećali su se nakon alkoholne fermentacije, dok su se njihovi tartaratni esteri smanjili, što se poklapa s rezultatima i kod vina 'Chardonnay'. Hiperoksidirano vino sadržavalo je manje kaftarne i kutarne kiseline od kontrole (kaftarne za 61%, kutarne za 67%), isto kao i slobodnih oblika. Takav zaključak u skladu je sa smanjenjem svih neflavonoidnih spojeva kod Cejudo-Bastante i sur. (2011ab), Cheynier i sur. (1989 i 1991) te Ricardo-da-Silva i sur. (1993).

GRP se nakon fermentacije više reducirao kod kontrolnog vina, nego kod hiperoksidiranog. Jednako kao i 2-S-cisteinil-*trans*-kaftarna kiselina, no u tretiranom vinu tog spoja je bilo manje nego u kontroli, a GRP-a više. Povećanje GRP u oksidiranom vinu sorte 'Traminac' pronašli su i Nagel i Graber (1988), dok su analize ostalih istraživanja pokazale redukciju (Cejudo-Bastante i sur., 2011ab; Cheynier i sur., 1989; Ricardo-da-Silva i sur., 1993).

Koncentracije *cis*-izomera glutationa i kaftarne kiseline bile su jednake u oba mošta, a nakon fermentacije i u oba vina.

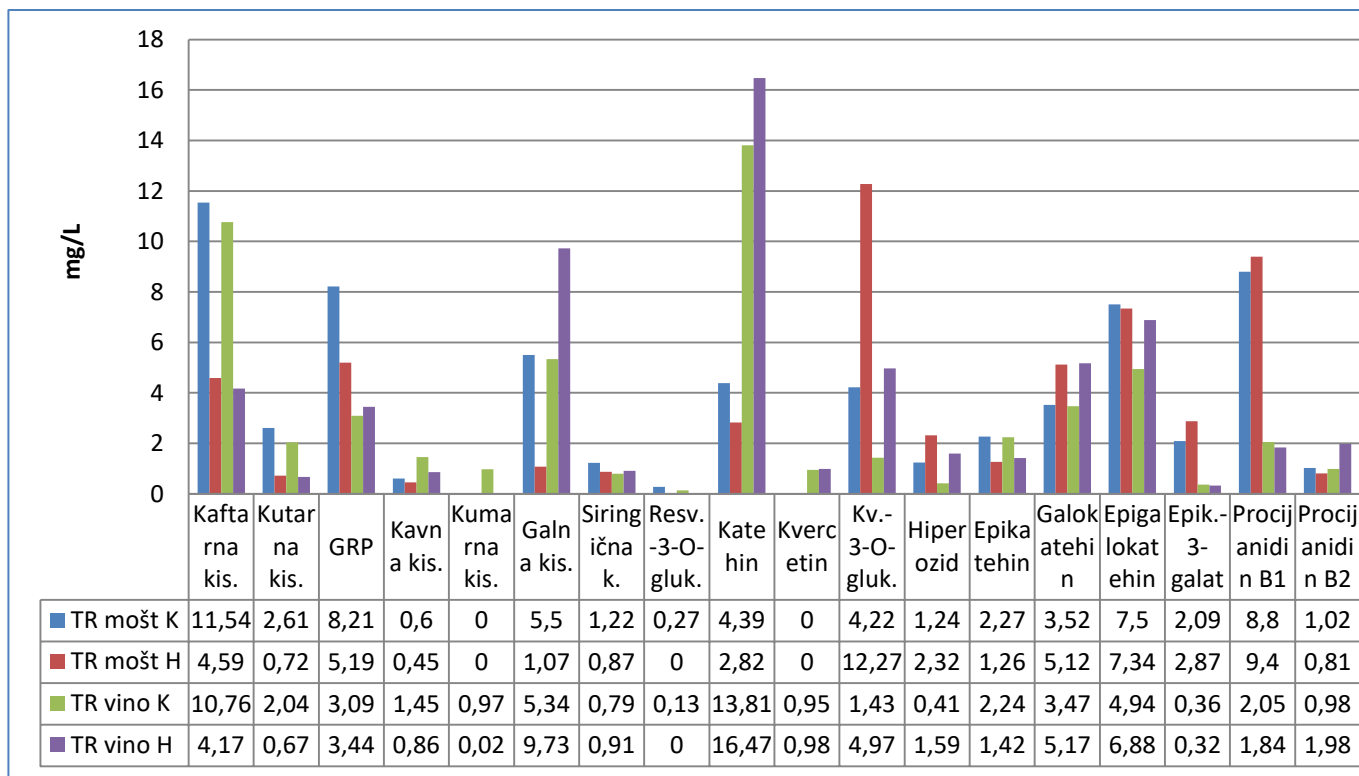
Za razliku od hiperoksidiranog vina 'Chardonnay', koncentracija galne kiseline u tretiranom 'Tramincu' se povećala 9 puta, dok u kontrolnom vinu gotovo nije bilo promjene. Hiperoksidirano vino sadržavalo je 1,8 puta više galne kiseline od kontrole, a ona je ujedno bila i najzastupljeniji neflavonoid te drugi fenolni spoj po koncentraciji.

Resveratrol nije detektiran u hiperoksidiranom vinu 'Traminac'.

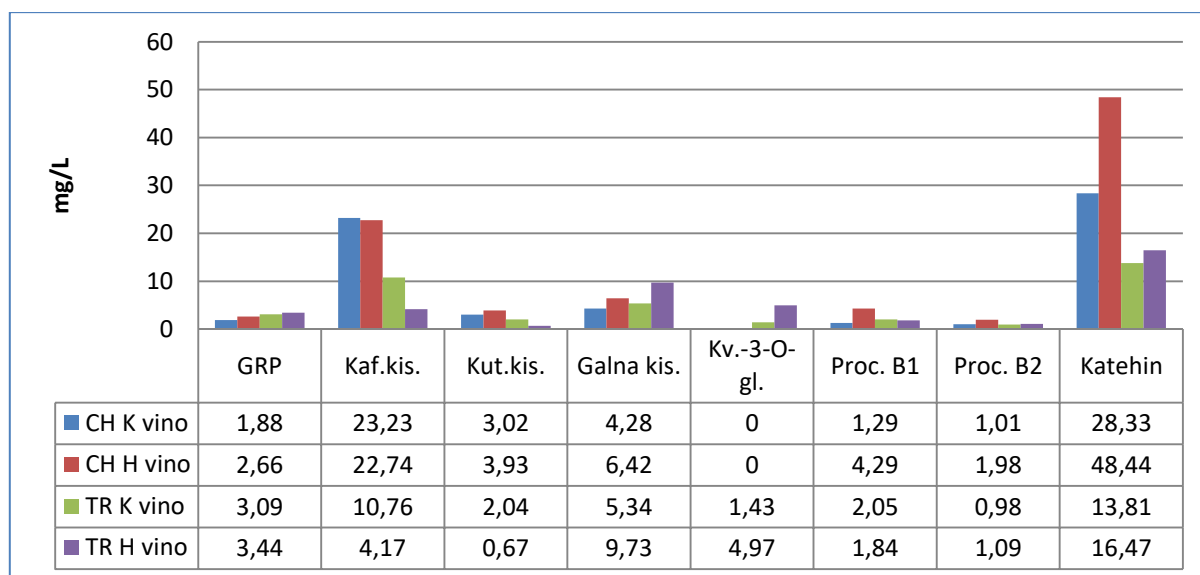
Koncentracija glukozida i galakturozida kvercetina smanjila se u oba vina, no za razliku od vina 'Chardonnay', nisu potpuno nestali nakon fermentacije te ih je bilo više u oksidiranom vinu nego u kontroli. Slobodni kvercetin bio je gotovo jednako zastupljen (K: 0,95 mg/L; H: 0,98 mg/L), dok je njegova koncentracija kod Cejudo-Bastante i sur. (2011ab) značajno niža u hiperoksidiranom vinu.

Koncentracija katehina, kao i kod prethodno analiziranog vina 'Chardonnay', viša je kod oba vina; kod kontrole 3,1 put te 5,8 puta kod hiperoksidiranog. I kod oksidiranog vina 'Traminac', pronađeno je više slobodnog katehina nego u kontroli, što je neobično ako se usporedi s ostalim istraživanjima (navedeno kod analize flavan-3-ola hiperoksidiranog 'Chardonnay'-a). Njegov izomer epikatehin povećao se uslijed tretmana kisikom, no i dalje ga je bilo više u kontrolnom vinu (K: 2,24 mg/L; H: 1,42 mg/L). Smanjenje epikatehina oksidacijom vina 'Chardonnay' primjetili su i Cheynier i sur. (1989) te Cejudo-Bastante i sur. (2011b). Epigalokatehin i epikatehin-3-*O*-galat su reducirani fermentacijom, ali je prvoga bilo više u finalnom tretiranom vinu. Jednako kao i kod galokatehina, čija koncentracija nije promijenjena fermentacijom.

Koncentracija procijanidina B1 smanjila se u oba vina, u kontroli 4,3 puta, a u hiperoksidiranom 5,1 puta, gdje ga je konačno i bilo manje. B2 se u kontrolnom vinu nije mijenjao, dok je u tretiranom porastao za 1,3 puta. B3 i B4 su se povećali u oba slučaja, no B3 je bilo manje u oksidiranom vinu, a B4 više. Literatura navodi značajno smanjenje procijanidina oksidacijom, što se može vidjeti na primjerima navedenim u prethodnom poglavlju analize procijanidina kod vina 'Chardonnay'.



Grafikon 4.2. Usporedba kontrolnih i tretiranih moštova i vina sorte 'Traminac'



Grafikon 4.3. Usporedba najvažnijih parametara kontrolnih i hiperoksidiranih vina 'Chardonnay' i 'Traminac'.

5. Zaključak

Na temelju rezultata dobivenih istraživanjem utjecaja hiperoksidacije na osnovne fizikalno-kemijske parametre vina te fenolni sastav mošta i vina sorata 'Chardonnay' i 'Traminac', koje je provedeno 2017. godine na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu "Jazbina", može se zaključiti kako je hiperoksidacija rezultirala povećanom pH vrijednosti, alkoholnom jakosti te nižim reducirajućim šećerima kod obje sorte. Hiperoksidacija u vinu 'Chardonnay' nije uzrokovala značajnije smanjenje kaftarne, dok je kod 'Traminca' već u moštu smanjena za 2,5 puta. Tretman je utjecao na smanjenje koncentracija slobodnih hidroksicimetnih kiselina- kumarne i kavne, ali i povećanje hidroksibenzojevih kiselina kod obje sorte. Hiperoksidacija mošta 'Traminac' dovela je do trostrukog povećanja glukozida kvercetina, što se odrazilo i na višu koncentraciju u vinu te više i estera katehina i galne kiseline u odnosu na kontrolno vino. Kod oba hiperoksidirana vina utvrđen je povišen sadržaj katehina, iako veći kod vina 'Chardonnay' gdje je i prelazio osjetilnu granicu gorčine, a u oba vina je predstavljao najzastupljeniji fenolni spoj. Koncentracija procijanidina B1 i B2 je bila veća kod hiperoksidiranog vina 'Chardonnay', dok je kod Traminca koncentracija procijanidina B1 smanjena.

Analizom rezultata može se zaključiti kako hiperoksidacija kod vina 'Chardonnay', nije uzrokovala smanjenje svih fenolnih spojeva, posebice onih odgovornih za gorčinu (katehina, procijanidina B1) te za posmeđivanje vina (kaftarna kiselina). Kod 'Traminca' također nije došlo do smanjenja katehina, povećana je i koncentracija glukozida kvercetina koji doprinosi trpkosti vina, ali došlo je do smanjenja koncentracije kaftarne kiseline te procijanidina B1. Kao i kod ostalih istraživanja, može se zaključiti kako hiperoksidacija ne rezultira uvijek na jednaki način, pogotovo kad su u pitanju različite sorte, te se daljnjim istraživanjima, isključivo u kontroliranim uvjetima, mogu donijeti konkretniji zaključci.

6. Popis literature

1. Castellari M., Spinabelli U., Riponi C. et al. (1998). Influence of some technological practices on the quantity of resveratrol in wine. *Lebensm Unters Forsch.* 206: 151.
2. Cejudo-Bastante M.J., Castro-Vazquez L., Hermosín-Gutierrez I., Perez-Coello M.S. (2011a). Combined Effects of Prefermentative Skin Maceration and Oxygen Addition of Must on Color-Related Phenolics, Volatile Composition, and Sensory Characteristics of Airen White Wine. *J. Agric. Food Chem.* 59: 12171–12182.
3. Cejudo-Bastante M.J., Hermosín-Gutiérrez I., Castro-Vázquez L.I., Pérez-Coello M.S. (2011b). Hyperoxygenation and bottle storage of Chardonnay white wines: effects on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics. *J Agric Food Chem.* Apr 27; 59(8):4171-82.
4. Charest, R. (2015). *Oxygen Matters*. Nomaticorc.
5. Cheynier V., Souquet J.-M., Samson A., Moutounet M. (1991). Hyperoxidation: influence of various oxygen supply levels on oxidation kinetics of phenolic compounds and wine quality. *Vitis* vol 30, No 2.
6. Cheynier, V., J. Rigaud, J. M. Souquet, F. Duprat, and M.Moutounet. (1990). Must browning in relation to the behavior of phenolic compounds during oxidation. *Am. J. Enol. Vitic.* 41:346-349.
7. Cheynier, V., Rigaud J., Souquet J.M., Barillre J. M, Moutounet M.. (1989). Effect of pomace contact and hyperoxidation on the phenolic composition and quality of Grenache and Chardonnay wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 40:36-42 .
8. Clarke, Oz (2003). *Oz Clarke's New Encyclopedia of Wine*. Harcourt Brace, San Diego.
9. Creasy G.L., Creasy L.L. (2009). *Grapes*. CABI.
10. Dolanjski D., Stričević I. (1996). Uređenje vodnog režima tla nastavno pokusnog objekta „Jazbina“.
11. Državni hidrometeorološki zavod , Klimatološko meteorološki sektor, Zagreb-Grič 3.
12. Ferreira S., Hogg T., Guedes De Pinho P.(2003). Identification of key odorants related to the typical aroma of oxidation-spoiled white wines. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1377-1381.
13. Hatfield J., Morris J., Threlfall R. (2003). Minimizing color degradation in blush wines. *Journal of Food Quality* 26 367-380.

14. Macheix J.J., Sapis J.C., Fleuriet A., Lee C. Y. (1991). Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30:4, 441-486.
15. Mayen M., Baron R., Merida J., Medina M. (1997). Changes in phenolic compounds during accelerated browning in white wines from cv. Pedro Ximenez and cv. Baladi grapes. *Food Chemistry*, Vol. 58, No. 1-2: 89-95,
16. Mirošević, N., Karoglan Kontić, J. (2008). *Vinogradarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
17. Nagel C.W., Graber W.R. (1998). Effect of Must Oxidation on Quality of White Wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 39, No. 1.
18. Narodne novine (NN 96/96, 7/97, 117/97, 57/00, 102/04). <<https://narodne-novine.nn.hr/search.aspx>> Pristupljeno: 9. veljače 2019.
19. Narodne novine (NN 106/2004). Pravilnik o fizikalno-kemijskim metodama analize mošta vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina. <https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2004_07_106_2060.html>. Pristupljeno 26. veljače 2019.
20. Oliveira C.M., Ferreira S., De Freitas V., Silva A.M.S. (2011). Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International*, 44: 1115–1126.
21. Pérez-Juan, P.M., Moreno, J.J., Morales, J., De La Torre, Ma.J. and Medina, M. (1995). Vinification with preliminary hyperoxygenation of must and its influence on aromatic fraction of wines. *Acta Hortic.* 388: 215-220.
22. Pocock K.F., Waters E.J. (1998). The effect of mechanical harvesting and transport of grapes, and juice oxidation, on the protein stability of wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 4: 136-139.
23. Pucket, M., Hammack J. (2015). *Wine Folly: The Essential Guide to Wine*. Avery, New York.
24. Ricardo-da-Silva J. M., Cheynier V. , Samsom A., Bourzeix M. (1993). Effect of Pomace Contact, Carbonic Maceration, and Hyperoxidation on the Procyanidin Composition of Grenache blanc Wines. *Am J Enol Vitic.* 44: 168-172.
25. Rigaud J., Cheynier V., Souquet J.M., Moutounet M. (1991). Influence of Must Composition on Phenolic Oxidation Kinetics. *J Sci Food Agric*, 57: 55-63.
26. Robbins L., Steiner T., Scheerens J. (2017). The Effects of Hyperoxidation and Storage Temperatures on the Flavor Profile and Sensory Quality of Riesling Wine. *American Society for Enology and Viticulture*.

27. Robinson, J. (2003). Jancis Robinson's Wine Course: A Guide to the World of Wine. Abbeville.
28. Schneider V. (1986). Must Hyperoxidation. Am. J. Enol. Vitic., Vol. 49, No. 1: 65-73.
29. Sereni A. (2016). Exploration into the Influence of Malolactic Fermentation Parameters and Pre-fermentation Juice Treatment on Chardonnay Mouthfeel. Diplomski rad, Oregon State University.
30. Singleton V.L., Zaya J., Trousdale E.K. (1986). Caftaric and coumaric acids in fruit of Vitis. Phytochemistry Volume 25, Issue 9: 2127-2133.
31. Singleton, V. L. (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: observations and practical implications. Am. J. Enol. Vitic. 38:69-77.
32. Škorić, A. (1986). Postanak, razvoj i sistematika tala. Fakultet poljoprivrednih znanosti Sveučilišta u Zagrebu.
33. Vaimakis V., Roussis I.G. (1993). Must Oxygenation and Polyphenoloxidase Inhibition and the Oxidation of White Wine. LWT - Food Science and Technology. Volume 26, Issue 2: 133-137.
34. Vaimakis V., Roussis I.G. (1996). Must oxygenation together with glutathione addition in the oxidation of white wine. Row Food Chemistry, Vol. 57, No. 3:419-422.
35. Vérette E., Noble A.C., Somers T.C. (1988). Hydroxycinnamates of Vitis vinifera: Sensory assessment in relation to bitterness in white wines. Journal of the Science of Food and Agriculture.
36. Wine Spectator .<<https://www.winespectator.com/drvinny/show/id/5035>>. Pristupljeno 9. veljače 2019.
37. Zoecklin B., K.C. Fugelsang, B.H. Gump, F.S. Nury. (2013). Wine Analysis and Production. Springer science and business media.

7. Prilog

7.1. Popis tablica, slika i grafikona

1. Slika 2.1. Kavna kiselina te njen ester s vinskom kiselinom (kaftarna kiselina)	4
2. Slika 2.2. Galna kiselina	5
3. Slika 2.3. Prikaz molekule katehina	6
4. Slika 2.4. Prikaz kemijskog puta enzimatskog posmeđivanja	8
5. Slika 3.1. Nasad 'Chardonnay' na pokušalištu "Jazbina"	15
6. Tablica 4.1. Rezultati kemijske analize vina 'Chardonnay' i 'Traminac' s provedenom hiperoksidacijom te kontrole	20
7. Tablica 4.2. Rezultati analize polifenolnog sastava kontrolnog i hiperoksidiranog mošta sorata 'Traminac' i 'Chardonnay'	22
8. Tablica 4.3. Rezultati analize polifenolnog sastava kontrolnog i hiperoksidiranog vina 'Traminac' i 'Chardonnay'	23
9. Grafikon 4.1. Usporedba kontrolnih i tretiranih moštova i vina sorte 'Chardonnay'	26
10. Grafikon 4.2. Usporedba kontrolnih i tretiranih moštova i vina sorte 'Traminac'	28
11. Grafikon 4.3. Usporedba najvažnijih parametara kontrolnih i hiperoksidiranih vina 'Chardonnay' i 'Traminac'	28

Životopis

Maja Sošić rođena je u Puli 11.05.1994. godine. Osnovnu školu završava u Rovinju, jednako kao i prirodoslovno-matematičku gimnaziju Zvane Črnje. Godine 2013. upisuje se na Agronomski fakultet u Zagrebu, smjer *Hortikultura*, a završava ga obranom završnog rada pod naslovom *Vinogradarstvo i vinarstvo Istre*, odličnim uspjehom i priznanjem *summa cum laude*.

Od 2016. godine studentica je diplomskog studija *Vinogradarstvo i vinarstvo*.

Dobitnica je stipendije Sveučilišta u Zagrebu za najuspješnije studente te stipendije *Miljenko Grgich* za obavljanje prakse u Kalifornijskim vinarijama.

Članica je Planinarskog društva *Glas Istre*, Društva ljubitelja cvijeća i zelenila, te akademske sportske udruge *SUBOS*.