



Br. 41 – 09.07.2013.

Poštovani partneri,

Zahtjevi za što većom kvalitetom vina, kao i potreba da visoko kvalitetno vino zadrži što duže svoja svojstva i uz nepovoljne uvjete transporta i skladištenja, doveli su do razvoja sredstava za mikrobiološku, koloidnu i senzorsku stabilnost. Također, primjena novih sredstava, temeljena na prirodnim sirovinama, uvjetovana je i nastojanjem da se smanji količina upotrebljenog sumpora, odnosno njegovih spojeva kako bi sa zdravstvenog aspekta Vaš proizvod bio što prihvatljiviji za potrošača.

Jedno od sredstava čija je primjena predložena je askorbinska kiselina, poznata i kao "Vitamin C", koju firma AEB koristi sa uspjehom već niz godina i to u kombinaciji sa SO₂ ili taninima.

Većini od Vas su poznata sredstva kao Aromax i Galovit C, no još uvijek se zna dogoditi da se prilikom određivanja sadržaja ukupnog i slobodnog SO₂ previdi činjenica da standardnom metodom kontrole stanja sumpora u vinima askorbinska kiselina reagira kao i SO₂ te se naizgled povećava sadržaj slobodnog, a time i ukupnog SO₂. Poznatom analitičkom metodom može se točno utvrditi sadržaj SO₂, a za Vaše ravnanje se sa velikom točnošću može utvrditi sadržaj SO₂ na osnovi dodane količine poznatoga sredstva i količine obrađenoga vina ili mošta.

Nadamo se da će Vam i ova saznanja omogućiti lakši rad a za sva eventualna pitanja stojimo Vam na raspolaganju.

Srdačan pozdrav,
Zvonko Petrović, dipl.ing.

Glavni urednik:

Zvonko Petrović, dipl. ing.
Tel.: 091 6040 119
zvonko.petrovic@ireks-aroma.hr

Stručni urednik:

Hrvoje August, dipl. ing.
Tel.: 091 3040 103
hrvoje.august@ireks-aroma.hr

Stručni savjetnik:

Vedran Plichta, dipl.ing.
Tel.: 091 6040 172
vedran.plichta@ireks-aroma.hr

Tehnička urednica:

mr. Mirna Cippico, dipl. oec.
Tel.: 091 6040 149
mirna.cippico@ireks-aroma.hr





Vitamin C i sumporni dioksid

U modernoj tehnologiji proizvodnje vina i njihovog školovanja sve je veći zahtjev za stvaranjem vina sa nižim sadržajem sumpora, a opet da ta vina budu apsolutno u kondiciji, svježa, ugodnih aroma i svježine te sačuvane boje. Zato se sve više uz one minimalne količine sumpornih preparata (prije svega radi mikrobiološke stabilnosti) u vina dodaju kompleksni antioksidanti koji sadrže kombinacije različitih tanina i vitamina C. Tvrtka AEB već dugi ni godina u svojoj ponudi ima nekoliko odličnih tehnoloških rješenja za antioksidativnu zaštitu moštova i vina kao proizvoda za školovanje koji u sebi sadrže i vitamin C.

Kako je za rad svakog vinara potrebno znati stanje parametara vezanih uz sumporni dioksid u moštu ili vinu, poglavito radi mikrobiološke, a onda i antioksidativne kondicije, tako svaki vinar s vremena na vrijeme vrši laboratorijske provjere istog. Nekoliko je poznatih i priznatih metoda određivanja slobodnog, vezanog i ukupnog sumpornog dioksida u vinu. Svaka ta metoda ima prednosti i mane, ali u ovom slučaju htjeli bismo Vam sa par informacija pomoći kako ukalkulirati vrijednosti koje donosi vitamin C i tako onda dobiti točna očitavanja stanja sumpornog dioksida. Naime, vitamin C je tvar koja će kod metode titracije sa jodom reagirati (oksidirati) i pogrešno navesti ispitivača na „povećani“ sadržaj sumpornog dioksida. Stoga je potrebno napraviti korekciju izmjere na taj način da se vrlo jednostavnim metodama izmjeri samo količina u ovom slučaju vitamina C te se dobiveni rezultat oduzme od prethodno dobivenog rezultata kada se titracijom mjerio sadržaj slobodnog sumpornog dioksida.

Postoji nekoliko tvari koje će reagirati sa sumpornim dioksidom te time spriječiti njegovu reakciju sa jodom te će nam tako biti moguće odrediti vitamin C titracijom jodom. Tako imamo metodu sa Propion aldehydom.

ODREĐIVANJE SLOBODNOG SUMPORA U VINU S KOREKCIJOM, RADI PRISUSTVA ASKORBINSKE KISELINE (VITAMIN C)

1. 10 %-tnu otopinu propionaldehida prije upotrebe dobro promiješati.
2. U Erlenmayer tikvicu dodati 50 ml vina i 3-5 ml 10 %-tne otopine propionaldehida. Tikvicu zatvoriti i dobro promiješati sadržaj.
3. Nakon 5 minuta početi titrirati po uobičajenoj metodi za određivanje slobodnog sumpora u vinu. Potrošena količina joda (1) je u ovom slučaju ona količina joda koja je potrebna za oksidaciju askorbinske kiseline (u ovom uzorku vina nema više slobodnog sumpora jer je oksidiran s propionaldehydom).
4. Postupak titracije za određivanje slobodnog sumpora izvršiti i na vinu kojemu nije dodan propionaldehid. Utrošena količina joda (2) je u ovom primjeru ona koja je potrebna za oksidaciju slobodnog sumpora i askorbinske kiseline.
5. Od količine joda (2) odbije se količina joda (1) i na osnovi razlike se izračuna realna količina slobodnog sumpora u vinu.





Kako bismo još dodatno cijelu temu obradili donosimo Vam službeni protokol od strane svjetske krovne vinarske organizacije za određivanje sumpornog dioksida kao i moment korekcije na vitamin C.

OIV METODE ANALIZE - SUMPORNI DIOKSID

Definicija

Slobodni SO₂ definiramo kao sumporni dioksid prisutan u moštovima i vinima u slijedećim oblicima: H₂SO₃, HSO₃⁻, čija ravnoteža kao i djelovanje pH i temperature su: $H_2SO_3 \rightleftharpoons H^+ + HSO_3^-$

H₂SO₃ predstavlja molekularni sumporni dioksid.

Ukupni sumporni dioksid je definiran kao zbroj svih različitih formi sumpornog dioksida prisutnih u vinu, bilo u slobodnom stanju ili vezanim u nekoj formi.

Slobodni i ukupni sumporni dioksid

Princip Izmjera referentnom metodom

Slobodni SO₂ nošen je strujanjem zraka ili dušika i biva fiksiran i oksidiran prolazeći kroz neutralnu otopinu vodikovog peroksida. Stvorena sumporasta kiselina se određuje titiranjem standardnom otopinom natrij hidroksida.

Slobodni SO₂ je izdvojen iz vina hlađenjem na temperaturu ispod 10°C.

Ukupni SO₂ je izdvojen iz vina grijanjem na temperaturu oko 100 °C.

Brza metoda određivanja

Slobodni sumporni dioksid određuje se direktno titracijom pomoću joda. Vezani sumporni dioksid se na taj način određuje jodometrijskom titracijom nakon alkalne hidrolize. Kada se doda očitanoj vrijednosti slobodnog sumpornog dioksida dobijamo vrijednost ukupnog sumpornog dioksida u uzorku.

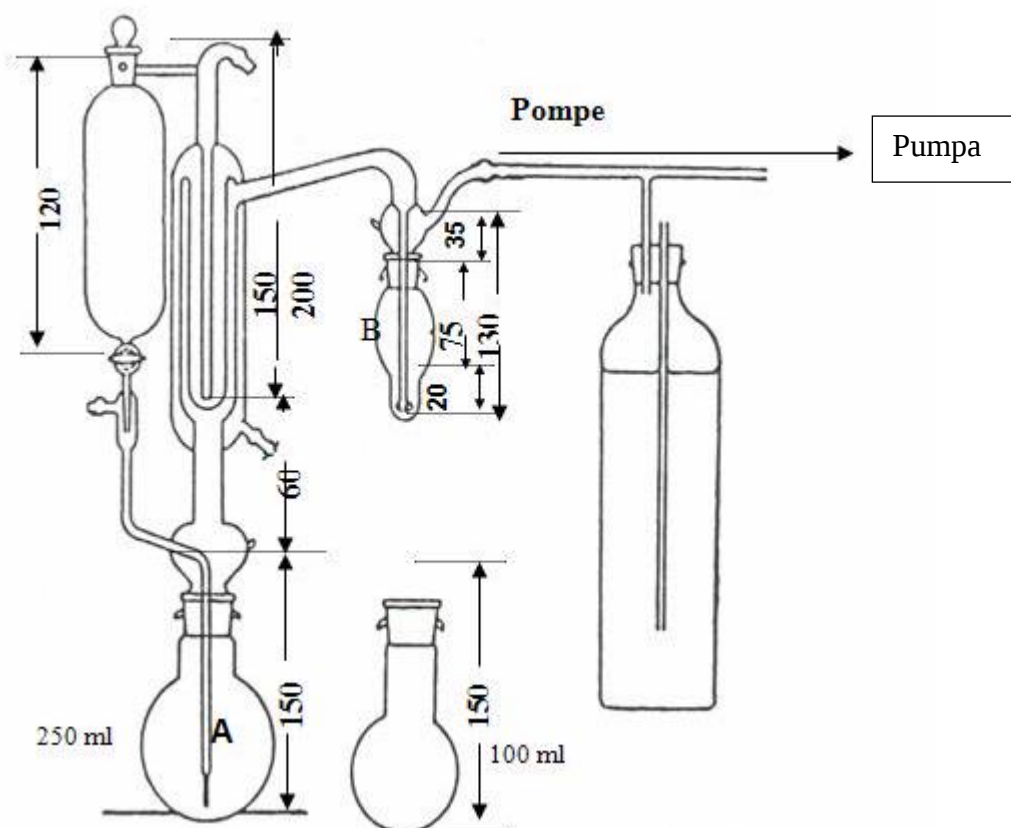
Referentne metode

Oprema koja se koristi mora odgovarati zadanim parametrima (Slika 1.).

Reagensi koji se koriste su:

- Fosforna kiselina 85%, razrijeđena na 25%
- Vodikov peroksid, otopina , 9,1 g H₂O₂/L
- Indikatori: Metilno crvenilo 100 mg, Metilno plavilo 50 mg, Etanol 50 % vol. 100 mL
- 0,01 M otopina NaOH





Slika (1): Dimenzije su u milimetrima. Unutarnji promjeri 4 cjevčice u kondenzatoru su: 45, 34, 27 i 10 mm.

Određivanje sadržaja slobodnog SO₂

Ukoliko se želi precizno izvršiti mjerenje, uzorak mora biti čuvan pri temperaturi od 20°C, dva dana u punoj i začepljenoj boci.

Postupak: Staviti 50 mL uzorka vina i 15 mL fosforne kiseline u 250 mL Erlenmeyer-ovu tikvicu (A). Spojiti tikvicu (A) sa cijelom aparaturom. U manju absorpcionu tikvicu (B), staviti 2-3 mL otopine vodikovog peroksida, dvije kapi indikator reagensa i neutralizirati otopinu vodikovog peroksida sa 0,01 M otopine NaOH. Spojiti tikvicu (B) sa aparaturom. Pustiti zrak ili dušik da struji 15 minuta. Slobodni SO₂ se na ovaj način oksidira u sumporastu kiselinu. Maknuti tikvicu (B) i titrirati stvorenu kiselinu sa 0,01 M otopinom NaOH. Označimo sa n mL količinu iskorištenog.

Izražavanje rezultata: Oslobođeni SO₂ izražava se u mg/L i zaokružuje se na bliži cijeli broj.

Izračun: Ako je n , broj mL 0,01 M otopine NaOH iskorišten, količina slobodnog SO₂ u miligramima po litri se dobija množenjem $6,4 \times n$





Određivanje ukupnog sadržaja sumpornog dioksida

Postupak

- Uzorak koji sadrži $\text{SO}_2 \leq 50$ mg/L kao ukupni: u 250 mL tikvicu (A) staviti 50 mL uzorka vina i 15 mL fosorne kiseline. Spojiti tikvicu sa aparaturom.
- Uzorak koji sadrži $\text{SO}_2 \geq 50$ mg/L kao ukupni: staviti 20 mL uzorka i 5 mL 85% fosforne kiseline u 250 mL tikvicu (A). Spojiti tikvicu sa aparaturom.

U manju absorpcionu tikvicu (B), staviti 2-3 mL otopine vodikovog peroksida, dvije kapi indikator reagensa i neutralizirati otopinu vodikovog peroksida sa 0,01 M otopine NaOH. Pustiti uzorak vina u tikvici (A) da zavrije pomoću malog plamenika visine plamena 4-5 cm, koji mora direktno doticati dno tikvice. Ne stavljati tikvicu na metalnu tkaninu već na plinsku mrežicu sa rupicama od 30 mm. Razlog tome je da se izbjegne pregrijavanje tvari ekstrahiranih iz vina koje se talože na stjenki tikvice. Nastavite sa kuhanjem pri čemu neka struji zrak ili dušik. Unutar 15 minuta ukupni SO_2 se prenio i oksidirao. Izmjerite sumporastu kiselinu stvorenu titracijom sa 0,01 M otopinom NaOH. Označimo sa n količinu iskorištenog.

Izražavanje rezultata

Izračun - Ukupni sumporni dioksid u miligramima po litri:

- Uzorak sa niskim sadržajem SO_2 (50 mL testni uzorak): $6,4 \times n$
- Ostali uzorci (20 mL testni uzorak): $16 \times n$

Ponovljivost

- (< 50 mg/L) 50 mL testni uzorak, $r=1$ mg/L
- (> 50 mg/L) 20 mL testni uzorak, $r=6$ mg/L

Reproduciranost

- (< 50 mg/L) 50 mL testni uzorak, $R=9$ mg/L
- (> 50 mg/L) 20 mL testni uzorak, $R=15$ mg/L

Brza metoda

Reagensi

- EDTA: etilendiamintetraoctena kiselina, di Natijeva sol
- 4 M otopina NaOH (160 g/L)
- Rastvor sumporaste kiseline: 10 % sumporasta kiselina ($\rho_{20}=1,84$ g/mL) rastvor 10 % (v/v)
- Otopina škroba, 5 g/L - Promješati 5 g škroba sa odprilike 500 mL vode. Na kuhalu lagano mješati dok ne zakipi i dalje kuhati 10 minuta. Dodati 200 g NaCl. Ohladiti i dodati još vode do volumena 1L.
- 0,025 M otopine I_2

Slobodni SO_2

U 500 mL koničnu tikvicu stavimo:

- 50 mL vina
- 5 mL otopine škroba
- 30 mg EDTA
- 3 mL H_2SO_4





Momentalno titriramo sa 0,025 jodom, dok se ne pojavi plava boja (postojana 10-15 sekundi). Označimo sa n mL količinu iskorištenog joda.

Vezani SO_2

Dodati 8 mL, 4 M otopine NaOH, promješati jednom i ostaviti da odstoji 5 minuta. Dodati uz snažno miješanje sadržaj male epruvetice u kojoj je prethodno stavljeno 10 mL sumporaste kiseline. Momentalno titrirati sa 0,025 M otopinom I_2 . Označimo sa n' količinu iskorištenog joda.

Dodati 20 mL otopine NaOH, protresti dobro i ostaviti da odstoji 5 minuta. Rastvoriti sa 200 mL ledene vode. Dodati tijekom snažnog miješanja sadržaj testne epruvete u koju smo prethodno ulili 30 mL sumporaste kiseline. Titrirati slobodni SO_2 momentalno sa 0,025 M I_2 i označimo n'' kao količinu utrošenog joda.

Izražavanje dobivenih rezultata

Izračun

- Slobodni sumporni dioksid u miligramima po litri izražava se kao: $32 \times n$
- Ukupni sumporni dioksid u miligramima po litri izražava se kao: $32 \times (n+n'+n'')$

Napomene:

- Za crna vina sa niskim sadržajem SO_2 , 0,025 M I_2 se može rastvoriti (npr.: 0,01 M). U tom slučaju koeficijent 32 se zamjenjuje sa 12,8 (u gornjoj formuli).
- Za crna vina dobro je pomoću obične žarulje preko otopine kalijevog kromata ili natrijeve plinske svjetiljke osvijetliti uzorak vina koji se titrira i po mogućnosti to napraviti u tamnijoj prostoriji. Promatra se prozirnost vina koje će se u jednom momentu zamutiti kada dođe do zasićenja škroba.
- Ako je količina SO_2 koju smo izmjerili blizu maksimalno zakonski dopuštene količine, poželjno bi bilo da još jednom izmjerimo sadržaj pomoću referentne metode.
- Ako je određivanje slobodnog sumpornog dioksida posebno zatraženo, provedite određivanje na uzorku koji je čuvan u anaerobnim uvjetima 2 dana pri 20°C prije same analize. Samu analizu provedite na 20°C.
- **Zbog toga što se određene tvari oksidiraju od strane I_2 u kiselom mediju, količina utrošenog joda u tom slučaju mora se točno utvrditi zbog što točnijeg očitavanja. Da bi se to postiglo, vežite slobodni sumporni dioksid sa etanalom ili propanalom prije početka titracije jodom.**
 - Stavite 50 mL vina u 300 mL koničnu tikvicu, dodajte 5 mL od 7 g/L otopine etanala ili 5 mL od 10 g/L otopine propanala. Začepite tikvicu i pričekajte 30-tak minuta. Dodajte 3 mL sumporaste kiseline i dostatnu količinu joda, 0,025 M, kako biste polučili da škrob promijeni boju.
 - Označimo sa n''' količinu iskorištenog joda. Ova se vrijednost mora oduzeti od n (slobodni sumporni dioksid), i od $n+n'+n''$ (ukupni sumporni dioksid).
 - n''' je uglavnom vrlo mala vrijednost, od 0,2 do 0,3 mL 0,025 M joda.
 - Ukoliko je u ispitivano vino dodavana askorbinska kiselina (vitamin C) u bilo kojem obliku tehnološkog pomagala (antioksidanti), tada će n''' biti puno veća te je moguće barem





otprilike izmjeriti količinu vitamina C iz vrijednosti n''' tako što 1 mL 0,025 M joda oksidira 4,4 mg vitamina C.

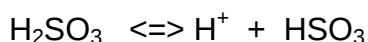
- Odredivši n''' , moguće je jednostavno odrediti prisutnost rezidualne askorbinske kiseline u količini većoj od 20 mg/L, u vinima u kojima je ona dodana.

Molekularni sumporni dioksid

Načelo i metode

Postotak molekularnog sumpornog dioksida, H_2SO_3 , u slobodnom sumpornom dioksidu je računan u funkciji pH, jačine alkohola i temperature.

Za vrijednosti temperature i jačine alkohola:



$$(H_2SO_3) = \frac{L}{10^{(pH-pk_M)} + 1} \quad (1)$$

gdje

$$L = (H_2SO_3) + (HSO_3^-)$$

$$pk_M = pk_T - \frac{A\sqrt{I}}{I + B\sqrt{I}}$$

I = ionska jačina
 A & B = koeficijenti koji variraju u skladu sa temperaturom i jačinom alkohola
 k_T = termodinamička konstanta dijeljenja; vrijednost pk_T data je u Tablici 1 za različite stupnjeve jačine alkohola i temperature.
 k_M = kombinirana konstanta dijeljenja

Uzimajući srednju vrijednost od 0,038 za ionsku jačinu I , Tablica 2 daje nam vrijednosti pk_M za različite temperature i stupnjeve jačine alkohola.

Sadržaji molekularnog sumpornog dioksida izračunati odnosima datim u (1) predstavljeni su u Tablici 3 za različite vrijednosti pH, temperature i stupnja jačine alkohola.

Izračun

Znajući vrijednost pH vina i njegovu jačinu alkohola, postotak molekularnog sumpornog dioksida dat je u Tablici 3 za temperature $t^\circ C$. Neka je to $X\%$.

Količina molekularnog sumpornog dioksida u mg/L data je kao: $X \times C$

C = slobodni sumporni dioksid u mg/L.





Tablica 1.
Vrijednosti termodinamičke konstante pK_T

Alcohol % by volume	Temperature °C				
	20	25	30	35	40
0	1.798	2.000	2.219	2.334	2.493
5	1.897	2.098	2.299	2.397	2.527
10	1.997	2.198	2.394	2.488	2.606
15	2.099	2.301	2.503	2.607	2.728
20	2.203	2.406	2.628	2.754	2.895

Tablica 2.
Vrijednosti kombinirane konstante dijeljenja pK_M ($I = 0,038$)

Alcohol % by volume	Temperature °C				
	20	25	30	35	40
0	1.723	1.925	2.143	2.257	2.416
5	1.819	2.020	2.220	2.317	2.446
10	1.916	2.116	2.311	2.405	2.522
15	2.014	2.216	2.417	2.520	2.640
20	2.114	2.317	2.538	2.663	2.803





Tablica 3.
Molekularni sumporni dioksid kao postotak slobodnog sumpornog dioksida

pH	T = 20 °C Alcohol % by volume				
		0	10	15	20
2.8	7.73	9.46	11.55	14.07	17.09
2.9	6.24	7.66	9.40	11.51	14.07
3.0	5.02	6.18	7.61	9.36	11.51
3.1	4.03	4.98	6.14	7.58	9.36
3.2	3.22	3.99	4.94	6.12	7.58
3.3	2.58	3.20	3.98	4.92	6.12
3.4	2.06	2.56	3.18	3.95	4.92
3.5	1.64	2.04	2.54	3.16	3.95
3.6	1.31	1.63	2.03	2.53	3.16
3.7	1.04	1.30	1.62	2.02	2.53
3.8	0.83	1.03	1.29	1.61	2.02
T = 25 °C					
2.8	11.47	14.23	17.15	20.67	24.75
2.9	9.58	11.65	14.12	17.15	22.71
3.0	7.76	9.48	11.55	14.12	17.18
3.1	6.27	7.68	9.40	11.55	14.15
3.2	5.04	6.20	7.61	9.40	11.58
3.3	4.05	4.99	6.14	7.61	9.42
3.4	3.24	4.00	4.94	6.14	7.63
3.5	2.60	3.20	3.97	4.94	6.16
3.6	2.07	2.56	3.18	3.97	4.55
3.7	1.65	2.05	2.54	3.18	3.98
3.8	1.32	1.63	2.03	2.54	3.18
T = 30 °C					
2.8	18.05	20.83	24.49	29.28	35.36
2.9	14.89	17.28	20.48	24.75	30.29
3.0	12.20	14.23	16.98	20.71	25.66
3.1	9.94	11.65	13.98	17.18	21.52
3.2	8.06	9.48	11.44	14.15	17.88
3.3	6.51	7.68	9.30	11.58	14.75
3.4	5.24	6.20	7.53	9.42	12.08
3.5	4.21	4.99	6.08	7.63	9.84
3.6	3.37	4.00	4.89	6.16	7.98
3.7	2.69	3.21	3.92	4.95	6.44
3.8	2.16	2.56	3.14	3.98	5.19
pH	T=35 °C Alcohol % by volume				
	0	5	10	15	20
2.8	22.27	24.75	28.71	34.42	42.18
2.9	18.53	20.71	24.24	29.42	36.69
3.0	15.31	17.18	20.26	24.88	31.52
3.1	12.55	14.15	16.79	20.83	26.77
3.2	10.24	11.58	13.82	17.28	22.51
3.3	8.31	9.42	11.30	14.23	18.74
3.4	6.71	7.63	9.19	11.65	15.49
3.5	5.44	6.16	7.44	9.48	12.71
3.6	4.34	4.95	6.00	7.68	10.36
3.7	3.48	3.98	4.88	6.20	8.41
3.8	2.78	3.18	3.87	4.99	6.80
T = 40 °C					
2.8	29.23	30.68	34.52	40.89	50.14
2.9	24.70	26.01	29.52	35.47	44.74
3.0	20.67	21.83	24.96	30.39	38.85
3.1	17.15	18.16	20.90	25.75	33.54
3.2	14.12	14.98	17.35	21.60	28.62
3.3	11.55	12.28	14.29	17.96	24.15
3.4	9.40	10.00	11.70	14.81	20.19
3.5	7.61	8.11	9.52	12.13	16.73
3.6	6.14	6.56	7.71	9.88	13.77
3.7	4.94	5.28	6.22	8.01	11.25
3.8	3.97	4.24	5.01	6.47	9.15





Sumporni dioksid - Referentna metoda za mošt od grožđa

Aparatura

Vidi sliku 1

Reagensi

- Fosforna kiselina ($\rho_{20} = 1,71 \text{ g/mL}$) rastvor na 25% (m/v).
- Vodikov peroksid, otopina, 9,1 g $\text{H}_2\text{O}_2/\text{L}$
- Indikatori: Metilno crvenilo 100 mg, Metilno plavilo 50 mg, Etanol 50 % vol. 100 mL
- 0,01 M otopina NaOH

Postupak

U tikvicu 250 ml (A), staviti 50 mL grožđanog mošta i 5 mL 25 % razrijeđene fosforne kiseline (m/v). Postaviti na aparaturu tikvicu (A).

U manju absorpcionu tikvicu (B), staviti 2-3 mL otopine vodikovog peroksida, dvije kapi indikator reagensa i neutralizirati otopinu vodikovog peroksida sa 0,01 M otopine NaOH. Pustiti uzorak vina u tikvici (A) da zavrije pomoću malog plamenika visine plamena 4-5 cm, koji mora direktno doticati dno tikvice. Ne stavljati tikvicu na metalnu tkaninu već na plinsku mrežicu sa rupicama od 30 mm. Razlog tome je da se izbjegne pregrijavanje tvari ekstrahiranih iz vina koje se talože na stjenki tikvice. Nastavite sa kuhanjem pri čemu neka struji zrak ili dušik. Unutar 15 minuta ukupni SO_2 se prenio i oksidirao. Izmjerite sumporastu kiselinu stvorenu titracijom sa 0,01 M otopinom NaOH. Označimo sa n količinu iskorištenog.

Izračun

n je broj milimetara 0,01 M otopine utrošenog NaOH, ukupni sadržaj sumpornog dioksida u moštu u milimetrima po litri: $6,4 \times n$

Za sva daljnja pitanja stojimo Vam na raspolaganju.

Srdačan pozdrav!

Hrvoje August, dipl. ing.

