

# **Praktikum Biotehnologija 3**

**TEHNOLOGIJA VINA**

**ak. god. 2008/2009**

## MEHANIČKI SASTAV GROZDA

Pod mehaničkim sastavom podrazumijevaju se količine pojedinih sastavnih dijelova grozda kao što su: peteljka, pokožica, sjemenka i groždani sok, koji se najčešće izražavaju u postocima u odnosu na ukupnu masu grozda. Mehanički sastav grozda karakterističan je za svaku sortu vinove loze i predstavlja njeno ampelografsko i tehnološko obilježje. Pod utjecajem ekoloških faktora može doći do odstupanja od prosjeka karakterističnih za određenu sortu.

Mehanički sastav grožđa važan je za određivanje:

- primjene i uvjeta rada pojedinih strojeva;
- odnosa kapaciteta pojedinih strojeva u sistemu prerade;
- iskorištenja grožđa u pojedinom sistemu prerade grožđa;
- uvjeta iskorištenja na pojedinim strojevima.

Postotni odnos pojedinih dijelova grožđa varira ovisno o sorti, godini, zdravstvenom stanju, ekološkim uvjetima i vremenu berbe.

Mehaničkom analizom dobiva se niz pokazatelja koji, svaki za sebe, čine osnovna obilježja grožđa odnosno sorte, a svi zajedno daju sliku značajnu za ocjenu tehnološke vrijednosti takve sorte.

### MEHANIČKA ANALIZA:

#### a) OPIS GROZDA:

1. Oblik grozda (cilindričan, kupast, klinast, razgranat)

2. Veličina grozda (dužina i širina grozda u cm)

Dužina grozda se mjeri od osnove odakle počinju bobice pa do vrha, a širina u srednjem dijelu grozda. Veličina grozda se izražava u terminima: krupan, umjereno velik i sitan.

3. Struktura grozda (zbijen, umjereno rastresit, rastresit)

4. Oblik bobica (okrugao, ovalan, jajast, izdužen)

5. Boja pokožice bobica (voštano žuta, svjetlo žuta, zelenkastožuta, zelena, ružičasta, tamno plava).

Svaku sortu karakterizira određeni mehanički sastav grožđa (dobivaju se podaci o tehnološkoj vrijednosti sorte).

#### A) SASTAV GROZDA

1. Srednja težina 5 grozdova
2. Broj bobica u grozdu
3. Težina bobica i peteljki
4. % bobica i peteljki

#### B) SASTAV BOBICA

1. Težina 100 bobica
2. Težina 100 sjemenki
3. Broj sjemenki u 100 bobica
4. Težina pokožice u 100 bobica
5. Težina sjemenki u 100 bobica
6. Težina mesa u 100 bobica
7. Težina mesa / težina pokožice

#### C) STRUKTURA GROZDA

(odnos dijelova grozda)

1. % peteljki u grozdu
2. % pokožice
3. % sjemenki
4. % mesa
5. % čvrstog ostatka ( peteljki, pokožice i sjemenki)
6. Pokazatelji:
  - Pokazatelj težinskog sastava:  $\frac{\text{težina bobice}}{\text{težina peteljke}}$
  - Pokazatelj bobica: broj bobica/100 g grozda
  - Pokazatelj strukture: odnos težine nekog dijela prema težini grozda

## ODREĐIVANJE KISELOSTI MOŠTA I VINA

Kiseline su, poslije šećera, najvažniji sastojak mošta i vina. U moštu se nalazi nekoliko organskih kiselina, među kojima su najviše zastupljene vinska i jabučna. Pored njih, mošt sadrži izvjesnu količinu limunske, kao i neznatnu količinu oksalne i druge kiseline. Mošt od pljesnivog grožđa sadrži veću količinu limunske kiseline i izvjesnu količinu glukonske kiseline, a djelovanjem octenih bakterija nastaje veća količina hlapljivih kiselina (octena). Inače u moštu dobivenom iz normalnog i zdravog grožđa praktično nema hlapljivih kiselina ili se nalaze samo u tragovima.

Kiselost mošta i vina karakteriziraju uglavnom dva pokazatelja: količina ukupnih kiselina i realna kiselost (pH vrijednost).

Količina ukupnih kiselina u moštu varira u dosta širokim granicama i najviše ovisi o sorti grožđa i klimatskim uvjetima u periodu njegovog sazrijevanja. Većina sorata za obična, stolna vina, ima manje ukupnih kiselina od sorata za kvalitetna i visokokvalitetna vina u istim uvjetima sazrijevanja. Također, kod iste sorte koncentracija kiselina može značajno varirati u različitim godinama.

Količina ukupnih kiselina u moštu u najvećem broju slučajeva kreće se od 5 do 8 g/L izraženih kao vinska kiselina. Vina u pravilu sadrže nešto manje kiseline nego mošt, jer se dio vinske kiseline istaloži u obliku soli (streša) tijekom alkoholne fermentacije. Tijekom fermentacije nastaje određena količina jantarne kiseline (obično oko 1 g/L) i mala količina hlapljivih kiselina, ali njihova količina u pravilu ne kompenzira gubitak vinske kiseline.

Realna kiselost (pH) označava koncentraciju slobodnih vodikovih iona u moštu, odnosno u vinu, a ovisi o količini ukupnih kiselina i jačini disocijacije pojedinih kiselina. U pogledu jačine disocijacije, organske kiseline se međusobno razlikuju. Vinska kiselina disocira najjače, jabučna slabije, dok ostale kiseline disociraju još slabije. Prema tome, koncentracija vodikovih iona, odnosno pH vrijednost najviše ovisi o količini vinske kiseline u moštu i vinu. pH vrijednost nije izravno proporcionalna količini ukupnih kiselina u moštu i vinu. S povećanjem ukupnih kiselina ne povećava se uvijek srazmjerno i koncentracija vodikovih iona, odnosno realna kiselost vina. Ponekad vino s manje ukupnih kiselina može imati veću realnu kiselost od vina s više ukupnih kiselina. To je slučaj kada vino s malo ukupnih kiselina sadrži najvećim dijelom vinsku kiselinu, a vino s velikom količinom ukupnih kiselina sadrži vrlo malo vinske, a veliku količinu ostalih kiselina.

Vrijednost pH kod mošta i vina uglavnom se kreće između 3,0 i 3,8. Kiseli vina imaju pH vrijednost ispod 3,5, dok se kod nedovoljno kiselih ova vrijednost kreće i do 4,0. Realna kiselost ima veliki utjecaj na kvalitetu vina, kao i na niz biokemijskih i fizikalno-kemijskih procesa u toku sazrijevanja i starenja vina. Vina s nižim pH vrijednostima su kiselijeg i svježijeg okusa i lako se čuvaju jer se u njima teže razmnožavaju mikroorganizmi koji izazivaju kvarenje vina. Kiseli vina se po završetku vrenja brže bistre, a osim toga u tijeku čuvanja su stabilnija jer rjeđe dolazi do naknadnog замуćenja i taloga. Također su nešto sporiji oksidacijski procesi u prisutnosti kisika iz zraka.

### ODREĐIVANJE UKUPNIH KISELINA U VINU

Princip određivanja ukupnih kiselina: sve slobodne organske i anorganske kiseline i njihove kisele soli, te druge kisele tvari neutraliziraju se otopinom natrijevog hidroksida, iz čijeg se utroška računa količina ukupnih kiselina. Ukupna kiselost izražava se kao vinska kiselina u g/L.

Kako se natrijev hidroksid troši na neutralizaciju svih spomenutih kiselina, količina ukupnih kiselina mora se izraziti u jednoj od kiselina koje se nalaze u moštu. Obzirom da je u moštu najvažnija vinska kiselina, u većini zemalja se preko nje izražava količina ukupnih kiselina. U nekim zemljama, npr. Francuskoj, ukupne kiseline izražavaju se kao sumporna.

Postupak: Prije analize potrebno je baždariti pH metar. Nakon toga trbušastom pipetom uzeti 25 ml vina i staviti u čašu od 100 ml, te odrediti pH.

Vino se zagrije do vrenja da se ukloni CO<sub>2</sub>, a zatim se dobro ohladi i pristupi titraciji s 0,1 M NaOH uz pH – metar. NaOH se dodaje sve do pH 7.

$$\gamma = V \cdot 0,3 \cdot f \quad (1)$$

$\gamma$  = masena koncentracija ukupnih kiselina, izraženih kao vinska kiselina [g/L]

V = volumen otopine natrij hidroksida koncentracije 0,1 mol/L [mL]

f = faktor otopine natrij hidroksida koncentracije 0,1 mol/L (f = 1,0000)

1 mL NaOH koncentracije 0,1 mol/L odgovara 0,3 g/L vinske kiseline.

## ODREĐIVANJE HLAPLJIVIH KISELINA PO POLUMIKRO POSTUPKU

Vino redovito sadrži određenu količinu hlapljivih kiselina, u koje spadaju octena, mravlja, propionska i maslačna. Međutim, od cjelokupne količine hlapljivih kiselina na octenu otpada 95-99%, tako da je u hlapljivim kiselinama praktično zastupljena octena. Tijekom destilacije hlapljive kiseline isparavaju i prelaze u destilat. Hlapljivost pojedinih kiselina ovisi o njihovom vrelištu. Tako npr. octena kiselina vrije na 118°C, što znači da sporije i teže isparava nego voda i alkohol. Količina hlapljivih kiselina u vinu najčešće se kreće između 0,4 i 0,8 g/L izraženo u octenoj kiselini, a ovisi najviše o koncentraciji šećera u moštu, uvjetima vrenja, te vrsti i soju kvasaca koji sudjeluju u alkoholnoj fermentaciji. Crna vina u pravilu imaju nešto više hlapljivih kiselina od bijelih. Spomenute normalne količine hlapljivih kiselina nastaju iz šećera kao sporedni produkt alkoholne fermentacije. Ako koncentracija prijeđe 0,8 g/L, postoji sumnja da je došlo do aktivnosti octenih ili mliječnih bakterija, bilo tijekom fermentacije ili kasnije, tijekom čuvanja vina. Tako je količina hlapljivih kiselina najvažniji pokazatelj kvalitete i tzv. zdravstvenog stanja vina.

Princip određivanja hlapljivih kiselina: hlapljive kiseline određuju se tako da se destilacijom vina prevode u destilat, a zatim neutraliziraju otopinom natrijevog hidroksida, na temelju čijeg utroška se izračuna količina hlapljivih kiselina. Octena kiselina isparava teže od alkohola i vode, pa se destilacija provodi u struji vodene pare, čime se omogućava da cjelokupna količina octene kiseline pređe u destilat.

Postupak: Za određivanje hlapljivih kiselina uzima setrušastom pipetom 5 ml uzorka, stavi se u tikvicu kruškastog oblika (označena na slici) i doda 1 ml 25% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Pri tome treba paziti da površina vode u Erlenmayer tikvici za proizvodnju pare bude uvijek iznad nivoa tekućine u kruškastoj tikvici. Za vrenje vode u Erlenmayer tikvici treba ubaciti nekoliko komadića porozne gline ili staklene kuglice. Od probe treba predestilirati 60 ml, a dobiveni destilat zagrijati do početka vrenja i titrirati uz fenolftalein s 0,1 M natrij hidroksidom.

Izračunavanje:

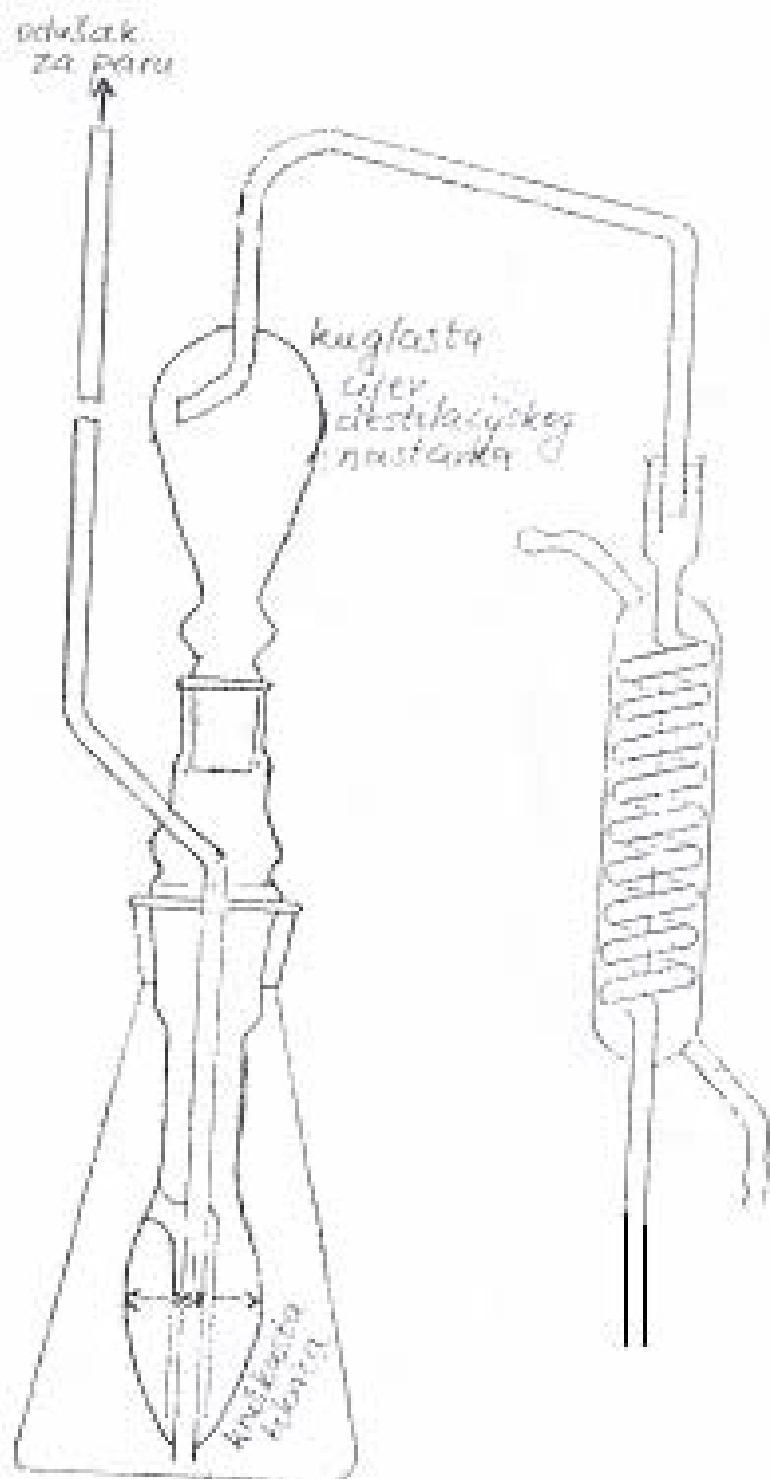
$$\gamma = V \cdot 1,2 \quad (2)$$

$\gamma$  = masena koncentracija hlapljivih kiselina, izraženih kao octena kiselina [g/L]

V = volumen otopine natrij hidroksida koncentracije 0,1 mol/L [mL]

1 mL NaOH koncentracije 0,1 mol/L odgovara 1,2 g/L octene kiseline.

Skica aparature za određivanje hlapljivih kiselina:



# ODREĐIVANJE JABUČNE I VINSKE KISELINE PAPIRNOM KROMATOGRFIJOM

## Postupak za određivanje jabučne i vinske kiseline u vinu papirnom kromatografijom:

Pri rukovanju s kromatografskim papirom potrebno je raditi s kirurškim rukavicama. Za određivanje kiselina u uzorku vina koristi se kromatografski papir Whatman No 1, koji se izreže na odgovarajuće dimenzije (55 x 192 mm). Na kromatografskom papiru povuče se grafitnom olovkom startna linija po širini papira na visini od 2.5 cm od osnove. Na liniji se obilježe točke na udaljenosti 1,5 cm od ruba papira i na ta obilježena mjesta nanosi se po 50  $\mu$ L smjese standarda (koja sadrži po 3 g/L jabučne i vinske kiseline) odnosno uzorka vina. Nanosi se kap po kap, a, mrlje odmah suše toplim zrakom (fenom) tako da promjer mrlja bude maksimalno 3 mm. Nakon nanošenja i sušenja, radi razvijanje kromatograma papir se stavlja u kadu za kromatografiju u kojoj se nalazi ranije pripremljena smjesa otapala ovog sastava:

octena kiselina	10 ml
n - butanol	40 ml
destilirana voda	50 ml

Vrijeme razvijanja kromatograma je 2-3 sata, nakon čega treba označiti frontu otapala grafitnom olovkom prije nego se kromatogram počne sušiti. Zatim slijedi sušenje na zraku, uranjanje u otopinu indikatora i ponovo sušenje na zraku. Na temelju položaja mrlja na kromatogramu u odnosu na poznatu smjesu standarda,  $R_f$  vrijednosti se izračunavaju prema izrazu:

$$R_f = \frac{\text{Udaljenost sredine mrlje od starta}}{\text{Udaljenost fronte otapala od starta}} \quad (3)$$

$R_f$  srednja za vinsku kis. (standard) = 0,38

$R_f$  srednja za jabučnu kis. (standard) = 0,56

Priprema smjese za razvijanje kromatograma: Smjesa octene kiseline, n-butanola i destilirane vode stavlja se u lijevak za odjeljivanje i promućka, a kao razvijlač koristi se gornja bistra faza. Nakon razvijanja i sušenja kromatograma, on se uroni u otopinu indikatora (bromfenol – plavo).

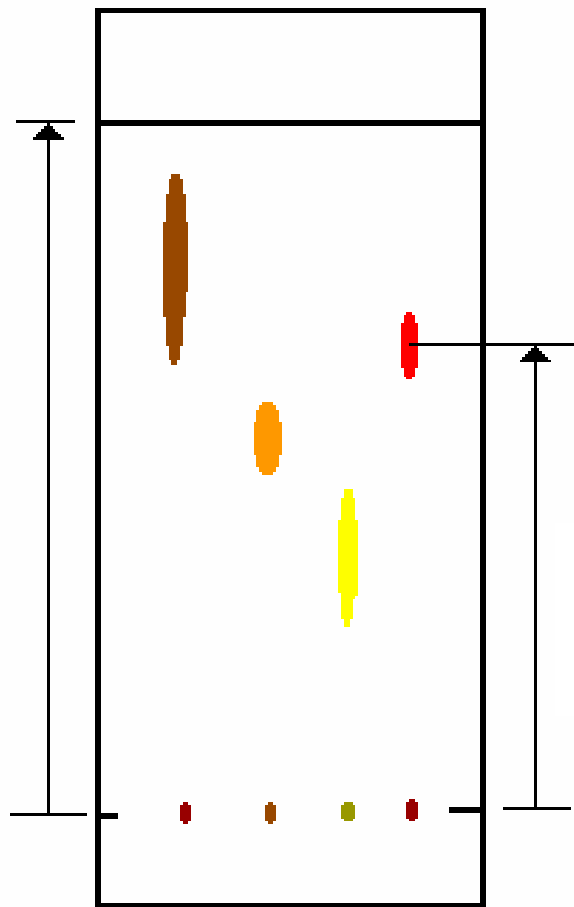
Volumen otapala u kadi za kromatografiju : (10+40+50)x2

Priprema otopine indikatora: 100 mg bromfenol-plavog otopi se u apsolutnom etanolu u odmjerneji tikvici od 100 ml, te doda 2-3 kapi 1M NaOH za postizanje lagano lužnate otopine.

Izgled kromatograma:



Udaljenost  
od stratne  
linije do fronte  
otapala



Udaljenost od  
stratne linije do  
središta mrlje

## MIKROBIOLOŠKA ANALIZA MOŠTA I VINA

Sterilnom graduiranom pipetom od 10 ml uzima se 10 ml uzorka mošta ili vina u sterilnu epruvetu. Pomoću Thoma-ove komorice izbrojite stanice u moštu ili odgovarajućem razrjeđenju i izračunajte koja razrjeđenja treba nacijepiti na Petrijeve zdjelice sa sladnim agarom, pri čemu se na sladni agar nacijepljuje po 0,1 ml svakog razrjeđenja u tri paralele.

Na poklopcu Petrijeve zdjelice označiti datum i broj grupe, te oznaku fermentacijske tikvice i staviti na inkubaciju u termostat na 28°C kroz 3 dana. Nakon inkubacije prebrojati porasle kolonije, izračunati broj stanica po mililitru originala obzirom na nacijepljeno razrjeđenje i volumen, te odabrati kolonije za mikroskopiranje nativnih preparata, nacrtati i riječima opisati mikroskopsku sliku. Rezultate unijeti u tablicu.

datum	dan fermentacije	broj stanica u Thoma-ovoj komorici (stanica/mL)	nacijepljeno razrjeđenje	CFU

## ODREĐIVANJE GLIKOGENA U STANICAMA KVASCA

Snažne i zdrave stanice sadrže glikogen, koji nastaje u stadiju intenzivnog vrenja. Količina glikogena ovisi o sastavu sladovine. Čuvanjem kvasca dulje vrijeme pod vodom (3-5 dana) smanjuje se količina glikogena, jer je kao rezervna tvar dijelom upotrijebljen od kvasca, a dijelom poslije enzirnog cijepanja prešao u vodu. Lagano previranje ili usporen početak vrenja najčešći su znaci nedovoljne količine glikogena. Glikogen se najčešće određuje u čistoj kulturi kvasca ili u kvascu što ga nabavljamo iz drugog izvora. Preporučljivo je ovo određivanje provesti i u kvascu koji u pogonu loše previre. Točne upute o udjelu smeđe obojenih stanica koje treba sadržavati aktivan kvasac ne mogu se dati. Količina glikogena ovisi o fiziološkom stanju kvasca, intenzitetu rasta, duljini vremena čuvanja, temperaturi i drugim utjecajima. Zdravi kvasci uzeti odmah poslije vrenja imaju do 70% tamno smeđe obojenih stanica.

Postupak bojenja: Bojenje se može provesti na različite načine. U praksi se najčešće radi tako, da na predmetnicu nanese kap guste suspenzije kvasca i pomiješamo je s jednom kapi jodne otopine, poklopimo pokrovnice i preparat je gotov. Stanice koje sadrže glikogen boje se smeđe do crveno-smeđe. Kod stanica koje ne sadrže glikogen citoplazma se boji reakcijom na bjelančevine samo žuto.

Pripremanje jodne otopine: Jodna otopina je poznata kao Lugol-ova otopina. Priprema se iz dva dijela joda ( $I_2$ ), 6 dijelova kalijevog jodida (KI) i 120 dijelova vode.

1 g  $I_2$  + 3 g KI izmiješa se dobro u tarioniku, a potom se uz stalno miješanje doda 50 ml vode. Poslije otapanja mješavine, otopina se nadopuni do 60 ml destiliranom vodom i čuva u tamnoj boci.

# ODREĐIVANJE SUMPORA

## (uobičajena metoda)

### 1. Određivanje slobodnog sumpora (20 minuta bez grijanja)

U tikvicu za kuhanje (A) otpipetira se preko lijevka (C) 10 ml vina koje analiziramo i 5 ml fosforne kiseline ( $w = 25\%$ ). U manju, apsorpcionu tikvicu (B) treba dodati već pripremljeni reagens (priprema opisana pod točkom 4) tako da nivo bude do proširenog grla apsorpcijske tikvice. Obavezno otvoriti vodu koja struji kroz hladilo, te vodu u vakuum sisaljci do pojave mjehurića u menzuri na jednoj strani i u tikvicama aparature. Nakon 20 minuta skinuti tikvicu s reagensom i titrirati s 0,01 M NaOH. Utrošene ml 0,01 M NaOH treba pomnožiti s 32 da bi se dobili mg slobodnog  $\text{SO}_2$  u 1 litri vina.

### 2. Određivanje vezanog sumpornog dioksida

Vino koje je nakon određivanja slobodnog sumpora ostalo u tikvici za kuhanje (A) ostaje i dalje u toj tikvici. Mijenja se reagens u maloj apsorpcionoj tikvici (B), a zatim se pod tikvicu za kuhanje stavi plamenik sa što manjim plamenom, pa se grije se uz lagano vrenje točno 10 minuta. Utrošene ml 0,01 M NaOH pomnožimo s 32 i dobijemo mg vezanog  $\text{SO}_2$  u 1 litri vina.

### 3. Određivanje ukupnog sumpora

Ukupni  $\text{SO}_2$  dobije se zbrajanjem vrijednosti slobodnog i vezanog  $\text{SO}_2$ . Isto tako može se ukupni  $\text{SO}_2$  odrediti i izravno, tj. otpipetirati 10 ml vina i 5 ml 25%-tne  $\text{H}_3\text{PO}_4$  i odmah od početka grijati i dovesti do vrenja. Zatim uključiti vakuum sisaljku, te nakon 10 minuta titrirati. Utrošeni ml 0,01 M NaOH  $\times 32 = \text{mg ukupnog } \text{SO}_2$  u 1 litri vina. (Tu se ne pribraja slobodni  $\text{SO}_2$ ).

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

U 100 ml destilirane vode dodati 2 ml vodikovog peroksida i indikatora po potrebi do prljavo sivoplave boje (2-3 ml).

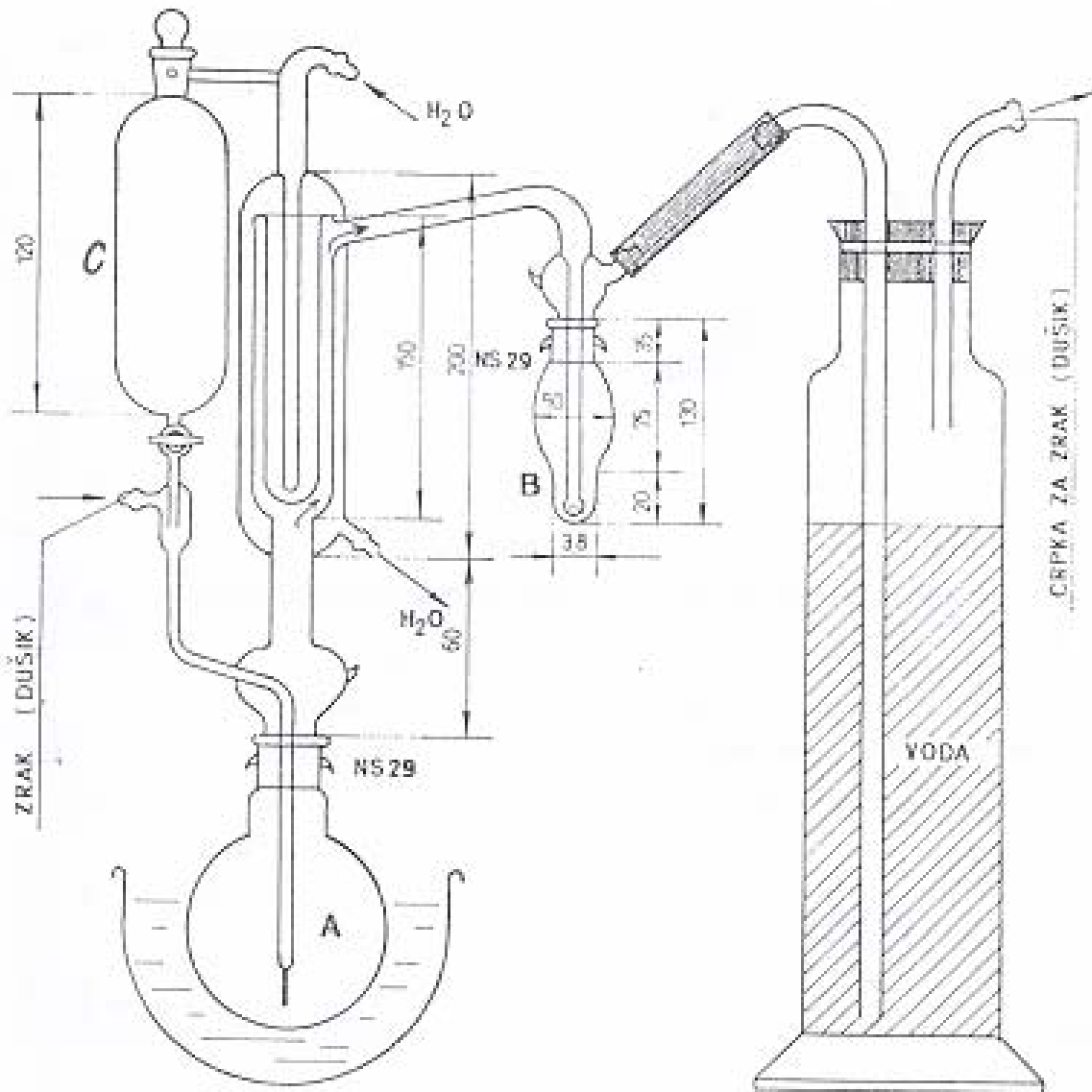
**INDIKATOR:** Smjesa otopine A i B (100 ml A + 15 ml B)

**OTOPINA A:** 0,03 g metilnog crvenila u 100 ml 96% alkohola

**OTOPINA B:** 0,1 g metilnog plavila u 100 ml destilirane vode

Otopine A i B mogu se koristiti dulje vrijeme, a otopina peroksida mora svaki dan biti svježa. Ukoliko je indikator ljubičaste boje, reakcija je kisela i treba ga neutralizirati lužinom, a ako je zelene boje, reakcija je lužnata i treba ga neutralizirati kloridnom kiselinom. Ovo se provodi tako da se reagens promiješa staklenim štapićem uronjenim u kiselinu odnosno lužinu.

Skica aparature za određivanje sumpora:



## ODREĐIVANJE SUMPORA METODOM PO RIPPER-U

Ova metoda je brza i jednostavna ali ne daje točne rezultate.

**Princip:** SO<sub>2</sub> nalazi se u vinu u vezanom i slobodnom obliku. SO<sub>2</sub> Veže se s aldehydima, šećerima i polifenolnim tvarima. Ovom se metodom usporedo određuje slobodni i ukupni SO<sub>2</sub> pa se količina vezanog izračunava na temelju njihove razlike. Određivanje se provodi pomoću otopine joda, pri čemu se SO<sub>2</sub> oksidira, a jod reducira, pa se na temelju utroška otopine joda izračuna količina SO<sub>2</sub>.

Slobodni SO<sub>2</sub> određuje se direktno pomoću otopine joda, pri čemu se SO<sub>2</sub> oksidira, a jod reducira.

Ukupni SO<sub>2</sub> određuje se jodometrijskom titracijom u utorku u kojem je vezani SO<sub>2</sub> oslobođen dodavanjem alkalije.

### Reagensi:

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> razrijeđena s vodom (1:4)

1% otopina škroba

0,01 M I<sub>2</sub>

1 M NaOH

### **Postupak određivanja slobodnog SO<sub>2</sub>**

U Erlenmeyer-ovu tikvicu s brušenim grlom stavi se 50 mL vina, zatim se doda 10 mL otopine H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:4) i 3 mL 1%-tne otopine škroba. Titrira se s 0,01 M I<sub>2</sub> do pojave plave boje koja će se održati pola minute. Utrošak se množi faktorom 12,8 i dobije koncentracija slobodnog SO<sub>2</sub> izražena u mg/L.

### **Postupak određivanja ukupnog SO<sub>2</sub>**

U Erlenmeyer-ovu tikvicu s brušenim grlom stavi se 25 mL 1M NaOH. Doda se 50 mL vina, pri čemu vrh pipette treba biti uronjen u otopinu NaOH. Ostavi se stajati 10 minuta kako bi sav SO<sub>2</sub> prešao u slobodni oblik. Zatim se doda 15 mL otopine H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:4) i 3 mL 1%-tne otopine škroba. Titrira se s 0,01 M I<sub>2</sub> do pojave plave boje koja će se održati pola minute. Utrošak se množi faktorom 12,8 i dobije koncentracija ukupnog SO<sub>2</sub> izražena u mg/L.

## ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE ŠEĆERA RS-METODOM

(Određivanje reducirajućih supstanci)

### POSTUPAK:

Za mošt ili mlado vino: 1 ml prenese se u odmjerku od 50 ml i dopuni do oznake, a zatim 5 ml tako razrijeđenog uzorka uzima za analizu, uz dodatak 20 ml destilirane vode. Doda se 10 ml otopine A (Fehling 1) i 10 ml otopine (Fehling II).<sup>\*</sup> Kuha se točno 2 minute u tikvici s okruglim dnom od 250 ml uz povratno hladilo, zatim se ohladi pod vodom i doda 10 ml otopine C (30%-tni KI) i 10 ml otopine D (26%-tne H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Sve se dobro izmiješa i doda 2 ml škroba (1%-tna otopina), te titrira s 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> do prelaza tamno smeđe boje u boju puti koja se treba zadržati 1 minutu.

**GLUKOZA TEST (kontrola):** uzme se 5 ml 1%-tne glukoze i 20 ml destilirane vode (ukupan volumen 25 ml) i ponovi gore opisani postupak.

**SLIJEPA PROBA:** uzme se 25 ml destilirane vode i ponovi gore opisani postupak.

### IZRAČUNAVANJE KONCENTRACIJE ŠEĆERA:

$$RS = \frac{50x(a-b)}{(a-c)xd} \quad (4)$$

RS = reducirajuće supstance (g/l)

a = ml 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za slijepu probu

b = ml 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za uzorak

c = ml 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za kontrolu (glukoza test)

d = ml uzorka uzeti za analizu

$$d = \frac{1}{50} \cdot 5 \text{ za mlado vino ili mošt}$$

<sup>\*</sup> Nakon završetka burnog vrenja i pretoka za analizu se uzima 5 ml originalnog uzorka i razrjeđuje se s 20 ml destilirane vode, te se kuha s otopinama Fehling I i Fehling II. U ovom slučaju u proračunu se uzima da je d = 5.

## ODREĐIVANJE ŠEĆERA BRZOM FRANCUSKOM METODOM

Iz analiziranog vina dodatkom aktivnog ugljena odstrane obojene, taninske i druge redukcijske tvari. Profiltrirana i bistra tekućina se stavi u pipetu (biretu). U Erlenmeyerovu tikvicu od 100 ml stavi se po 5 ml otopine Fehlinga I i II, te zagrijava nad plamenom do vrenja. Kad otopina zavri postepeno se iz pipete ispušta bistro obezbojeno vino. Za cijelo to vrijeme temperatura otopine treba biti blizu točke vrenja. Plava boja tekućine u Erlenmayerici se postepeno gubi uslijed redukcije bakra i stvaranja crvenog taloga  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Kraj analize nastupa nestankom tragova plave boje.

### IZRAČUNAVANJE KOLIČINE ŠEĆERA:

1 ml Felingove otopine oksidira 0,005 g šećera. Ako se s A obilježe utrošeni ml filtrata vina koji su reducirali 10 ml Fehlingove otopine koja reducira 0,05 g šećera, onda se količina šećera u 1 litri vina računa na slijedeći način:

$$A : 0.05 = 1000 : X \Rightarrow X=50/A \text{ (g/L šećera)} \quad (5)$$



## ODREĐIVANJE ALKOHOLA KEMIJSKOM METODOM

Princip: Ova metoda zasniva se na oksidaciji alkohola s kalijevim bikromatom ( $K_2Cr_2O_7$ ) u kiseloj sredini. Alkohol se oksidira u octenu kiselinu, a šesterovalentni krom iz kalijevog bikromata reducira se u trovalentni. Oksidacija se obavlja prema slijedećoj jednadžbi:



Alkohol se iz vina destilira i uvodi izravno u otopinu  $K_2Cr_2O_7$  koji je zakiseljen s  $H_2SO_4$  gdje se odvija oksidacija.

### Reagensi:

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

### Postupak:

Vino se razrijedi u odnosu 1:10, tako da se u odmjernu tikvicu od 50 ml stavi 5 ml vina i dopuni destiliranom vodom do oznake. U postupak se uzima 5 ml ovako razrijeđenog vina koje se stavi u tikvicu za destilaciju od 50 ml, doda još 5-6 ml destilirane vode i sadržaj neutralizira s 0,1 NaOH uz univerzalni infikator.

U Erlenmeyerovu tikvicu od 100 ml, u koju će se hvatati destilat, stavi se točno 10 ml otopine kalijevog bikromata i 5 ml koncentrirane  $H_2SO_4$ . Destilat se preko hladila i lule uvodi u otopinu kalijevog bikromata u Erlenmeyerovu tikvicu od 100 ml, koja mora biti u rashlađenoj vodi. Destilacija treba biti polagana i postepena i traje dok se sadržaj u tikvici za destilaciju ne smanji na približno 3 ml (za to vrijeme je alkohol predestilirao).

Po završetku destilacije lula se ispere iznutra s nekoliko mlazova destilirane vode u istu Erlenmeyerovu tikvicu u koju se hvatao destilat. Sadržaj Erlenmayerice se promućka, začepi gumenim čepom i ostavi stajati 5 minuta radi potpune oksidacije alkohola. Tijekom oksidacije alkohola utroši se jedan dio bikromata, dok drugi dio ostane u suvišku.

Zatim se sadržaj kvantitativno prebaci u Erlenmayericu od 500 ml (isprati tikvicu!!!), doda oko 200 ml destilirane vode radi razrjeđenja i 10 ml 20%-tne otopine KI (radi određivanja

preostale količine kalijeveg bikromata) i ostavi se začepjeno 5 minuta. Tada dolazi do oksido-redukcijskog procesa između preostalog kalijeveg bikromata i KI: krom se iz šesterovalentnog reducira u trovalentni, a jod iz KI se oksidira u elementarni jod, zbog čega otopina dobije tamnu boju. Pritom se elementarni jod oslobađa u količini ekvivalentnoj kalijevom bikromatu. Titrira se 0,1 M otopinom natrijevog tiosulfata, pri čemu dolazi do oksidoredukcije između joda i natrijevog tiosulfata, u kojoj se jod reducira, a tiosulfat oksidira. Kad boja postane svjetlija doda se 5 ml 1%-tne otopine škroba i titracija se nastavi do pojave tirkizno-zelene boje. Prijelaz boje je vrlo jasan i nastaje čim nestanu posljednje količine joda.

#### **IZRAČUNAVANJE količine alkohola:**

$$\text{alkohol (vol\%)} = (10 - \frac{a}{6.9}) \times 2 \quad (6)$$

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

Faktor 2 proizlazi iz ekvivalencije između kalijeveg bikromata i alkohola i količine vina upotrebljene za analizu.

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

Obzirom da je naročito pogodna za određivanje malih količina alkohola, prvenstveno se koristi u početnim fazama vrenja mošta, kao i za dokazivanje prisutnosti alkohola u voćnim sokovima pri kontroli njihove kvalitete.

# ODREĐIVANJE ALKOHOLA I EKSTRAKTA DENZIMETRIJSKI

**PRINCIP:** Količina alkohola i ekstrakta u vinu odredi se pomoću piknometra - količina alkohola na osnovi specifične težine destilata, a količina ekstrakta na osnovi specifične težine ostatka od destilacije. To je tzv. denzimetrijska metoda.

## 1. Određivanje specifične težine vina

Piknometar se ispere 2-3 puta s malo vina koje se ispituje. Pomoću specijalnog lijevka napuni se tako da nivo bude iznad oznake na grliću. Temperira se se u vodenoj kupelji pri 20°C /20 minuta, a zatim se višak vina iznad oznake odstrani pomoću filter papira.

Piknometar se dobro obriše i važe da bi se dobila masa pinometra s vinom. Specifična težina vina odredi se na slijedeći način:

$$\gamma = \frac{A-B}{C} \quad (7)$$

A - masa piknometra s vinom (destilatom ili ostatkom od destilacije)

B - masa praznog piknometra

C - vodena vrijednost piknometra

Vrijednosti B i C potrebne za računanje određene su ranije za svaki pojedini piknometar.

## 2. Određivanje količine alkohola u vinu

Nakon određivanja specifične težine, vino se iz piknometra prenese u tikvicu za destilaciju od 250 ml. Važno je pritom isprati piknometar 2-3 puta s nekoliko mililitara hladne destilirane vode i to sve prelići u tikvicu za destilaciju. Prilikom destilacije, destilat se hvata u isti piknometar preko specijalnog lijevka, koji služi za punjenje piknometra. U piknometar se ulije malo destilirane vode tako da je vrh lijevka uronjen u nju. Destilacija traje dok se piknometar ne napuni destilatom do  $\frac{3}{4}$  njegovog volumena. Tada se piknometar napuni destiliranom vodom do ispod oznake i stavi u vodenu kupelj na 20°C / 20 minuta, a zatim nadopuni do oznake destiliranom vodom, obriše i važe. Specifična težina destilata izračunava se kao pod 1.

*Specifična težina destilata je uvijek manja od specifične težine vina i to utoliko manja ukoliko ima više alkohola.*

Na osnovi specifične težine destilata iz tablice (po Windischu) očita se količina alkohola u g/L vina a iz ove vrijednosti volumni postoci etanola.

### 3. Određivanje ekstrakta u vinu

Piknometar u kojem je bio destilat isprazni se i ispere 2-3 puta destiliranom vodom, pa se u njega pomoću lijevka izlije ostatak od destilacije iz tikvice. Prenosjenje mora biti bez gubitaka. Zatim se tikvica ispere 3 puta vrućom destiliranom vodom i to se sve prenese u piknometar, koji se tako napuni do ispod oznake i stavi u vodenu kupelj na 20°C /20 min.. Nakon termostatiranja nadopuni se destiliranom vodom do oznake i važe. Specifina težina ostatka od destilacije izračuna se kao pod 1. a iz tablice se očita količina ekstrakta u vinu u g/L.

### 4. Računsko određivanje ekstrakta u vinu po Tabariju

Ekstrakt se može odrediti i računski na slijedeći način:

$$D_3 = D_1 - D_2 + 0,99823 \quad (8)$$

$D_3$  - specifična težina ekstrakta

$D_1$  - specifična težina vina

$D_2$  - specifična težina destilata

## **BISTRENJE VINA BENTONITOM**

### **LABORATORIJSKI POKUS**

Potrebna količina bentonita za bistrenje vina određuje se laboratorijskim pokusom s 5%-tnom koloidnom suspenzijom bentonita (pripremljenom 24 sata prije rada suspendiranjem bentonita u destiliranoj vodi).

Za pokus se uzmu 4 menzure s brušenim čepovima i u svaku se stavi 100 ml vina, a zatim se u vino dodaju slijedeće količine 5%-tne suspenzije bentonita:

1. menzura: 0,5 ml suspenzije (odgovara 25 g bentonita/hl)
2. menzura: 1,0 ml suspenzije (odgovara 50 g bentonita/hl )
3. menzura: 1,5 ml suspenzije (odgovara 75 g bentonita/hl )
4. menzura: 2,0 ml suspenzije (odgovara 100 g bentonita/hl )

Odmah po dodavanju svaku menzuru treba dobro promućkati i ostaviti da se istaloži gruša (proteini). Uzorci se zatim profiltriraju preko filter papira, a zatim se pristupa kontroli stabilnosti vina. Po 10 ml filtrata stavi se u 4 epruvete, koje se stave u vruću vodu (80<sup>0</sup>C)/1 sat. Zatim se izvade iz vode, ohlade, obrišu i promatra se na bijeloj podlozi da li je došlo do naknadnog zamućenja. Treba se opredijeliti za onu dozu bentonita s kojom vino ostaje kristalno bistro (stabilno) i poslije ovog temperaturnog testa. U pogonu se koristi 10%-tna suspenzija bentonita za taloženje proteina.

Bentonit nije pogodan za crna vina.

## ODREĐIVANJE GLICEROLA U VINU

Glicerol (glicerin) ( $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$ ) je trovalentni alkohol uljastog izgleda, slatkastog okusa, bez boje i mirisa. Veoma važan sastojak za kvalitetu vina, on je najvažniji sastojak ekstrakta, te daje vinu punoću, harmoničnost, pitkost, slatkoću i veći viskozitet.

Vina koja sadrže više glicerola punog su i harmoničnog okusa, ukoliko su i ostali elementi kvalitete normalni. Prag osjetljivosti glicerola u vinu je 5,2 g/L.

Glicerol nastaje djelovanjem kvasca tijekom alkoholne fermentacije. Sojevi kvasca mogu se međusobno ralikovati po proizvedenoj količini glicerola.

Količina glicerola proizvedena tijekom fermentacije ovisi o više čimbenika kao što su sorta grožđa, stupanj zrelosti, temperatura fermentacije, koncentracija  $\text{SO}_2$ , pH-vrijednost mošta, dušik u moštu, aeracija, soj kvasca i količina inokuluma.

U suhim stolnim vinima ima od 4 do 10 ili čak 15 g/L glicerola. Crna vina sadrže više glicerola od bijelih. Veće koncentracije glicerola mogu biti sumnjive jer upućuju na naknadno dodavanje u vino.

Mošt od zdravog grožđa ne sadrži glicerol ali ga mošt dobiven od grožđa napadnutog plemenitom plijesni sadrži do 10 g/L, a vino proizvedeno iz takvog mošta i do 20-25 g/L.

Osim plinske kromatografije postoje i druge metode za određivanje glicerola kao npr. Računska, enzimski i klasična gravimetrijska (CaO) metoda.

## ODREĐIVANJE GLICEROLA U VINU PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

### **Osnove plinske kromatografije:**

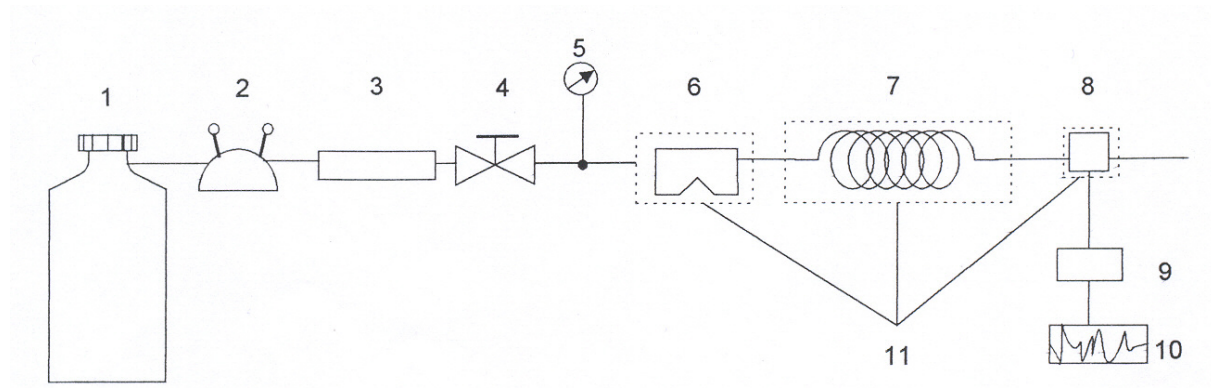
Plinska kromatografija je analitička metoda koja omogućava separaciju pojedinih hlapljivih sastojaka smjese dovedene u plinovito stanje. Mobilna faza tj. plin nosilac (dušik, helij ili vodik) odnosi ga u kolonu u kojoj se razdvajaju njegovi sastojci.

Sastojci koji se kromatografiraju raspoređuju se između dviju faza – stacionarne i mobilne – pri čemu mobilna faza prolazi kroz stacionarnu noseći sa sobom hlapljive sastojke. Kromatografski proces se odvija kao rezultat ponavljanih sorpcijsko-desorpcijskih zbivanja tijekom prolaza uzorka kroz stacionarnu fazu i odvajanja sastojaka uslijed razlika koeficijenata raspodjele pojedinih njegovih komponenata.

Kad je mobilna faza tekućina, govori se o tekućinskoj kromatografiji (high performance liquid chromatography, HPLC) a kad je mobilna faza plin, riječ je o plinskoj kromatografiji (gas chromatography, GC).

Proces kromatografiranja prate ove operacije (vidi sliku 1) :

- \*unošenje uzorka iglom za injektiranje direktno na početak kolone,
- \*razdvajanje sastojaka na koloni (punjena staklena, punjena metalna ili kapilarna),
- \*određivanje sastojaka u detektoru (plameno-ionizacijskom, flame-ionisation detector, FID) i
- \*prikaz rezultata kompjuteriziranim integratorom.



**Slika 1.** Shema plinskog kromatografa

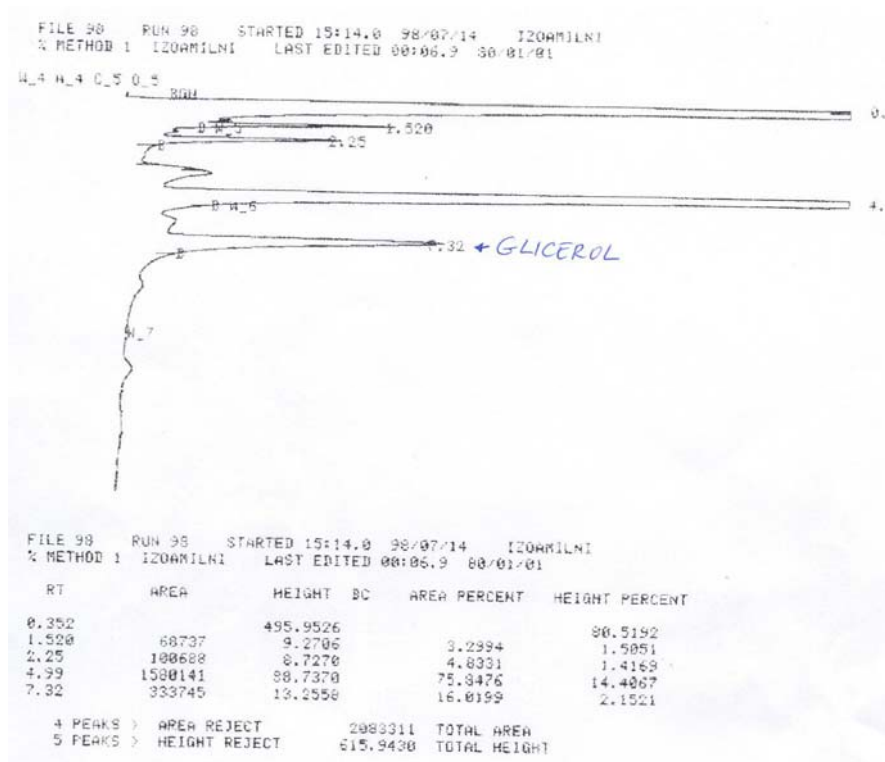
- 1 boca s komprimiranim plinom nosiocem (mobilna faza),
- 2 redukcioni ventil,
- 3 filteri za čišćenje plina nosioca (mobilne faze),
- 4 regulator tlaka i protoka,
- 5 manometar,
- 6 uređaj za unošenje uzorka (injektor),
- 7 peč s kromatografskom kolonom,
- 8 detektor,
- 9 pojačalo,
- 10 kompjuterizirani integrator,
- 11 termostatirani prostor

Tekući uzorak unosi se injekcijskom iglom izravno na vrh kolone i posredstvom zagrijanog injektora pretvara se u paru koju plin nosioc gura poput koncentriranog čepa kroz zagrijanu kolonu.

Temperatura peći u kojoj se nalazi kolona može biti konstantna pa se govori o izotermnom postupku ili se tijekom kromatografske analize može mijenjati, obično postepeno jače zagrijavati, pa je to temperaturno programirano kromatografiranje.

Kontinuirano razdvajanje sastojaka odvija se u struji inertnog plina nosioca t.j. mobilne faze. Razdvojeni sastojci smjese izlaze pojedinačno s kolone zajedno s plinom nosiocem i ulaze u detektor.

U plameno ionizacijskom detektoru (FID, flame ionisation detector) razdvojeni sastojci izgaraju u plamenu (smjesa sintetskog zraka i vodika) i formiraju električki signal koji se bilježi na papiru u obliku kromatograma s nizom karakterističnih pikova. Svaki pik ima svoje karakteristično vrijeme zadržavanja (retencijsko vrijeme, RT) koje bilježi kompjuterizirani integrator kao i površinu i visinu pikova (vidi sliku 2)



**Slika 2.** Kromatogram vina na kromatografskoj koloni Chromosorb 101 u izotermnim uvjetima (temperatura kolone 220 °C)

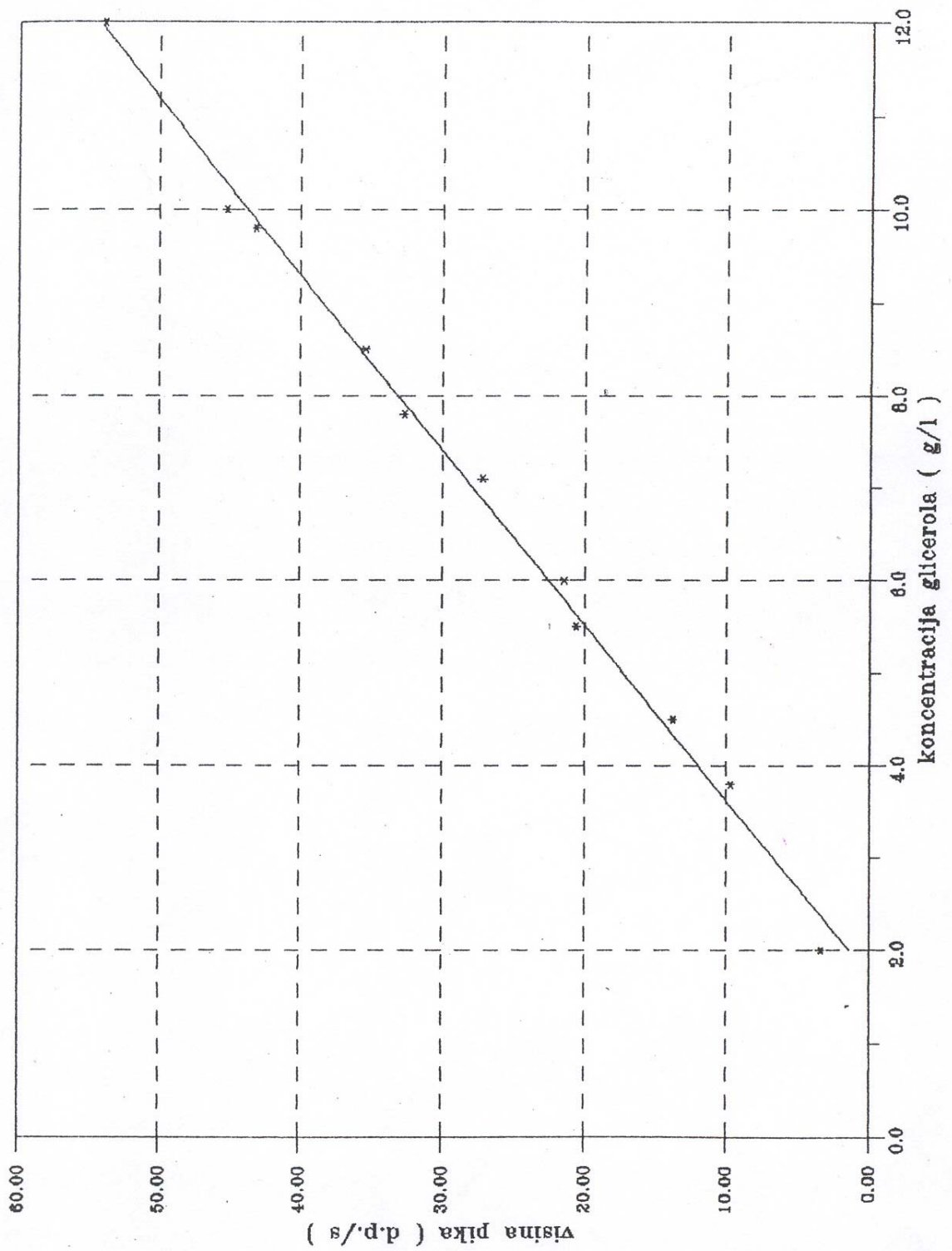


## **Postupak određivanja glicerola plinskom kromatografijom**

Za određivanje glicerola u vinima u ovoj vježbi bit će korištena kromatografska kolona Chromosorb 101 u izotermnim uvjetima (temperatura kolone 220 °C). Temperatura injektora je 240 °C a detektora 250 °C. Protok plina nosioca, helija, je 30 ml/min. Protok zraka je 300 ml/min a vodika 30 ml/min. Za ubacivanje uzoraka i standarda koristi se injekcijska igla Hamilton 701N od 10 µl.

### **Priprema standardnih otopina glicerola za baždarni dijagram:**

Za pripremu standardnih otopina glicerola za određivanje baždarnog dijagrama upotrebljava se otopina glicerola masene koncentracije 20 g/L koja se razrjeđuje vodom i homogenizira u ultrazvučnoj kupelji. Zatim se pripreme razrjeđenja od 4.5 , 5.5 , 6.0 , 7.1 , 7.8 i 8.5 g/L glicerola. Iz dobivenog baždarnog dijagrama očitaju se vrijednosti glicerola u uzorcima vina.



Slika 3. Primjer baždarnog dijagrama za određivanje glicerola GC metodom

## **RAČUNSKO ODREĐIVANJE GLICEROLA U VINU**

Koncentracija glicerola može se odrediti računski iz koncentracije alkohola prema formuli:

$$\text{GLICEROL (g/L)} = \text{ALKOHOL (g/L)} / 12,5$$

Ova metoda ima primjenu u komparativnom, orijentacijskom određivanju glicerola kao i pri potvrđivanju ili otklanjanju sumnje o dodanim količinama glicerola nakon završetka fermentacije u gotovo vino.

## **ODREĐIVANJE KOLIČINE GLICEROLA GRAVIMETRIJSKI (CaO METODA)**

Princip: Ekstrakcija s alkoholom i eterom. To je klasična metoda poznata pod nazivom vapnena metoda (CaO metoda ili gravimetrijska metoda).

### **REAGENSI:**

1. CaO
2. apsolutni alkohol
3. 96% alkohol
4. eter

### **POSTUPAK:**

U porculansku zdjelicu stavi se 100 ml vina i uparava u vodenoj kupelji dok se njegova količina ne smanji na oko 10 ml. Zatim se doda 1,5 do 2 g CaO koji se dobro izmiješa staklenim štapićem. Količina kalcijevog oksida koja se dodaje ovisi o količini ekstrakta u vinu: kada je količina ekstrakta manja dodaje se manje CaO, i obratno. Količina ekstrakta u 100 ml vina množi se s 0,6 i dobije se količina CaO.

Zagrijavanje u vodenoj kupelji se nastavlja sve dok se ne dobije gusta masa slična tijestu, koja se lijepi za štapić. Zatim se zdjelica skine s kupelji, brzo doda 5 ml

apsolutnog alkohola i miješa sve dok se ne dobije jednolična masa koja se prenese s vrelin 96% alkoholom u odmjernu tikvicu od 100 ml. Vreli alkohol se dodaje postepeno u više navrata, pa se alkohol preko lijevka prenosi u tikvicu. Na kraju se lijevak ispere alkoholom, a tikvica sa sadržajem se 20 minuta temperira u vodenoj kupelji na 200C. Nakon toga se tikvica napuni alkoholom do marke, promućka i ostavi da stoji najmanje 3 sata.

Zatim se kroz naborani filter promjera 7 cm (N°560) filtrira prvo gornja uljasta tekućina, pa onda i ostalo. Filtrat se hvata u graduirani cilindar od 100 ml. Za vrijeme filtriranja lijevak se poklopi satnim staklom, da alkohol ne bi jače ispario. Filtrat je žućkaste boje i u njemu se nalazi tzv. sirovi glicerol koji sadrži pektinske i neke druge netopive tvari. Zatim se 80 ml filtrata stavi u porculansku zdjelicu i uparava u kupelji sve dok se ne dobije oko 1 ml žućkaste mase koja treba izgubiti miris po alkoholu. S isparavanjem zatim treba prestati, jer se daljnjim držanjem na visokoj temperaturi glicerol razgrađuje. Masa se otopi dodatkom apsolutnog alkohola i prenese preko lijevka u graduiranu menzuru od 50 ml sa šlifom. Pri prenošenju se utroši toliko da se u menzuri dobije 15 ml tekućine. Sada se u tri puta dodaje po 7,5 ml apsolutnog etera i poslije svakog dodavanja sadržaj u menzuri dobro protrese. Na taj način dobije se smjesa alkohola i etera u omjeru 2:9, u kojoj je čisti glicerol u otopini, a netopive tvari se talože i lijepe za dno i zidove menzure. Menzura se ostavi da stoji najmanje 6 sati, a zatim se bistri sadržaj stavlja u staklenu zdjelicu u kojoj se isparava. Menzura se ispere nekoliko puta sa smjesom alkohola i etera (2:3), vodeći računa da netopive tvari ostanu zalijepljene za stijenke i dno menzure. Prije stavljanja sadržaja zdjelica treba biti potpuno čista, sušena na 140°C i izvagana. Ispravljanje se provodi na vodenoj kupelji pri čemu alkohol i eter ispare, a ostane gusta sirupasta masa - glicerol. Isparava se sve dok sirupasta masa ne izgubi miris po alkoholu i eteru. Poslije isparavanja zdjelica se drži jedan sat u sušioniku, a zatim se zajedno s poklopcem stavlja u eksikator. Zdjelica se važe hladna. Oduzimanjem težine prazne zdjelice od težine zdjelice s glicerolom dobije se težina glicerola.

Ova težina se pomnoži s faktorom 12,5 (zbog 80 ml filtrata) i dobije se koncentracija glicerola u g/L.

## ODREĐIVANJE KOLIČINE PEPELA GRAVIMETRIJSKI

### PRINCIP:

Uzorak se upari do suha, spaljivanjem karbonizira, a zatim mineralizira žarenjem kod propisane temperature do konstantne težine.

### POSTUPAK:

U čistu i izmjerenu porculansku (platinsku) zdjelicu stavi se 50 ml vina. Zdjelica se stavi u vodenu kupelj, gdje vino isparava sve dok se na dnu zdjelice ne dobije sirupasta masa. Zatim se zdjelica stavlja u sušionik na 120°C radi isparavanja i ostatka vode. Nakon sušenja spaljuje se suha tvar u peći na max 500°C, ili na plameniku uz postepeno povećanje temperature. Uslijed visoke temperature masa prvo karbonizira, a zatim postepeno sagorjeva i prelazi u pepeo. Da bi potpuno sagorjela karbonizirana masa se u toku postupka u 2-3 navrata usitni pomoću staklenog štapića uz dodavanje malo destilirane vode. Poslije svakog usitnjavanja zdjelica se stavlja u vodenu kupelj, da voda ispari, pa se ponovo vraća u peć za žarenje ili na plamenik sve dok i posljednje karbonizirane čestice ne sagore. Ako je sagorijevanje potpuno u zdjelici ostaje pepeo sive boje. Nakon spaljivanja zdjelica se stavi u eksikator i ostavi da se ohladi. Zdjelice se važu hladne. Zbog higroskopnosti pepela treba brzo vagati. Oduzimanjem težine prazne zdjelice od težine zdjelice s pepelom dobije se težina pepela u 50 ml vina. Dobivena vrijednost se množi s 20 da bi se dobila količina pepela u g/L. Minimalna količina pepela u vinu je 1,2 g/L. Manje od toga znači ili da je vino falsificirano ili je načinjena analitička greška.

## ODREĐIVANJE ALKALITETA PEPELA

**PRINCIP** : Alkalitet pepela izražava se u mililitrima molarne otopine HCl. To je broj mililitara molarne otopine HCl koji su potrebni za neutralizaciju svih slobodnih alkalija u jednoj litri vina.

### REAGENSI :

1. 0.1 M HCl
2. 0.1 M NaOH
3. metiloranže

### POSTUPAK :

Nakon vaganja pepela, u porculansku zdjelicu se doda 20 ili 30 ml 0.1 M HCl. Ako je količina pepela 3 g/L dodaje se 20 ml, a ako je preko 3 g/L dodaje se 30 ml HCl. Miješanjem staklenim štapićem pepeo se homogenizira i najvećim dijelom otopi u dodanoj HCl, pa se zatim stavi u vruću vodenu kupelj gdje se zagrijava 5 minuta. Zatim se sadržaj zdjelice prenese kvantitativno u Erlenmayer tikvicu od 200 ml preko staklenog lijevka, a zdjelica se ispere 2-3 puta vrućom destiliranom vodom. Da bi se ustanovila količina solne kiseline vezane s alkalijama, višak kiseline koji se nije vezao neutralizira se titracijom s 0,1 M NaOH, uz dodatak 2-3 kapi metiloranža, do pojave žute boje. Retitracija se vrši s 0,1 M HCl do pojave ružičaste boje. Ova retitracija se provodi zbog toga što je promjena boje indikatora iz žute u ružičastu znatno osjetljivija i jasnija nego iz ružičaste u žutu. Količina utrošene solne kiseline za retitraciju doda se onu količini koja je dodana ranije u pepeo, pa ukupni mililitri 0,1 M HCl predstavljaju alkalitet pepela.

## DEGUSTACIJA VINA

Temperatura degustacije :

- ◆ bijela vina 10 – 12°C
- ◆ crna vina 16 - 18°C
- ◆ pjenušava 5 - 7°C
- ◆ plemenita bijela +14°C

Za stolna i kvalitetna vina sistem bodovanja prilikom degustacije:

- ◆ Ukupno 20 bodova

Karakteristika vina	Raspoloživi bodovi	Ocjena
bistroća	2	
boja	2	
miris	4	
okus	12	
Ukupno :	20	

Ukupni dojam za neko vino:

- ◆ harmonično
- ◆ neharmonično
- ◆ neutralno (neutralan okus)
- ◆ s manama (pokvareno)

Degustira se maksimalno 15-20 uzoraka dnevno slijedećim redoslijedom:

- ◆ prvo mlada
- ◆ zatim starija
- ◆ prvo suha
- ◆ onda s ostatkom šećera

Degustira se u čaši na stalku od tankog kristalnog stakla bez ukrasa.

Za crna vina -----> ocjena boje u zdjelici od srebra (plitka plitica).

## ZADATAK ZA STUDENTE

### Na kraju vježbi u bilježnici mora biti:

1. upisati rezultate mehaničke analize grožđa u tablicu
2. Nacrtati određivanje koncentracije šećera Baboovim moštomjerom i ukratko opisati princip rada
3. Izračunati koliko  $\text{SO}_2$  nastaje od 1 g vinobrana u litru mošta
4. Napisati proračun potrebnog vinobrana za koncentraciju  $\text{SO}_2$  koja je dodana moštu na vježbama
5. Napisati proračun za kvasac dodan moštu na vježbama
6. Računski dokazati kako se došlo do stehiometrijskog koeficijenta 1,2 kojim se množi utrošak 0,1 M NaOH da bi se dobila koncentracija hlapljivih kiselina
7. Izračunati stehiometrijski koeficijent kojim se množi utrošak 0,1 M NaOH da bi se dobila koncentracija ukupnih kiselina izražena u g/L vinske kiseline. Koliko bi iznosio ovaj koeficijent ako bi se za titraciju 25 ml uzorka koristila 0,25 M NaOH?
8. Opisati čemu služi vrelnjača i nacrtati nekoliko izvedbi vrelnjače. Nacrtati kako bi improvizirali vrelnjaču ukoliko je nemate.
9. Grafički prikazati kretanje pojedinih parametara tijekom procesa proizvodnje vina (na istom grafu koncentracija kvasaca, šećera, etanola, ukupnih i hlapljivih kiselina). Što se o tijeku ovog fermentacijskog procesa može zaključiti iz grafa?
10. Napišite tablicu s rezultatima degustacije i popratni komentar.