

Utjecaj roka berbe i vinogradarskog položaja na polifenolni i kiselinski profil mošta kultivara 'Malvazija istarska'

Anđelini, Dominik

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:239563>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-21**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



UTJECAJ ROKA BERBE I VINOGRADARSKOG POLOŽAJA NA POLIFENOLNI I KISELINSKI PROFIL MOŠTA KULTIVARA 'MALVAZIJA ISTARSKA'

DIPLOMSKI RAD

Dominik Anđelini

Zagreb, srpanj, 2020.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Diplomski studij:

Hortikultura – Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ ROKA BERBE I VINOGRADARSKOG POLOŽAJA
NA POLIFENOLNI I KISELINSKI PROFIL MOŠTA
KULTIVARA 'MALVAZIJA ISTARSKA'**

DIPLOMSKI RAD

Dominik Anđelini

Mentor:

Prof.dr.sc. Ana Jeromel

Zagreb, srpanj, 2020.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Dominik Anđelini**, JMBAG 0178104030, rođen 12.07.1996. u Rijeci, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ ROKA BERBE I VIPOGRADARSKOG POLOŽAJA NA POLIFENOLNI I KISELINSKI PROFIL MOŠTA KULTIVARA 'MALVAZIJA ISTARSKA'

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

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Dominik Anđelini**, JMBAG 0178104030, naslova

UTJECAJ ROKA BERBE I VIPOGRADARSKOG POLOŽAJA NA POLIFENOLNI I KISELINSKI

PROFIL MOŠTA KULTIVARA 'MALVAZIJA ISTARSKA'

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Prof.dr.sc. Ana Jeromel mentor _____
2. Doc.dr.sc. Ana Marija Jagatić Korenika član _____
3. Prof.dr.sc. Marko Karoglan član _____

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. Uvod..... | 1 |
| 1.1. Cilj istraživanja..... | 1 |
| 1.2. Hipoteza istraživanja | 2 |
| 2. Pregled literature | 3 |
| 2.1. Vinogradarski položaj | 3 |
| 2.2. Određivanje roka berbe | 3 |
| 2.3. Kemijski sastav grožđa i mošta..... | 3 |
| 2.3.1. Voda..... | 3 |
| 2.3.2. Šećeri | 4 |
| 2.3.3. Organske kiseline | 4 |
| 2.3.4. Fenoli | 6 |
| 2.3.5. Proteini | 7 |
| 2.4. Kretanje sadržaja organskih spojeva s dozrijevanjem | 8 |
| 2.5. Kultivar 'Malvazija istarska' | 9 |
| 3. Materijali i metode..... | 11 |
| 3.1. Objekt istraživanja..... | 11 |
| 3.2. Klimatske prilike | 12 |
| 3.3. Metode rada..... | 12 |
| 3.3.1. Određivanje sadržaja šećera | 13 |
| 3.3.2. Određivanje ukupne kiselosti i pH vrijednosti | 13 |
| 3.3.3. Određivanje sadržaja pojedinačnih organskih kiselina | 13 |
| 3.3.4. Određivanje ukupnog sadržaja fenola | 13 |
| 3.3.5. Određivanje ukupnog sadržaja proteina..... | 13 |
| 4. Rezultati i rasprava..... | 15 |
| 4.1. Sadržaj šećera..... | 15 |
| 4.2. Ukupna kiselost | 16 |
| 4.3. pH vrijednost | 17 |

| | |
|--|----|
| 4.4. Pojedinačne organske kiseline | 18 |
| 4.5. Ukupni fenoli | 19 |
| 4.6. Ukupni proteini..... | 20 |
| 4.7. Rasprava | 21 |
| 5. Zaključak | 22 |
| 6. Popis literature..... | 23 |
| 7. Životopis..... | 26 |

Popis slika

| | |
|--|----|
| Slika 2.1. Podjela fenolnih spojeva | 7 |
| Slika 2.2. 'Malvazija istarska' | 9 |
| Slika 3.1. Karta Istre s lokacijama pokusnih vinograda | 11 |
| Slika 3.2. Vinogradarski položaj 'Križ 2' | 11 |
| Slika 3.3. Qubit instrument za određivanje sadržaja proteina | 14 |

Popis tablica

Tablica 3.1. Oborine po mjesecima u 2019. godini za Pazin i Poreč 12

Tablica 3.2. Vinogradarski položaji i rokovi berbe 12

Popis grafova

Graf 4.1. Sadržaj šećera (°Oe) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u dva roka berbe 15

Graf 4.2. Sadržaj ukupnih kiselina (g/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe 16

Graf 4.3 . Sadržaj ukupnih kiselina (g/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u drugom roku berbe 16

Graf 4.4. pH vrijednost u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u dva roka berbe 17

Graf 4.5. Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina (g/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe 18

Graf 4.6. Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina (g/L) u moštovima kultivar 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u drugom roku berbe 18

Graf 4.7. Sadržaj ukupnih fenola (mg/L) u moštovima kultivara ' Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe 19

Graf 4.8. Sadržaj ukupnih fenola (mg/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe 19

Graf 4.9. Sadržaj ukupnih proteina (mg/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe 20

Graf 4.10. Sadržaj ukupnih proteina (mg/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u drugom roku berbe 20

Sažetak

Diplomskog rada studenta Dominika Anđelinija, naslova

UTJECAJ ROKA BERBE I VIENOGRADARSKOG POLOŽAJA NA POLIFENOLNI I KISELINSKI PROFIL MOŠTA KULTIVARA 'MALVAZIJA ISTARSKA'

Cilj ovog istraživanja bio je analizirati utjecaj roka berbe i vinogradarskog položaja, prvenstveno na polifenolni i kiselinski profil mošta kultivara 'Malvazija istarska', ali i na sadržaj šećera, pH te ukupne i pojedinačne organske kiseline. Istraživanje je provedeno na tri vinogradarska položaja 'Draškove njive', 'Križ 1' i 'Križ 2' u vinogradarskoj podregiji Hrvatska Istra. U jesen 2019. godine grožđe je pobrano u dva roka s razmakom 15-ak dana. Kemijska analiza mošta provedena je na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta u Zagrebu. 'Križ 1' imao je najveću-ukupnu kiselost, sadržaj ukupnih fenola, ukupnih proteina i vinske kiseline te najniži pH. 'Draškove njive' imao je viši sadržaj šećera, te manje koncentracije ukupnih proteina i pojedinačnih organskih kiselina. Dobiveni rezultati ovog istraživanja potvrdili su utjecaj vinogradarskog položaja i roka berbe na kvalitetu grožđa te mogu poslužiti vinarima u određivanju roka berbe.

Ključne riječi: 'Malvazija istarska', vinogradarski položaj, rok berbe, polifenoli, kiselinski profil

Summary

Of the master's thesis – student **Dominik Anđelini**, entitled

THE INFLUENCE OF HARVEST DATE AND VINEYARD POSITION ON POLYPHENOL AND ACIDIC PROFILE OF MUST OF CULTIVAR 'MALVAZIJA ISTARSKA'

The aim of this study was to analyze the impact of harvest date and vineyard position on the polyphenolic and acidic profile, sugar content, pH and total and individual organic acids of the must of the cultivar 'Malvazija istarska'. The research was conducted on three vineyard positions 'Draškove njive', 'Križ 1' and 'Križ 2' in the subregion Hrvatska Istra. In 2019, the harvest took place in two terms with 15 days interval. Chemical analysis of the must were done at the Department of Viticulture and Enology, Faculty of Agriculture in Zagreb. 'Križ 1' had the highest levels of total acidity, total phenols, total proteins, tartaric acid content and lower levels of pH. 'Draškove njive' had a higher sugar content, and a lower content of total proteins and organic acids. The results of this research confirmed the effect of vineyard position and harvest date on the quality of grapes and can serve winemakers in determining the harvest date.

Keywords: 'Malvazija istarska', vineyard position, harvest date, polyphenols, acidic profile

1. Uvod

Istra je jedna od najistaknutijih vinogradarskih podregija u Hrvatskoj. Najzastupljenija bijela sorta u uzgoju, a također i kultivar oko kojega istarski vinari najviše ulažu truda, je 'Malvazija istarska'. U vinogradarsko-vinarskoj proizvodnji sve je češći problem ekstremnih vremenskih uvjeta te sa sigurnošću možemo reći kako se klima vrlo brzo mijenja. Kao rezultat pojavljuje se problem u dozrijevanju grožđa pa često imamo neuravnoteženo kretanje glavnih parametara kvalitete grožđa. Vinogradari tim problemima doskaču enološkim preparatima, ali i opreznijim i predanijim radom u vinogradu tijekom vegetacije te pravilnim odabirom roka berbe. Upravo definiranjem pravilnog trenutka berbe postiže se optimalniji sadržaj pojedinačnih komponenata u moštu te je uz malo truda intervencija vinara dodavanjem enoloških sredstava minimalna, a što ima za posljedicu jeftiniju proizvodnju, ali i kvalitetniji krajnji proizvod. Također neka enološka sredstva uzrokuju alergijske reakcije kod pojedinih osoba, pa je njihovo izostavljanje iz upotrebe korisno i u pogledu zdravlja konzumenata.

Hrvatska Istra, kao vinogradarska podregija, sve više svoju vinsku priču temelji na klimatsko-pedološkim razlikama. Istarski vinogradari pomno biraju vinogradarski položaj prije podizanja vinograda. U konačnu odluku uključeni su ekspozicija i inklinacija, tip i ishranjenost tla, konfiguracija terena, klimatske prilike te blizina podruma. Često vinogradari odaberu vrhunsku lokaciju i svojim vrijednim radom uzgoje grožđe vrhunske kvalitete, no problem određivanja roka berbe je kod nekih istarskih vinara prisutan. Rok berbe ne možemo određivati fiksno datumski već ga moramo prilagoditi klimatskim prilikama u tekućoj vegetacijskoj godini i položaju, tipu vina kojeg želimo proizvesti, a često i organizaciji i vremenskim prilikama u tijeku berbe.

Još je davne 1957. godine Lenz Moser napisao: „*Napredak vinogradarstva ovisan je, dakle, samo o stupnju naobrazbe vinogradara. Zbog toga se ne može ni očekivati da će se vinogradarstvo razvijati u velikim skokovima*“. Pod time se mislilo na učenje i primjenjivanje novih tehnologija u svojim vinogradima, ali i propitkivanje vlastitog načina rada te provođenje vlastitih pokusa u cilju napretka. Svaki vinogradar bi trebao biti „*majstor*“ u svojim vinogradima i znati ih „*u dušu*“.

1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utječe li i u kojoj mjeri rok berbe grožđa i vinogradarski položaj na sadržaj šećera, ukupnu kiselost, pH, koncentracije pojedinačnih organskih kiselina, polifenolni sastav i sadržaj proteina u moštu kultivara 'Malvazija istarska'. Rezultatima ovog istraživanja nastojati će se pomoći vinogradarima i vinarima u proizvodnji kako bi vino, kao konačni proizvod, dobilo na kvaliteti uz reducirane enološke intervencije, a samim time i troškove, od strane vinara.

1.2. Hipoteza istraživanja

Brojnim istraživanjima dokazano je kako je rok berbe iznimno važan i kako se proučavana svojstva mijenjaju s dozrijevanjem. Pretpostavka je da će različiti rokovi berbe i tip tla utjecati na osnovni fizikalno-kemijski sastav, koncentracije pojedinačnih organskih kiselina, ukupnih proteina te polifenolni profil mošta 'Malvazije istarske'.

2. Pregled literature

Mehanički sastav grozda svojstven je svakoj sorti, a čine ga peteljkovina te bobica koja se sastoji od kožice, sjemenke i mesa (Herjavec, 2019). Od godine do godine struktura grozda mijenja se pod utjecajem klimatskih uvjeta i primjene agrotehnike, koji djeluju na vegetacijski ciklus, a time na bujnost trsa, prirod i kakvoću grožđa (Zoričić, 1996).

2.1. Vinogradarski položaj

Fazinić (1971) te Mirošević i Karoglan Kontić (2008) iznose kako će često položaj biti dominantan čimbenik prinosa i kakvoće grožđa. Također iznose kako će na izbor položaja utjecati klimatski i pedološki uvjeti, a često i uvjeti mezoklime¹. Na uzgoj vinove loze utječu geografska širina i nadmorska visina. Kada se govori o položaju, misli se na reljef, izloženost terena, njegov nagib i ostale posrednike koji čine cjelinu nekog proizvodnog prostora. Najboljim položajima za vinograde smatraju se brežuljkasti tereni (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Fazinić (1971) navodi kako ekspozicija može mijenjati značenje položaja geografske širine i utjecati u toj mjeri više, što se nasad nalazi bliže krajnjoj granici uzgoja vinove loze. Burić (1981) iznosi kako je prosječno opadanje temperature s porastom temperature 0,56 °C na svakih 100 metara. Mirošević i Karoglan Kontić (2008) napominju kako je loza na brežuljkastim položajima manje izvrnuta posljedicama smrzavanja, magli i visokoj relativnoj vlazi zraka, kao preduvjetima većeg intenziteta napada gljivičnih bolesti te je bolje prozračivanje, bolje i jače osvjetljenje, a time i kakvoća grožđa u odnosu na ravničarskih položaja.

Van Leeuwen i sur. (2004) iz provedenog višegodišnjeg istraživanja utjecaja tri glavne komponente „terroir“-a – tla, klime i kultivara na kvalitetu grožđa utvrđuju kako je utjecaj klime i tla bio veći od utjecaja kultivara.

2.2. Određivanje roka berbe

Licul i Premužić (1993) te Mirošević i Karoglan Kontić (2008) iznose kako se berba vrši kada je grožđe dostiglo tehnološku zrelost², a zrelost grožđa određuje se prema izgledu i organoleptički, kemijskom analizom i fizikalno-kemijskim metodama. U novije se vrijeme, kod određivanja roka berbe, u obzir uzimaju i sadržaj fenola, naročito kod crnih sorata te sadržaj proteina i pojedinačnih organskih kiselina.

2.3. Kemijski sastav grožđa i mošta

2.3.1. Voda

Kao otapalo asimilata u bobici voda igra značajnu ulogu u životnim funkcijama ovog organa vinove loze. Količina vode u moštu se kreće u širokim granicama od 60 do 90%, ili u prosjeku 80% (Radovanović, 1970). Sadržaj vode u moštu uvelike ovisi o sorti, stupnju zrelosti grožđa

¹ Mezoklima – klima nekog uskog područja (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008)

² Tehnološka zrelost ovisi o namjeni grožđa, te se ona može i ne mora poklapati s punom zrelosti koja je određena prestankom promjena sadržaja šećera i kiselina u bobicama (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008)

(...), agrotehničkim i ampelotehničkim postupcima, terroir-a i načinu vinifikacije (Herjavec, 2019).

2.3.2. Šećeri

Prema Radovanoviću (1970) ugljikohidrati se nalaze odmah iza vode po udjelu u bobici. Ugljikohidrati se formiraju u procesu fotosinteze u kloroplastima iz ugljikovog dioksida i vode djelovanjem sunčeve svjetlosti (Herjavec, 2019). Radovanović (1970) navodi kako se ovaj proces kod vinove loze najvećim dijelom odvija u lišću, a djelomično i u ostalim zelenim dijelovima trsa, među kojima sudjeluje i bobica dok je zelena i u sebi ima klorofila. Šećeri (saharidi) su tipični ugljikohidrati, a s obzirom na broj monomernih jedinica se dijele na monosaharide, oligosaharide i polisaharide. U skupinu monosaharida ubrajaju se pentoze te količinski najzastupljeniji i najznačajniji šećeri heksoze – glukoza i fruktoza (Herjavec, 2019).

2.3.3. Organske kiseline

Uz nakupljanje šećera, smanjenje kiselosti je kvantitativno najznačajnija kemijska promjena tijekom dozrijevanja (Jackson, 2008).

Organske kiseline i ukupna kiselost igraju glavnu ulogu u osjetilnoj percepciji vina i izravno utječu na cjelokupni organoleptički karakter vina. Pojedinačne organske kiseline zastupljene u grožđu imaju različita organoleptička svojstva, pa utjecaj organskih kiselina stoga nije povezan samo s ukupnom kiselošću i pH, već i specifičnom koncentracijom svake kiseline u vinu (Chidi i sur., 2018).

Općenito, jabučna, limunska i vinska kiselina su primarne kiseline u grožđu, a te kiseline također doprinose najvišem udjelu kiselosti (poznatom kao titracijska kiselost) u konačnom vinu (Chidi i sur., 2018).

Kako grožđe dozrijeva, koncentracija šećera se uglavnom povećava dok kiselost opada. Dokazano je da grožđe iz hladnijih vinskih regija uglavnom ima višu razinu kiselosti, što se može pripisati sporijem dozrijevanju grožđa u usporedbi s grožđem iz područja toplijih podneblja (Chidi i sur., 2018).

Kiselost je glavni pokretač važnih upravljačkih odluka vezanih za rizike kontaminacije i senzorna svojstva. U pogledu rizika od onečišćenja, poznato je da niži sadržaj kiselina i veći pH općenito pogoduju rastu mikroorganizama, uključujući nekoliko vrsta neželjenih koji uzrokuju kvarenja (Chidi i sur., 2018). Kiselost i pH također su središnja obilježja senzornih svojstava vina, iako pH i kiselinski okus nisu uvijek izravno povezani. Iz tog razloga prilagodba kiseline u moštu presudan je dio proizvodnje vina. Herjavec (2019), a prema Pravilniku o proizvodnji vina RH, navodi kako ukupna kiselost vina u prometu mora iznositi najmanje 4 g/L, a najviše 14 g/L.

Vinska kiselina

Prema Chidi i sur. (2018) grožđe, za razliku od drugog voća, sadrži značajne količine vinske kiseline. Vinska kiselina je dikarboksilna kiselina i najjača organska kiselina grožđa, mošta i vina, a sadrže je svi zeleni dijelovi vinove loze (Herjavec, 2019).

Chidi i sur.(2018) navode kako se vinska kiselina smatra glavnim doprinosom kiselosti vina i daje opor okus vinu, također vinska kiselina se ne metabolizira u bobicama putem disanja na isti način kao i jabučna kiselina, a razina vinske kiseline u grožđu ostaje relativno konzistentna tijekom cijelog procesa dozrijevanja. Koncentracija vinske kiseline u grožđu uvelike ovisi o sorti grožđa i sastavu tla vinograda. Razine se obično kreću od 4,5 do 10 g/L na kraju vegetativne faze rasta grožđa (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). U hladnim klimatima uobičajeno se dosežu koncentracije veće od 6 g/L, dok se niske razine od 2 do 4 g/L češće primjećuju u toplim klimatima (Chidi i sur., 2018). Zbog svoje stabilnosti i činjenice da kvasac i drugi mikroorganizmi nisu u mogućnosti metabolizirati vinsku kiselinu, upravo se ta kiselina najčešće koristi za korekciju pH u vinskoj industriji.

Jabučna kiselina

Ova je kiselina lako topiva u vodi i alkoholu; optički je aktivna i u grožđu se nalazi kao L-jabučna kiselina (Radovanović, 1970). L-jabučna se kiselina, kako navode Chidi i sur. (2018), često nalazi u mnogim plodovima, uključujući zelene jabuke i grožđe, a zrelo grožđe sadrži između 4 i 6,5 g/L L-jabučne kiseline u sjevernim krajevima, dok se u južnim sadržaj kreće između 1 i 2 g/L (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Kao proizvod nepotpune oksidacije šećera u lišću jabučna kiselina prelazi u bobicu gdje i sama podliježe oksidaciji uz nastajanje krajnjih proizvoda, vode i ugljikovog dioksida.

Jabučna kiselina je dikarboksilna kiselina i proizvod je nepotpune oksidacije šećera u lišću te služi kao energetski materijal za proces disanja u bobici (Herjavec, 2019). U pogledu korištenja jabučne kiseline u toku disanja bobice pojedine se sorte dosta razlikuju među sobom, tako da ima sorti koje jače „sagorijevaju“ ovu kiselinu, dok se kod drugih ovaj proces odvija slabije(Radovanović, 1970.) Herjavec (2019) navodi kako manja količina nastaje iz limunske kiseline koja iz korijena prelazi u bobicu te se pretvara u jabučnu kiselinu. Ista autorica navodi kako je pri višim temperaturama disanje bobica intenzivnije te se jabučna kiselina, kao jak metabolit, razgrađuje na vodu i ugljikov dioksid. Prema Chidi i sur. (2008) prekomjerne količine jabučne kiseline (15 do 16 g/L) mogu biti prisutne u grožđu ubranom iz izuzetno hladnih klimatskih područja. Prije šare, sadržaj jabučne kiseline može doseći i do 25 g/L, ali dozrijevanjem se smanji na 2 do 6,5 g/L (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). U grožđu i moštu nalazi se manje kao slobodna, a više u obliku soli malata, od kojih su najviše zastupljene soli kalija, kalcija i magnezija (Radovanović, 1970). Chidi i sur. (2008) spominju mogućnost pojave kiselog okusa vina u slučaju previsoke razine jabučne kiseline pa takva vina mogu zahtijevati upotrebu bakterija mliječno-kiselog vrenja u svrhu pretvorbe jabučne kiseline u manje oštru i mekšu mliječnu kiselinu. Jackson (2008) iznosi kako vinska i jabučna kiselina zajedno čine 70-90% kiselinskog sadržaja u bobici.

Limunska kiselina

Limunska kiselina je trikarboksilna kiselina koja se sintetizira u procesu glikolize, u Krebsovom ciklusu, ciklusima glioksalne kiseline te šikiminske kiseline. Također, mogu je sintetizirati plijesni iz šećera (Herjavec, 2019).

Chidi i sur. (2018) navode kako je limunska kiselina posrednik TCA ciklusa i široko rasprostranjena u prirodi (npr. u limunima). Isti autori iznose kako ona igra važnu ulogu u biokemijskim procesima stanica bobica, bakterija i kvasca. Također, visoke razine limunske kiseline tijekom fermentacije mogu dovesti do sporijeg rasta kvasca. Međutim, koncentracije limunske kiseline u moštu i vinu prije malolaktične fermentacije obično su relativno niske, između 0,5 i 1 g/L (Chidi i sur., 2018). Dodavanje limunske kiseline tijekom fermentacije utječe na kiselost i okus vina potičući percepciju „svježine“, dok istodobno povećava mikrobnu nestabilnost i razvoj neželjenih mikroorganizama. Pravilnikom o proizvodnji vina RH dopušteno je dokiseljavanje limunskom kiselinom koja u vinima s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom ne smije premašiti 1 g/L (Herjavec, 2019).

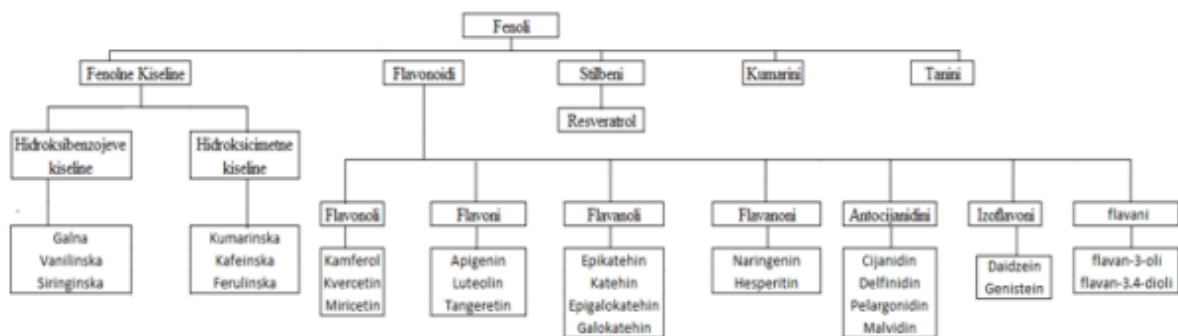
2.3.4. Fenoli

Fenoli su derivati benzena u čijem je prstenu jedan ili više vodikovih atoma zamijenjen s OH skupinom. To su raznolike i vrlo složene, ali građom međusobno slične tvari koje se (kao istovrsne ili raznovrsne) najčešće međusobno višestruko vezuju (polifenoli) tvoreći bojila i mnoge složene spojeve trpka i opora okusa koje u tijeku vinifikacije iz grožđa prelaze u mošt i vino, značajno utječući na njegova organoleptička svojstva, tijekom zrenja, starenja, stabilnost vina (lomove), te na njegovu prehrambenu i ljekovitu učinkovitost. Najveće količine fenolnih spojeva nalaze se u sjemenci grožđa, manje u kožici, a najmanje u soku (Vinopedia – pristup 20.06.2020.)

Kennedy i sur.(2007) navode kako se dosadašnja istraživanja vezana uz fenole grožđa i vina mogu podijeliti u tri široka područja: sinteza fenolnih spojeva u vinogradu, ekstrakcija i promjene fenolnih spojeva tijekom vinifikacije i fenolni spojevi tijekom dozrijevanja. Isti autori navode kako je identifikacija fenolnih spojeva u grožđu i vinu započela krajem 19. stoljeća te su se istraživanja i metode identifikacije razvijale zajedno s analitičkom kemijom. Dolazi se do mnogih novih saznanja na temu fenola pa su tako Simón i sur. (1992) pronašli dvadeset i pet molekula fenola male molekulske mase u kultivaru Cencibel (Tempranillo) u različitim koncentracijama.

Pojedinačni predstavnici fenola raspoređeni su u različitim dijelovima bobice grožđa. Najviše se ekstrahira iz pokožice, a nešto manje iz sjemena grožđa. Ipak, Cosme i sur. (2018) navode kako se ukupan sadržaj fenola u moštu kreće od 400 do 3000 mg/L, ovisno o sorti, dozrelosti, geografskom porijeklu i tipu tla, izloženosti suncu, ali i procesu prerade grožđa poput muljanja, dužine trajanja kontakta između mošta i čvrstih dijelova grozda, prešanja, termalnih i enzimatskih tretmana. Isti autori navode kako dodatak sumporovog dioksida i vinske kiseline utječe na količinu i prirodu fenolnih spojeva u moštu. Danas je veliki broj istraživanja usmjeren prema promjenama fenola s dozrijevanjem i starenjem vina. Prema Kennedy i sur. (2006) fenolni spojevi su od presudne važnosti za kvalitetu svih vina, a određivanje utjecaja pojedinih fenolnih spojeva na senzorna svojstva vina veliki je izazov znanstvenoj zajednici.

Ukupni fenoli se prema njihovoj kemijskoj strukturi dijele na flavonoide i neflavonoide. Flavonoide dijelimo na antocijanidine, flavonole i flavan-3-ole, dok neflavonoide dijelimo na hidrobenzojeve i hidroksicimete kiseline, hlapive fenole i stilbene.



Slika 2.1. Podjela fenolnih spojeva

(Izvor: <https://repozitorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf%3A88/datastream/PDF/view>, pristup: 25.6.2020.)

2.3.5. Proteini

Najveća količina proteina koji se nalaze u vinu dolazi iz grožđa (Herjavec, 2019), dok su neki oslobođeni iz kvasca ili bakterija (Miloš, 2016). Sorta, godina, stupanj zrelosti, zdravstveno stanje grožđa, pH i vinifikacija utječu na sadržaj proteina u moštu i vinu (Rivard, 2009). Količina proteina u grožđu varira od 100 do 800 mg/L, čak prema nekim autorima do 2400 mg/L (Herjavec, 2019). Proteini se dijele na nestabilne; taumatin tip proteina (TLP), hitinaze i β -glukanaze te stabilne; manoproteini, invertaze, glikoproteini i proteoglikani.

Proteini grožđa koji se nalaze u vinu su uglavnom proteini vezani uz patogenezu. Formiraju se u biljkama kao otpor protiv gljivičnih patogena i proizvode se zbog njihovog potencijala kao bio-kontrolnih agenata. Nastaju akumulacijom u bobicama grožđa tijekom zrenja i izražava se kao rezultat biološkog ili abiotskog stresa. Ovi proteini su vrlo otporni na proteolitičke napade i nizak pH vina, iz tih razloga ne nestaju tijekom vinifikacije i ostaju u vinu, te se spominju kao potencijalni alergeni grožđa i vina (Miloš, 2016).

Pocock i sur. (2000) navode kako kvaliteta bijelih vina može biti narušena pojavom taloga i mutnoće nakon punjenja u boce, a koji su često rezultat denaturacije proteina u vinu, a što je isključivo estetski problem (Van Sluyter i sur., 2015). Proteini dolaze u interakciju s metalima, taninima, polisaharidima te enološkim sredstvima poput bentonita³ i karboksimetil celuloze (Sommer i sur., 2019). Topljivost proteina vina ovisi o temperaturi, koncentraciji alkohola i pH-vrijednosti. Proteini u bijelim vinima mogu agregirati i stvoriti nestabilnost na sobnoj temperaturi pa se nestabilnost često javlja kod loših uvjeta transporta i skladištenja. U kombinaciji s ionskom snagom i temperaturnim uvjetima, pH vina može kod jednih vina poticati, a kod drugih spriječiti pojavu nestabilnosti. Uz niži pH potrebna je viša temperatura kako bi se pojavila nestabilnost (Van Sluyter i sur., 2015). Promjene u bilo kojem od tih parametara mogu dovesti do taloženja proteina u vinu. Stoga u bijelim i ružičastim vinima koja sadrže manje polifenola od crnih, prije punjenja u boce obavezno treba provjeriti stabilnost na proteine (Herjavec, 2019).

³ Bentonit - trgovački naziv hidratiziranog alumosilikata. Zbog svojih adsorptivnih i elektrostatičkih svojstava izaziva taloženje albumoza i ostalih termolabilnih bjelančevina iz mošta i vina te time pridonosi stabilnosti vina (Vinopedia, pristup: 30.06.2020.).

Razina proteina pri kojoj će vina ostati stabilna nije utvrđena. Približno polovica ukupnih proteina u vinu veže se na manji dio fenola i za taj proces se vjeruje kako glavni uzrok zamućenja vina. Proteini nastali radom kvasaca u fermentaciji i kontakt vina sa talogom ne utječu na proteinsku nestabilnost (Rivard, 2009). Povišene temperature mogu povećati interakcije između polifenola i proteina jer će povećane temperature povećati broj hidrofobnih mjesta, kao i intenzitet hidrofobnih interakcija.

Van Sluyter i sur. (2015) navode kako se proteini iz vina uspješno uklanjaju pomoću dodatka bentonita, nedovoljno efikasnog enološkog preparata koji može povećati troškove proizvodnje te utjecati na smanjenje kvalitete vina. Degradacija kvalitete i gubitak vina korištenjem bentonita u svijetu je procijenjen na otprilike milijardu američkih dolara godišnje.

2.4. Kretanje sadržaja organskih spojeva s dozrijevanjem

Jackson (2008) iznosi kako se veliki pomak u metabolizmu događa istodobno s promjenom boje bobica u šari te kako je izvan svake sumnje da su regulatori rasta zaslužni za kontrolu ovih promjena.

U početnim fazama razvoja bobica, velik dio ugljikohidrata koji se koristi u rastu sintetizira sama bobica. Kako se bobica povećava i prilazi šari, okolni listovi preuzimaju uloga glavnog izvora ugljikohidrata. Deblo i krakovi loze mogu povremeno djelovati i kao važni izvori ugljikohidrata. Procijenjeno je da do 40% ugljikohidrata nakupljenih u grožđu može biti iz trajnih, drvenastih dijelova loze (Jackson, 2008).

Akumulacija šećera posebno je obilježena u razdoblju nakon šare bobice. To se podudara s izraženim smanjenjem intenziteta glikolize. Kako se rast meristema u ovom trenutku obično drastično usporava, moguće je veliko preusmjerenje asimilata vinove loze prema grozđu (Jackson, 2008).

Do trenutka dolaska do bobice, većina saharoze se hidrolizira u glukozu i fruktozu. Iako invertaza stvara jednake količine glukoze i fruktoze iz saharoze, razine ova dva šećera rijetko su jednake u plodu. U mladim bobicama, udio glukoze je uglavnom veći. Tijekom dozrijevanja veće je nakupljanje fruktoze od glukoze. Dozrijevanjem, ako ne i prije, fruktoze je malo više od glukoze. Razlog toj neravnoteži je neutvrđen, ali može potjecati od razlike u metabolizmu glukoze i fruktoze, ili selektivne sinteze fruktoze iz jabučne kiseline (Jackson, 2008).

Stupanj i priroda pretvorbe kiselina mogu se uvelike razlikovati, ovisno o sorti i okolišnim čimbenicima. Unatoč tome, obično se primjećuje nekoliko glavnih trendova. Nakon početne, intenzivne sinteze vinske kiseline koncentracije i vinske i jabučne kiseline polako se povećavaju sve do šare. Nakon toga, količina vinske kiseline ima tendenciju stabilizacije, dok jabučna kiselina opada. Pretpostavlja se da početno nakupljanje jabučne kiseline djeluje kao rezervna hranjiva supstanca koja zamjenjuje glukozu kao glavni supstrat za disanje nakon šare. To bi objasnilo česti brzi pad sadržaja jabučne kiseline u kasnijim fazama dozrijevanja. Međutim, ostavlja neobjašnjiv spori pad sadržaja jabučne kiseline karakterističan za vinovu lozu uzgajanu u hladnom podneblju (Jackson, 2008). Herjavec (2019) navodi kako u fazi rasta zelena bobica sadrži 15 – 25 g/L jabučne kiseline, nakon šare koncentracija se smanjuje te u punoj zrelosti sadrži 3 – 5 g/L. Od iste autorice saznajemo kako u zreloom grožđu koncentracija jabučne kiseline raste od periferije prema centru bobice.

Odavno je poznato da grožđe uzgojeno u toplim klimatima često metabolizira svu svoju jabučnu kiselinu prije berbe. Suprotno tome, grožđe uzgojeno u hladnim klimama može zadržati većinu svoje jabučne kiseline u zrelosti. Iako izlaganje visokim temperaturama aktivira enzime koji kataboliziraju jabučnu kiselinu, to samo po sebi izgleda nedovoljno za objašnjenje utjecaja temperature na sadržaj jabučne kiseline u bobici. Smanjena sinteza i eventualno povišena glukoneogeneza mogu također igrati ulogu u padu sadržaja jabučne kiseline, a snaga vigora je još jedan čimbenik koji može imati utjecaj na sadržaj kiselina u grožđu (Jackson, 2008). Povećani omjer površine lista u odnosu na plod povezuje se također sa smanjenom kiselošću grožđa i većim pH. Ta veza se obično pripisuje zasjenjivanju lišća i grožđa povezanih s pojačanim vigorom. Unatoč tome, pokusi u kojima je spriječeno zasjenjivanje pokazali su izravan učinak vigora na smanjenu kvalitetu grožđa (niži °Brix, viši pH i niža kiselost), (Jackson, 2008).

2.5. Kultivar 'Malvazija istarska'

Sinonimi: Malvazija, Malvazija bijela, Malvasia istriana, Malvasia, Istarska Malvazija, Istrian Malvasia, Malvasia d'Istria, Malvasia bianca

Maletić i sur. (2015) navode kako podrijetlo 'Malvazije istarske' dosad nije utvrđeno te se smatra autohtonom i tipičnom sortom Istre. Isti autori tvrde kako pretpostavka da 'Malvazija istarska' potječe iz Grčke nije potvrđena te kako genetička i morfološka istraživanja nisu pokazala identičnost ili srodnost 'Malvazije istarske' s nekom od grčkih sorata ili s nekom drugom poznatom sortom. Prvi pisani podaci o uzgoju 'Malvazije' u Istri potječu tek iz 1891. godine, a odnose se na izložena vina na izložbi vina u Zagrebu.



Slika 2.2. 'Malvazija istarska'
(izvor: Dominik Anđelini, 2019)

'Malvazija istarska' s vegetacijom počinje kasno i dozrijeva u III. razdoblju. Rast je vrlo bujan, pogotovo u uvjetima dubokih i plodnih tala s većom dostupnošću vode. 'Malvazija istarska' sklona je jačem osipanju ako tijekom cvatnje nastupe kišni i hladni uvjeti (Maletić i sur., 2015).

Ima jak trs s dugim mladicama i internodijima. List je srednje velik do velik, trodijelan s istaknutim župcima. Plojka lista je glatka i svijetlozelene boje, s donje strane glatka. Grozd je srednje velik, rastresit do umjereno zbijen, obično s jednim krilom. Bobica je srednje velika do krupna, okrugla, zelenožute boje, a u punoj zrelosti i na osunčanoj strani zlatnožute. Kožica je pokrivena sivim maškom s izraženom vršnom točkicom. Meso je sočno i ugodnog slatkog okusa. U prosjeku akumulira 17 – 22 % šećera i 5 – 7 g/L ukupnih kiselina (www.vinistra.com – pristupljeno 18.6.2020.).

Maletić i sur.(2015) navode kako 'Malvazija istarska' jako dobro uspijeva i na crvenici i na flišnim terenima, ali najbolje rezultate daje na brdovitim flišnim položajima južne i jugozapadne ekspozicije. Isti autori kada pričaju o vinu navode kako 'Malvazija istarska' daje vina svijetle, slamnatožute boje s izraženom zelenkastom nijansom. O mirisu kažu kako je pretežito voćno-cvjetni, s karakterističnom sortnom aromom bagremovog cvijeta, zelene jabuke i badema.

Tek se nakon Prvog svjetskog rata u Istri počinju brže širiti bijele sorte, pa tako i 'Malvazija istarska'. Nakon Drugog svjetskog rata udio 'Malvazije istarske' u Istri premašuje 40 posto površina, dok se danas uzgaja na nešto manje od 60 posto ukupnih vinogradarskih površina Istre. 'Malvazija istarska' u najvećoj se mjeri uzgaja u podregiji Hrvatska Istra, gdje je vodeća sorta u proizvodnji. Osim toga, u manjoj se mjeri uzgaja i u podregiji Hrvatsko primorje, a posljednjih se godina u manjoj mjeri sadi i u nekim ostalim vinogradarskim podregijama Hrvatske. Izvan Hrvatske se u većoj mjeri uzgaja u primorskom dijelu Slovenije, u prvom redu u podregiji Slovenska Istra te u talijanskoj regiji Friuli. Zahvaljujući visokoj reputaciji koju je stekla posljednjih godina, počela se saditi i u ostalim svjetskim vinogradarskim regijama, iako zasad u maloj mjeri (Maletić i sur., 2015).

Maletić i sur. (2015) iznose kako 'Malvazija istarska' ima visoku gospodarsku vrijednost budući da objedinjuje dobru rodnost s visokom kvalitetom grožđa i vina, a osim toga ima i izraženu tipičnost i prepoznatljivost vezanu za područje Istre i okolice. Zoričić (1996) navodi kako se od malvazije proizvode različiti tipovi vina, od suhih do poluslatkih i slatkih vina, od laganih i svijetlih do jakih i intenzivno obojenih vina. Uvidom u tržište istarskih vina možemo primijetiti kako je danas paleta različitih tipova vina od kultivara 'Malvazija istarska' veoma različita te se, uz prethodno navedene, sve više proizvode i pjenušci od 'Malvazije istarske'. U pjenušcima, ali i u ostalim tipovima vina vrlo se dobro slaže u kupažama s mnogim internacionalnim kultivarima.

Prema podacima iz vinogradarskog registra za 2019. godinu od ukupno 19.022,09 hektara pod vinogradima u Hrvatskoj, u Istarskoj županiji nalazi se 2.926,92 hektara. Najviše je 'Malvazije istarske' s 6.860.042 trsova na 1.643,23 hektara što je po površini svrstava na drugo mjesto iza 'Graševine'. Od 'Malvazije istarske' se u 2019. godini napravilo 70.087,60 litara vina (APPRRR – pristup 15.6.2020.).

3. Materijali i metode

3.1. Objekt istraživanja

Istraživanje je provedeno na uzorcima moštava kultivara 'Malvazija istarska' u vinogradarskoj podregiji Hrvatska Istra, u Centralnom i Zapadnom vinogorju.

Pokusni vinograd 'Draškove njive' se nalazi pokraj sela Radovani, južno od Višnjana na tipičnoj dubokoj crvenici i u vlasništvu je Vinarije Radovan. Nalazi se na 260 metara nadmorske visine, redovi su smjera sjever-jug, ekspozicija je blago zapadna.



Slika 3.1. Karta Istre s označenim lokacijama pokusnih vinograda

(izvor: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e9/Istra - blank.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e9/Istra_-_blank.jpg); prilagodio Anđelini, D.)

Pokusni vinograd 'Križ' se nalazi na Lindarskom Križu jugoistočno od Pazina. Tip tla je polovično rendzina na flišu (oznaka 'Križ 1') te polovično eutrično smeđe na flišu (oznaka 'Križ 2'). U vlasništvu je Vinarije Anđelini. Nalazi se na 450 metara nadmorske visine, redovi su smjera sjever-jug, blage istočne ekspozicije.



Slika 3.2. Vinogradarski položaj 'Križ 2'

(izvor: Dominik Anđelini, 2020)

3.2. Klimatske prilike

Mirošević i Karoglan Kontić (2008) navode kako su područja čija je srednja godišnja temperatura između 10 i 20 °C načelno povoljna za uzgoj vinove loze. Srednja godišnja temperatura u Pazinu u klimatološkom razdoblju 1961.-1990. iznosi 11,0°C (Sijerković, 2011). Srednja godišnja temperatura u Višnjanu iznosi 13,4 °C (<https://hr.wikipedia.org/wiki/Vi%C5%A1njan> – pristup 18.6.2020.). Prema Mirošević i Karoglan Kontić (2008) najniža količina oborina koja je potrebna u proizvodnji grožđa iznosi 300 – 350 mm, a najpovoljnija 600 – 800 mm. U Pazinu, prema podacima vremenskih motrenja u razdoblju 1961.-1990., godišnje padne 1167 mm oborina (Sijerković, 2011), dok na području Višnjana godišnje padne 700 – 800 mm (<https://hr.wikipedia.org/wiki/Vi%C5%A1njan> – pristup 18.6.2020.).

Tablica 3.1. Oborine po mjesecima u 2019. godini za Pazin i Poreč (izvor: DHMZ – pristup 18.6.2020.)

| Postaja/ mj. | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | 2019 (mm) |
|--------------|------|-------|------|-------|-------|------|------|------|-------|------|-------|-------|-----------|
| Pazin | 30,3 | 151,2 | 23,4 | 135,1 | 295,1 | 26,0 | 72,6 | 96,7 | 90,5 | 26,4 | 320,3 | 230,4 | 1.498,0 |
| Poreč | 24,1 | 58,4 | 10,6 | 116,1 | 210,0 | 7,3 | 58,7 | 68,2 | 143,2 | 38,6 | 237,5 | 185,1 | 1.157,8 |

3.3. Metode rada

Grozдови su brani u dvije faze; 15-ak dana prije pune zrelosti te u trenutku pune zrelosti. Termin berbe prikazani su u tablici 3.2.

Tablica 3.2. Vinogradarski položaji i datumi rokova berbe

| Lokalitet | Prvi rok berbe | Drugi rok berbe |
|------------------|----------------|-----------------|
| 'Draškove njive' | 30.8. | 15.9. |
| 'Križ 1' | 4.9. | 23.9. |
| 'Križ 2' | 7.9. | 23.9. |

Grozдови su brani nasumično iz proizvodnih vinograda na način da su se sa odabranih mladica pobrali svi grozдови. Grožđe je zatim ručno izmuljano te je masulj procijeđen i isprešan kroz krpu kako bi se odvojio od čvrstih dijelova zbog lakših analiza. Od svakog uzorkovanja dobivena je jedna litra reprezentativnog mošta u kojem je odmah izmjeren šećer te se ostatak zaledio do trenutka preostalih kemijskih analiza.

Kod proučavanja rezultata treba uzeti u obzir kako je mošt određeno vrijeme bio zaleđen pa su vrijednosti nekih proučavanih svojstava nešto niže nego u svježem moštu. Ipak, do smanjenja je podjednako došlo kod svih uzoraka te se stoga dobiveni rezultati smatraju relevantnim i mogu se uspoređivati.

3.3.1. Određivanje sadržaja šećera

Koncentracija šećera u moštu određena je refraktometrijski i izražena u stupnjevima Oechsleovim (°Oe). Određivanje se temelji na principu indeksa loma svjetlosti. Na prizmu refraktometra se kapne nekoliko kapi soka, te se pogledom kroz okular očituje vrijednost na ljestvici.

3.3.2. Određivanje ukupne kiselosti i pH vrijednosti

Ukupna kiselost mošta određivana je metodom neutralizacije uzorka s 0,1 M NaOH uz indikator bromtimol plavi prema metodi O.I.V.-a (2007).

Ukupna kiselost uzima u obzir sve organske i anorganske kiseline (Ribéreau-Gayon, 2006), ali je u moštu najzastupljenija vinska kiselina pa se rezultat izražava kao ukupni sadržaj vinske kiseline u g/L.

pH vrijednost mošta određena je mjerenjem na pH metru Beckman expandomatic tip SS 2.

3.3.3. Određivanje sadržaja pojedinačnih organskih kiselina

Organske kiseline (vinska, jabučna, limunska) određene su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, Agilent 1050 (Palo Alto, SAD). Uzorak je prethodno filtriran pomoću PTFE membranskih filtera (0,45 μm). Identifikacija i kvantifikacija provedena je pri valnoj duljini $\lambda=210$ nm na Aminex HPX-87H (BioRad, Hercules, CA, SAD).

3.3.4. Određivanje ukupnog sadržaja fenola

Koncentracije ukupnih fenola u vinima određene su reakcijom sa Folin-Ciocalteu-ovim reagensom (Singleton i Rossi, 1965). Folin-Ciocalteuov reagens je smjesa dva jaka oksidansa, fosfomolibdenove i fosfomolibdenove kiseline. Pri reakciji fenolnih spojeva sa kiselinama, hidroksilne grupe fenolnih spojeva oksidiraju, dok se kiseline reduciraju u plavo obojeni volframov oksid i molibdenov oksid.

Apsorbancija je mjerena pri valnoj duljini od 750 nm na instrumentu UV/VIS spektrofotometru „Specord 400“ Analytik Jena (Jena, Njemačka), pri čemu su korištene 10 mm kvarcne kivete. Rezultati se izražavaju u ekvivalentima galne kiseline, mg GAE/L.

Vina su razrijeđena destiliranom vodom u volumnom omjeru 1:5 te je krajnji rezultat pomnožen s faktorom razrijeđenja 5.

3.3.5. Određivanje ukupnog sadržaja proteina

Metoda analize temelji se na fluorescentnom obilježavanju proteina uz kvantitativnu analizu na Qubit 3.0. instrumentu (Thermo Fisher Scientific).

Prije same provedbe analize priredi se radna otopina koja sadrži pufer i fluorescentnu boju (Qubit reagens A) u volumnom udjelu od 0,5 %.

U epruveticu volumena 0,5 mL doda se 190 μL radne otopine te 10 μL uzorka vina. Dobivena se smjesa stavi na vortex te se miješa od 2 do 3 sekunde te potom ostavi na inkubaciju u

trajanju od 15 minuta. Mjerenje se provodi na Qubit instrumentu koji sadrži poseban program za određivanje proteina. Dobivene vrijednosti izražavaju se u mg/L.

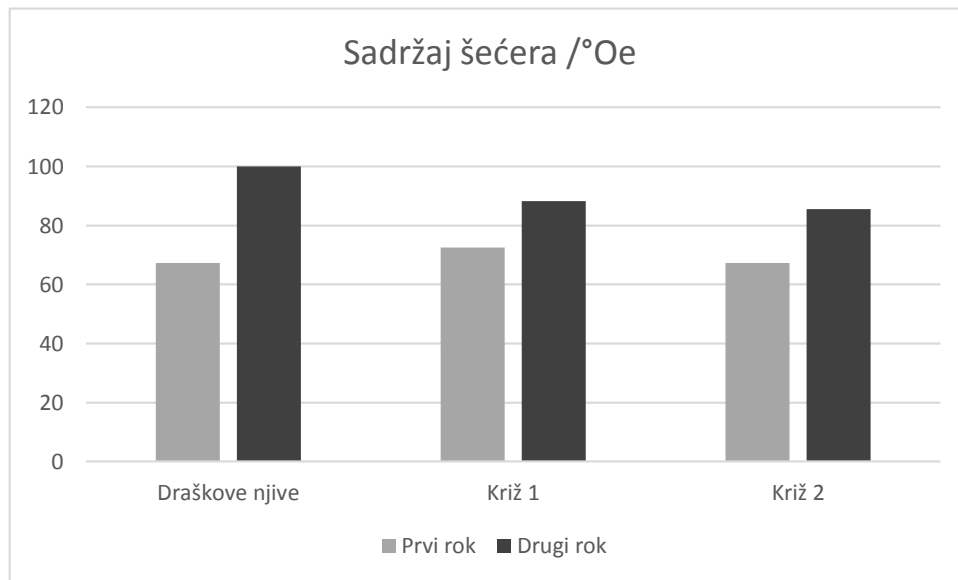


Slika 3.3. Qubit instrument za određivanje proteina
(izvor: Dominik Anđelini)

4. Rezultati i rasprava

4.1. Sadržaj šećera

Temeljem izmjerenih vrijednosti izrađen je graf (Graf 4.1.) iz kojeg je vidljiv sadržaj šećera u °Oe kod pojedinih varijanti. Sa stupnjem zrelost grožđa sadržaj šećera je rastao.

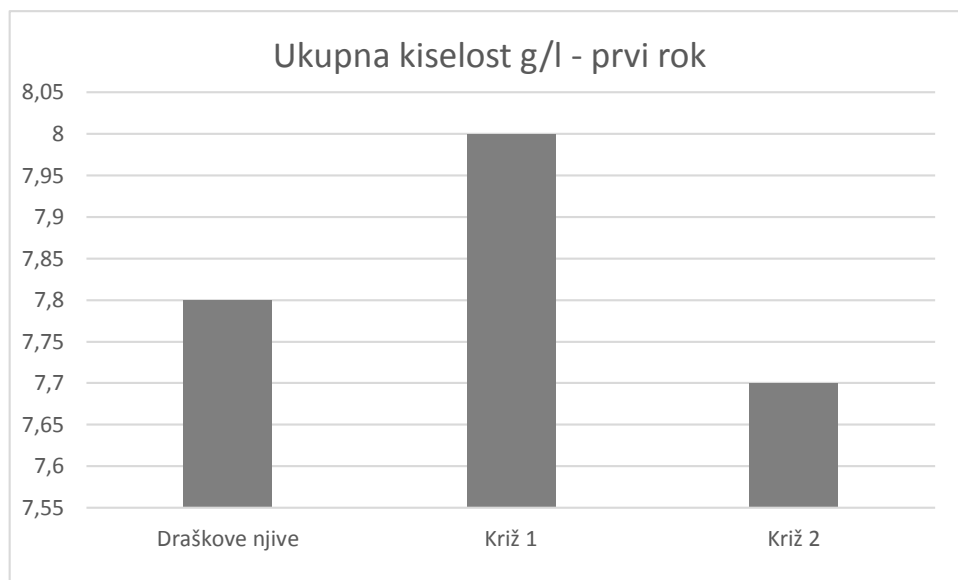


Graf 4.1. Sadržaj šećera (°Oe) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u dva roka berbe

Iz rezultata vidimo kako je sadržaj šećera bio približno jednak u oba roka berbe između tri proučavana vinogradarska položaja. Najveću razinu ipak primjećujemo kod uzorka 'Draškove njive' u drugom roku berbe. Kod istog uzorka primjećujemo i najveću promjenu sadržaja šećera između dva roka berbe od 32,7 °Oe, a najmanju promjenu kod uzorka 'Križ 1' od 15,8 °Oe

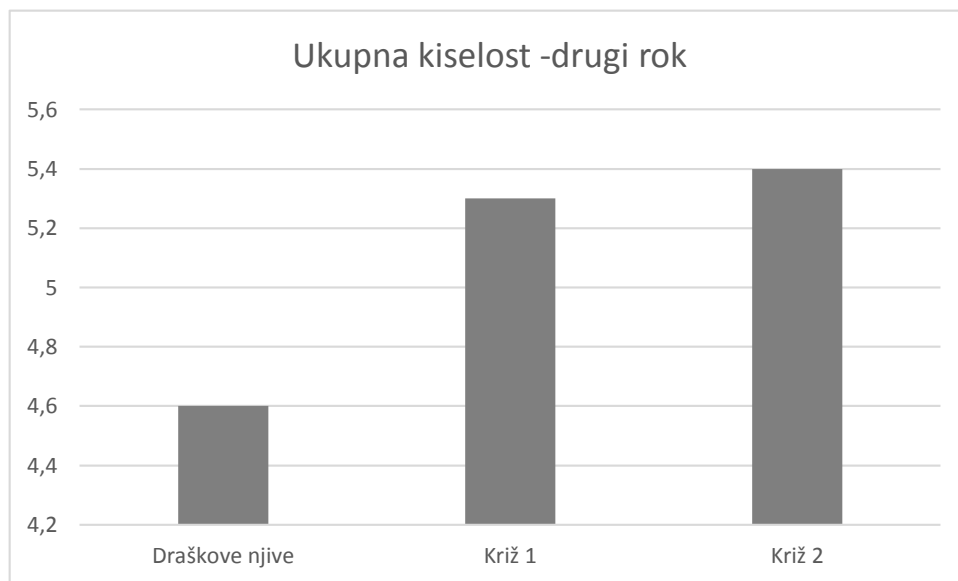
4.2. Ukupna kiselost

Na temelju dobivenih rezultata izrađeni su grafovi (Graf 4.2. i Graf 4.3.) iz kojih je vidljiva ukupna kiselost kod pojedinih varijanti.



Graf 4.2. Ukupna kiselost (g/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe

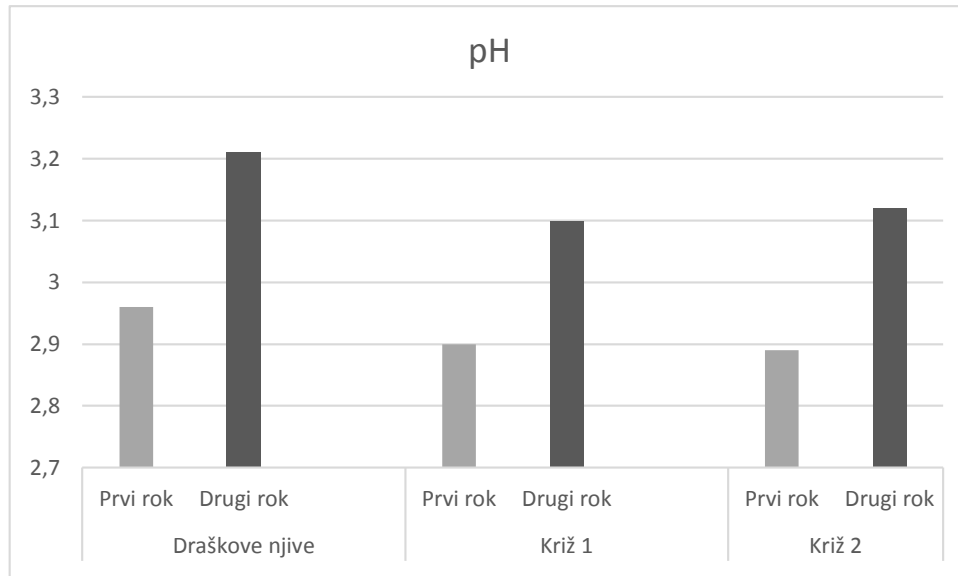
Iz grafa (Graf 4.2.) možemo uočiti kako je u prvom roku berbe najveća ukupna kiselost bila u moštu s položaja 'Križ 1' (8 g/L) dok je kod ostalih varijanti bilo približno jednako ('Draškove njive' 7,8 g/L i 'Križ 2' 7,7 g/L).



Graf 4.3 . Ukupna kiselost (g/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u drugom roku berbe

Iz grafa (Graf 4.3.) vidimo kako je najmanja ukupna kiselost u drugom roku berbe utvrđena kod uzorka 'Draškove njive' od 4,6 g/L dok su 'Križ 1' i 'Križ 2' imali približno jednaki sadržaj od 5,3 i 5,4 g/L.

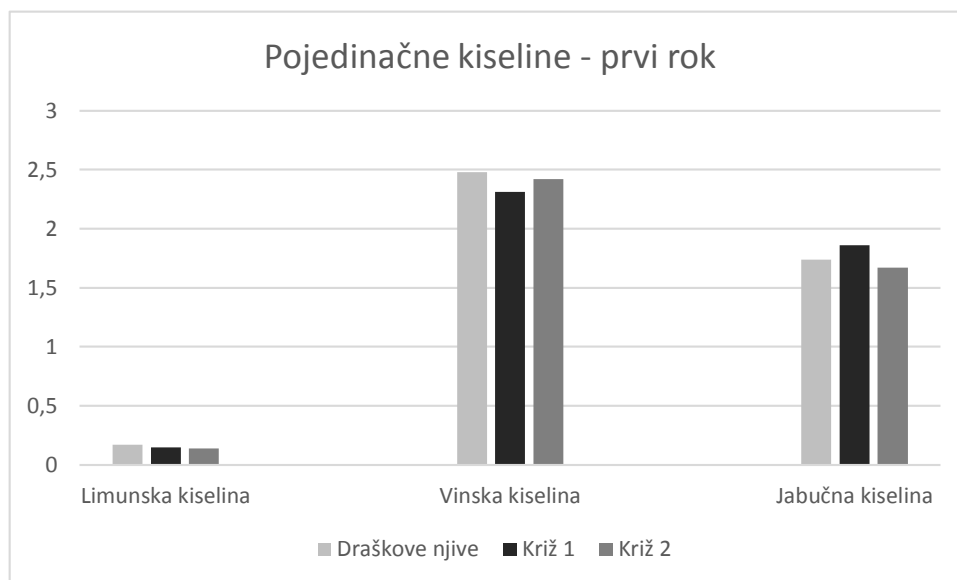
4.3. pH vrijednost



Graf 4.4. pH vrijednost u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitih vinogradarskih položaja u dva roka berbe

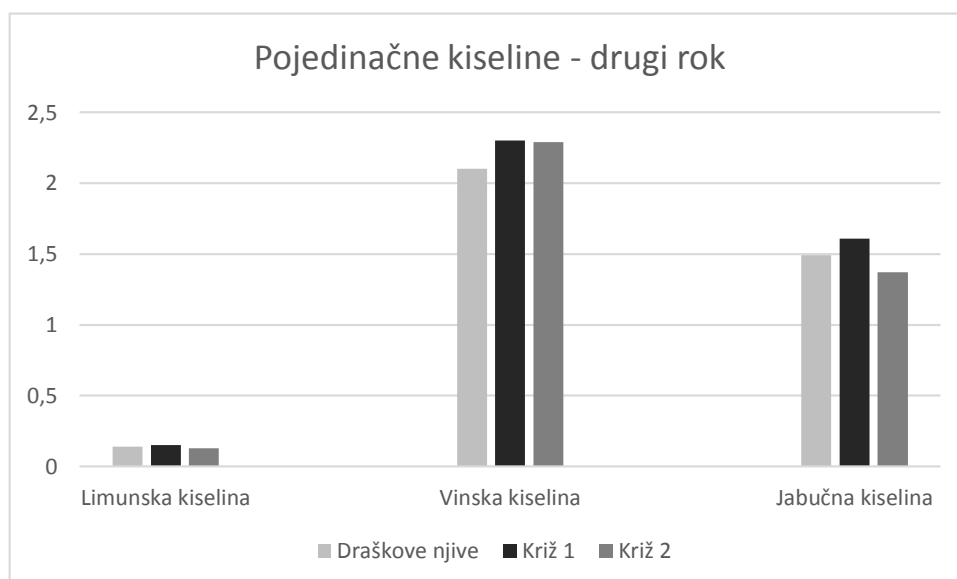
Iz grafa (Graf 4.4.) možemo vidjeti kako je najveća pH vrijednost bila kod uzorka 'Draškove njive' u prvom roku berbe (2,96) te u drugom roku berbe (3,21). Kod uzoraka 'Križ 1' i 'Križ 2' u oba su roka berbe pH vrijednosti bile jednake (2,90; 2,89 u prvom roku te 3,10; 3,12 u drugom roku). Najmanja promjena pH vrijednosti između dva roka berbe bila je kod uzorka 'Križ 1' i iznosila je 0,2 jedinice dok je kod varijante 'Draškove njive' utvrđena razlika od skoro 0,3 jedinice.

4.4. Pojedinačne organske kiseline



Graf 4.5. Sadržaj pojedinačnih kiselina (g/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitih vinogradarskih položaja u prvom roku berbe

U prvom roku berbe primjećujemo slične koncentracije pojedinačnih organskih kiselina, s osvrtnom na 'Križ 1' gdje je bila nešto viša razina jabučne kiseline, a niža vinske kiseline u odnosu na ostale vinogradarske položaje.



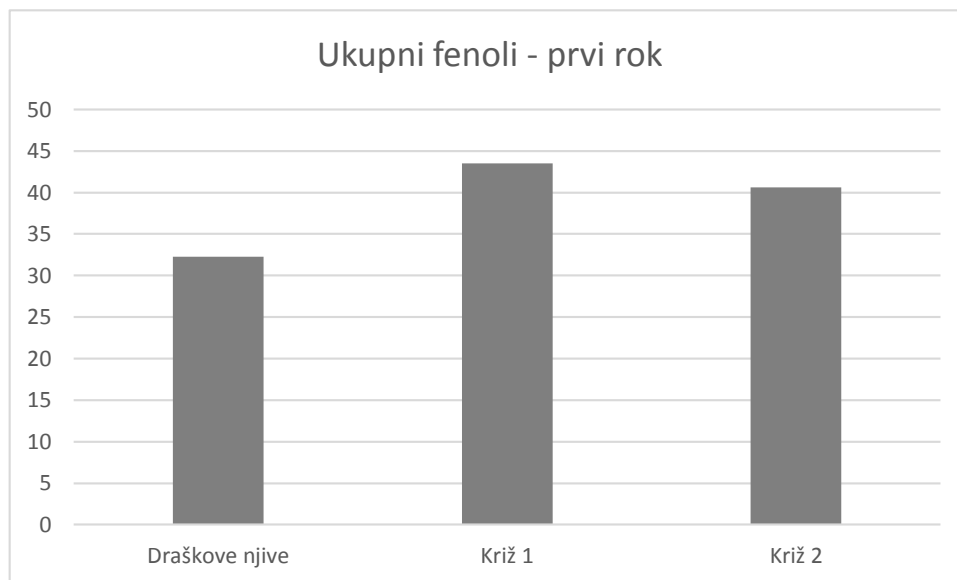
Graf 4.6. Sadržaj pojedinačnih kiselina (g/L) u moštovima kultivar 'Malvazija istarska' s različitih vinogradarskih položaja u drugom roku berbe

U drugom roku berbe primjećujemo kako su 'Križ 1' i 'Križ 2' imali skoro jednaki sadržaj vinske kiseline (2,30 i 2,29 g/L), dok je kod uzorka 'Draškove njive' razina bila niža i iznosila je 2,10 g/L. Uzorak 'Križ 1' zadržao je višu razinu jabučne kiseline u odnosu na ostale uzorke.

Najveću promjenu sadržaja vinske kiseline imao je uzorak 'Draškove njive' i iznosila je 0,38 g/L, dok je iznenađujuće mala promjena bila kod uzorka 'Križ 1' s iznosom od 0,01 g/L.

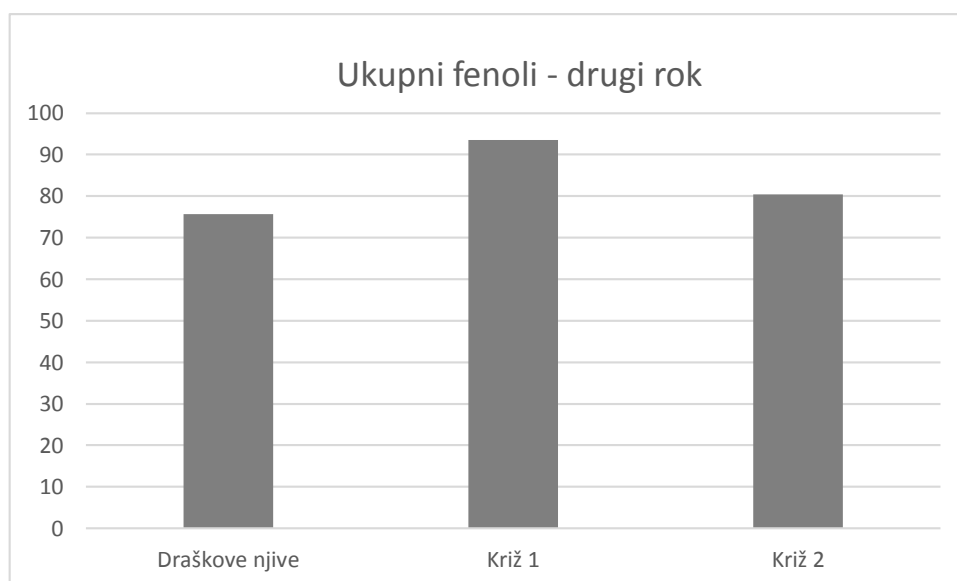
4.5. Ukupni fenoli

Sa stupnjem zrelosti sadržaj ukupnih fenola se povećavao kod svih uzoraka.



Graf 4.7. Sadržaj ukupnih fenola (mg/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe

Iz grafa (Graf 4.8) vidimo kako je najveći sadržaj ukupnih fenola u prvom roku berbe bio u moštu 'Križ 1' (43,52 mg/L), dok je najmanji sadržaj bio u moštu 'Draškove njive' (32,25 mg/L).

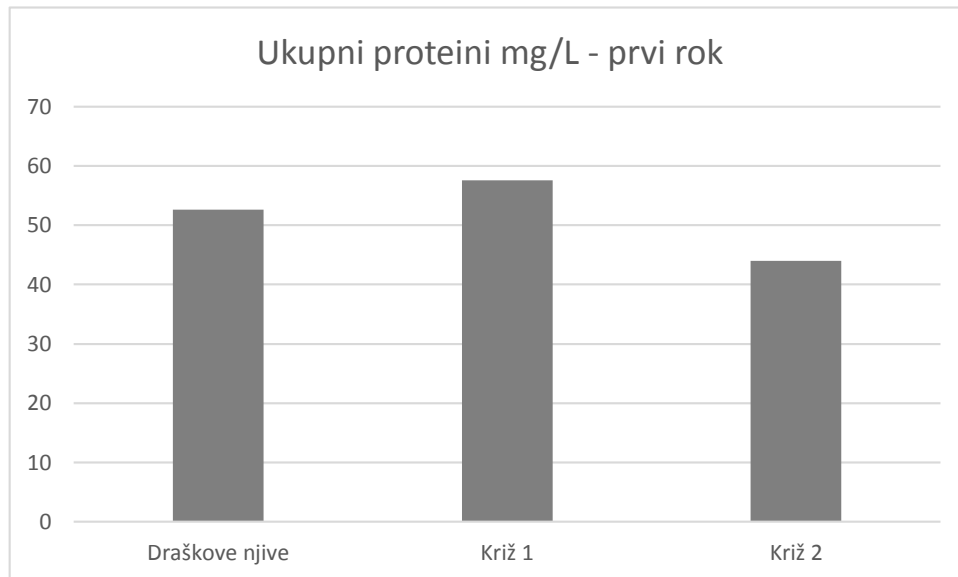


Graf 4.8. Sadržaj ukupnih fenola (mg/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe

Možemo uočiti kako je uzorak 'Križ 1' u drugom roku berbe ponovno imao najveći sadržaj ukupnih fenola (93,53 mg/L) u usporedbi s ostalim uzorcima.

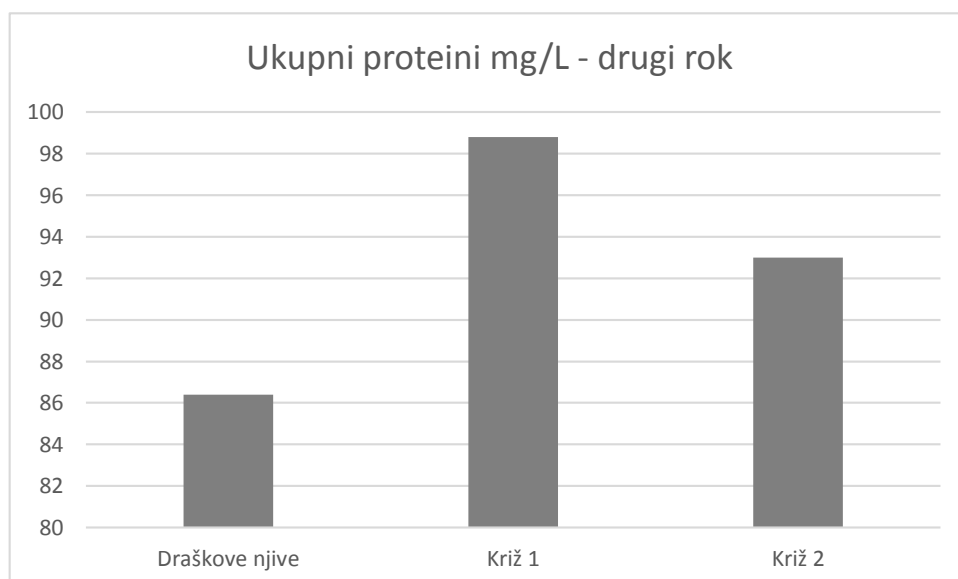
Kod uzorka 'Križ 1' možemo uočiti i najveću pozitivnu promjenu sadržaja ukupnih fenola od 50,00 mg/L što odgovara povećanju od 215%.

4.6. Ukupni proteini



Graf 4.9. Sadržaj ukupnih proteina (mg/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u prvom roku berbe

Vidljivo je kako je u prvom roku berbe najniža razina ukupnih proteina izmjerena u moštu 'Križ 2' (44,0 mg/L), dok je u moštu 'Križ 1' izmjerena najviša razina (57,6 mg/L).



Graf 4.10. Sadržaj ukupnih proteina (mg/L) u moštovima kultivara 'Malvazija istarska' s različitim vinogradarskih položaja u drugom roku berbe

U drugom roku berbe razlika u sadržaju ukupnih proteina bila je veća nego u prvom roku berbe. Najveći sadržaj ukupnih proteina imao je mošt 'Križ 1' (98,8 mg/L), zatim 'Križ 2' (93 mg/L), dok je najmanji sadržaj izmjeren kod 'Draškove njive' (86,4 mg/L).

Ako obratimo pažnju na promjenu sadržaja ukupnih proteina između dva roka zaključujemo kako se najveća promjena dogodila kod 'Križ 2' (49,0 mg/L), zatim 'Križ 1' (41,2 mg/L), dok je najmanja promjena izmjerena kod 'Draškove njive' (33,8 mg/L).

4.7. Rasprava

Kod svih proučavanih svojstava dogodila se promjena u očekivanom smjeru kroz dva roka berbe. Ipak, kod pojedinih proučavanih vinogradarskih položaja ima iznimaka u pojedinim svojstvima i njihovim vrijednostima.

Na temelju provedenog istraživanja utjecaja roka berbe i vinogradarskog položaja na polifenolni i kiselinski profil možemo tvrditi kako je vinogradarski položaj 'Draškove njive' imao najveći sadržaj šećera u drugom roku berbe (100 °Oe), ali i najveću promjenu razine šećera između dva roka berbe. U oba roka berbe mošt s položaja 'Draškove njive' imao je najviši pH, dok je najmanja promjena uočena kod 'Križ 1'. Iako je razina proteina kod 'Draškove njive' niska, nizak je i sadržaj fenola i organskih kiselina te visoki pH što bi moglo uzrokovati kasniju pojavu proteinske nestabilnosti u vinu.

Vinogradarski položaj 'Križ 1' je u prvom roku berbe imao najniži sadržaj vinske kiseline (2,31 g/L), ali najveći sadržaj jabučne kiseline (1,86 g/L). U drugom roku berbe 'Križ 1' i 'Križ 2' imali su praktički iste razine vinske kiseline (2,30 g/L, 2,29 g/L), dok je mošt 'Draškove njive' imao najnižu razinu vinske kiseline (2,10 g/L), ali i najveću promjenu sadržaja vinske kiseline između dva roka berbe (0,38 g/L). 'Križ 2' je kroz dozrijevanje zadržao višu razinu jabučne kiseline, te je imao izrazito nisku promjenu sadržaja vinske kiseline (0,01 g/L). Proučimo li zajedno sve proučavane parametre kod ovog položaja, zaključujemo kako će visoka razina fenola u kombinaciji s niskim pH utjecati na taloženje dijela proteina.

Koncentracija ukupnih fenola bila je u oba slučaja najveća kod 'Križ 1' te najmanja kod 'Draškove njive'. Također, kod položaja 'Križ 1' dogodila se najveća pozitivna promjena sadržaja ukupnih fenola od čak 215% (50,00 mg/L).

Sadržaj ukupnih proteina bio je najmanji kod vinogradarskog položaja 'Križ 2' u prvom roku, a najveći kod 'Križ 1', koji je imao najveći sadržaj i u drugom roku berbe (98,8 mg/L). Najveća promjena ukupnih proteina utvrđena je kod položaja 'Križ 2' (49 mg/L), zatim kod 'Križ 1' (41,2 mg/L), a najmanja kod 'Draškove njive' (33,8 mg/L).

5. Zaključak

Temeljem dobivenih rezultata možemo zaključiti kako su vinogradarski položaj i rok berbe u 2019. godini utjecali na polifenolni i kiselinski profil kultivara 'Malvazija istarska'. Kod donošenja odluke o trenutku berbe treba uzeti u obzir više kriterija, pa tako kod položaja 'Draškove njive' moramo obratiti pozornost na moguće brzo smanjenje ukupne kiselosti i vinske kiseline te na mogući nizak sadržaj ukupnih fenola što se može kasnije odraziti na kvalitetu vina i njegov potencijal za dozrijevanje. Prednosti ovog položaja su bolje nakupljanje šećera i niži sadržaj ukupnih proteina u punoj zrelosti što znači potencijalno manju upotrebu enoloških sredstava koja se primjenjuju u svrhu proteinske stabilnosti.

Vinogradarski položaj 'Križ 1' istaknuo se najvećom ukupnom kiselošću i odličnim održavanja razine kiselosti, sadržaja vinske kiseline i pH vrijednosti. Koncentracija ukupnih fenola i njihova pozitivna promjena je u moštu s ovog položaja u oba roka berbe iznad ostalih proučavanih položaja. Ipak, zbog odnosa svih svojstava moguće je djelomično taloženje proteina.

Vinogradarski položaj 'Križ 2' imao je zadovoljavajuću ukupnu kiselost i koncentraciju pojedinačnih organskih kiselina tijekom dozrijevanja pa tako u prosječnim godinama nakuplja dovoljno kiselina. Mošt s položaja 'Križ 2' imao je najmanji sadržaj ukupnih proteina u prvom roku berbe, ali pak najveću promjenu sadržaja istih između dva roka berbe pa na tu činjenicu treba obratiti pozornost. Kod ostalih svojstava 'Križ 2' se nalazio oko prosjeka svih dobivenih rezultata.

Zanimljivo je zaključiti kako su 'Križ 1' i 'Križ 2' zapravo jedan vinograd s veoma sličnim klimatskim prilikama, te potpuno istim ampelotehničkim i agrotehničkim zahvatima, ali s različitim tipom tla. Razlika u tipu tla je u ovom slučaju utjecala na razlike u sadržaju ukupnih fenola, kretanje sadržaja vinske i jabučne kiseline te ukupnih proteina.

U svrhu potvrde kako dobiveni rezultati nisu iznimka proučavane godine, istraživanje bi valjalo provoditi nekoliko godina za redom. Iako, kada uzmemo dosadašnja iskustva istarskih vinara s različitim vinogradarskih položaja, stoji pretpostavka kako rezultati ne bi mnogo odstupali.

6. Popis literature

1. Burić, D. (1981). *Vinogradarstvo I*, Drugo izdanje, Ćirpanov, Novi Sad
2. Chidi, B.S., Bauer, F.F., Rossouw, D. (2018.). Organic Acid Metabolism and the Impact of Fermentation Practices on Wine Acidity: A Review. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 39 (2): 1-15.
3. Cosme, F., Pinto T., Vilela, A. (2018). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Grape Juices: A Chemical and Sensory View. *Beverages*. 4(1): 1-14.
4. Defrechou, M., Doco, T.m Poncret-Legrand, C., Sauvage, F.X., Vernhet, A. (2015). Protein/Polysaccharide Interactions and Their Impact on Haze Formation i White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.18;63(45)10042-53.
5. Fazinić, N. (1971). *Suvremeno vinogradarstvo*, Institut za voćarstvo – vinogradarstvo – vinarstvo i vrtlarstvo Poljoprivrednog fakulteta – Zagreb, Zagreb
6. Herjavec, S. (2019). *Vinarstvo*, Nastavni zavod Globus, Zagreb
7. Jackson R., S. (2008). *Wine science Principles and applications* (3rd ed.). London, UK: Academic Press.
8. Kennedy J., A., Saucier C., Glories Y. (2006). Grape and Wine Phenolics, History and Perspective. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57:239-248.
9. Licul, R., Premužić, D. (1993). *Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo*. Sedmo izdanje, Nakladni zavod Znanje, Zagreb
10. Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I., Preiner, D., Zdunić, G., Bubola, M., Stupić, D., Andabaka, Ž., Marković, Z., Šimon, S., Žulj Mihaljević, M., Ilijaš, I., Marković, D. (2015). *Zelena knjiga: hrvatske izvorne sorte vinove loze*. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb
11. Mirošević, N., Karoglan Kontić, J. (2008). *Vinogradarstvo*. Nastavni zavod Globus, Zagreb
12. Moser, L. (1957). *Vinogradarstvo u novom obliku*, Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb
13. O.I.V. (2007). *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*. Vol. 1.
14. Pocock, K.F., Hayasaka, Y., McCarthy, M.G., Waters, E.J. (2000). Thaumatin-like Proteins and Chitinases, the Haze-Forming Proteins of Wine, Accumulate during Ripening of Grape (*Vitis vinifera*) Berries and Drought Stress Does Not Affect the Final Levels per Berry at Maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(5):1637-43

15. Radovanović, V. (1970). Tehnologija vina. Izdavačko preduzeće Građevinska knjiga, Beograd
16. Ribéreau-Gayon, P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006). Handbook of enology: The chemistry of wine stabilization and treatment. John Wiley & Sons, Ltd
17. Rivard, D. (2009). The Ultimate Fruit Winemakers Guide, Second Edition, Bacchus Enterprises Ltd
18. Sijerković, M. (2011). Pazin između jutarnje mrzline i podnevne vrućine, Gradska knjižnica Pazin, Pazin
19. Simon B., F., Hernandez T., Estrella I., Gomez-Cordoves C. (1992). Variation in phenol content in grapes during ripening: low molecular- weight phenols. Zeitschrift fur Lebensmittel und forschung .194: 351-354.
20. Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16(3):144–158.
21. Van Leeuwen C. i sur. (2004). The influence of climate, soil and cultivar on terroir. American Journal of Enology and Viticulture. 55: 207-217.
22. Van Sluyter, S.C. i sur. (2015). Wine Protein Haze: Mechanisms of Formation and Advances in Prevention, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 63 (16). 4020-30
23. Zoričić, M. (1996). Podrumarstvo. drugo prošireno izdanje, Nakladni zavod Globus, Zagreb

Popis korištenih izvora – poveznica:

1. APPRRR – Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju <<https://www.apprrr.hr/wp-content/uploads/2020/02/Podaci-iz-Vinogradarskog-registra-za-2019.-godinu.xlsx> > pristup 15.06.2020.
2. DHMZ – Državni hidrometeorološki zavod <https://meteo.hr/klima.php?section=klima_podaci¶m=k2_1&Godina=2019 > pristup 18.6.2020.
3. Rivad, D. (2009). The Ultimate Fruit Winemaker's Guide (Second Edition), Bacchus Enterprises Ltd [online] : <<https://books.google.hr/books?id=ciZNkmsLETYC&pg=PA136&lpg=PA136&dq=Protein+nitrogen+content+of+wines+varies+between+10+and+275+mg&source=bl&ots=wFYjxGcQBB&sig=ACfU3U2OrctAIOfbSQoTv6BUv4jTIEoGvQ&hl=hr&sa=X&ved=2ahUKEwilidP3sl3qAhWPTRUIHWlaCEYQ6AEwAHoECAoQAQ#v=onepage&q=Protein%20nitrogen%20content%20of%20wines%20varies%20between%2010%20and%20275%20mg&f=false> > pristup 19.6.2020.
4. Tlo i biljka.eu <http://tlo-i-biljka.eu/iBaza/Pedo_HR/index.html?fbclid=IwAR0h9VV81sWAa07UyZFiYy-GArgPiVXTudYuvk02sKEOZIKqMuv7kJ5e-E > pristup 15.06.2020.
5. Vinistra.com <<http://www.vinistra.com/Malvazija-istarska.aspx> > pristup 18.6.2020.
6. Vinopedia <<http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=bentonit> > pristup 30.06.2020.
7. Vinopedia <<http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=fenoli> > pristup 20.6.2020.
8. Wikipedia <<https://hr.wikipedia.org/wiki/Vi%C5%A1njan> > pristup 18.6.2020.

7. Životopis

Dominik Anđelini rođen je 12. srpnja 1996. godine u Rijeci. Osnovnu školu završio je u Pazinu 2011. godine kada upisuje srednju školu u Poreču, smjer poljoprivredni tehničar. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja završio je pčelarsku školu i stekao zvanje pčelara. Nakon državne mature, 2015. godine upisuje preddiplomski studij Biljne znanosti na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Nakon obrane završnog rada 2018. pod nazivom „Vina Pazinštine“ upisuje diplomski studij Hortikultura, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo. Tijekom diplomskog studija sudjeluje u radu izvannastavne aktivnosti Vinarske grupe te u Studentskom zboru Agronomskog fakulteta u Zagrebu.