

Djelovanje sumporovog dioksida u vinu

Sažetak

Sumpor se u vinarstvu koristi stoljećima, kako je vrijeme pokazalo, zbog svojih antioksidativnih i antiseptičkih svojstava. Zamjena mu još nije pronađena, koja bi udovoljila zahtjevima trajnosti i biološke stabilnosti. Negativni učinci upotrebe sumporovog dioksida uglavnom su vezani za njegovu primjenu u prekomjernim količinama. Visoke koncentracije sumporovog dioksida ugrožavaju miris i okus vina i znatno povećavaju rizik od stvaranja sumporovodika. S obzirom da može izazvati alergijske reakcije, sumporov dioksid je označen kao alergen i njegova koncentracija u vinima je na tržištu zakonski regulirana. Iz svega navedenog, nužno je da se sumporov dioksid kvantificira u vinu pomoću različitih metoda.

Ključne riječi: sumporov dioksid, alergen, zakonski propisi, metode određivanja sumporovog dioksida

Uvod

Tijekom alkoholnog vrenja, kvasci proizvode sumporov dioksid (SO_2) kao metabolički međuprodukt puta redukcije sulfata do sulfita (Donalies i Stahl, 2002; Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Sojevi kvasca razlikuju se po svojoj sposobnosti da formiraju SO_2 , procjenjujući ukupni prosječni sadržaj u rasponu od 0 do 115 mg L⁻¹ (Werner i sur., 2009; Wells i Osborne, 2011; Miranda-Castilleja i sur., 2015; Rauhut, 2017). Dodavanje SO_2 , tradicionalno se smatra učinkovitom metodom zaštite i očuvanja vina u različitim fazama proizvodnje zbog njegovih antioksidacijskih i antimikrobnih učinaka (McGovern, 2003). SO_2 je najučinkovitiji aditiv koji se koristi za sprječavanje oksidacije u proizvodnji vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006; Waterhouse i sur., 2016). SO_2 može suzbiti enzimske i kemijske oksidacije, pri čemu se prva gotovo u cijelosti događa u moštu od grožđa, dok je potonja prevladavala u vinu (Li i sur., 2008). Jedan od najvažnijih izazova znanstvenika i proizvođača vina je pronalazak uspješne zamjene za SO_2 u radu s vinom (Sonni i sur., 2009; Cejudo-Bastante i sur., 2010; Ferrer-Gallego i sur., 2017), posebice zbog potencijalnih štetnih kliničkih učinaka kod osjetljivih osoba.

Antioksidacijska i antimikrobna uloga SO_2

SO_2 je jedan od najčešće korištenih aditiva u prehrambenoj industriji, koji može vinu osigurati antioksidacijsku zaštitu i mikrobiološku stabilnost. Kada djeluje antioksidacijski, dolazi do reakcije s vodikovim peroksidom i stvaranja sumporne kiseline, čime se ograničava oksidacija fenola i drugih zasićenih hidroksilnih sastojaka, te dolazi do gubitaka SO_2 . Također, smanjuje aktivnost degenerativnog enzima tirozinaze (polifenol-oksidade), koja je nazočna u soku. Zbog sposobnosti SO_2 da se veže s prekursorima i produktima oksidacije, može se koristiti preventivno i kao tretman. Na primjer, oksidirano bijelo vino sa smeđim nijansama i orašastim mirisom, može se poboljšati dodatkom SO_2 koji izbjeljuje boju i veže se s acetaldehidom kako bi smanjio taj miris (Danilewicz, 2016). Nadalje, pri niskim koncentracijama, SO_2 inhibira respiraciju i reprodukciju šire mikroflore, a pri visokim koncentracijama može biti letalan za mikrobiološke populacije. Mehanizam antimikrobnog djelovanja SO_2 očituje se tako što SO_2 ulazi u mikrobe

¹ Nebojša Kojić, dipl. ing., Vupik plus d.o.o., Sajmište 113C, 32000 Vukovar, Hrvatska
Autor za korespondenciju: nkojic@ptfos.hr

i remeti aktivnost enzima i proteina u stanici. Budući da samo molekularni oblik SO_2 može difundirati kroz staničnu membranu, koncentracija molekularnog SO_2 kontrolira mikrobnog rast (Oelofse i sur., 2008; Bartowsky, 2009; Divol i sur. 2012). Također, što je niža pH vrijednost mošta, to je potrebno manje SO_2 , jer kiselijska sredina također inhibira širok spektar mikroorganizama (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

Oblici sumporovog dioksida u vinu

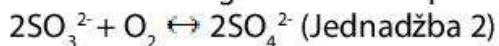
Postoje tri uobičajena oblika sumpora u vinu. To su:

- elementarni sumpor (S), nazočan u proteinima, koristi se na grožđu radi prevencije truljenja,
- sulfidi (sumporovodik i merkaptani), koji pokazuju miris na pokvarena jaja, proizveden kada kvasci i bakterije reduciraju elementarni sumpor (S) u sumporovodik (H_2S), kao primjer reduciranog sumpora,
- sulfiti - SO_2 i svi njegovi oblici.

Za reakcije u vinu, najvažniji su sulfiti. U vinu se pojavljuju u tri oblika. To su: molekularni SO_2 , zatim bisulfit (HSO_3^-) te sulfit (SO_3^{2-}). Udio svake od ovih frakcija ovisi o termodinamičkoj konstanti i pH vrijednosti sredine. Disocijacija SO_2 se odvija veoma brzo, gotovo trenutno. Dio dodanog SO_2 reagira s vodom (H_2O) i tvori bisulfit (HSO_3^-) i sulfit (SO_3^{2-}) (Jednadžba 1) (Waterhouse, 2016):



Sulfit zatim reagira s kisikom i proizvodi sulfat (Jednadžba 2).



Kod ravnoteže, brzina kojom bisulfitni ioni postaju sulfiti jednaka je brzini sulfitnih iona koji postaju bisulfiti. Reakcija između različitih vrsta sulfita odvija se u oba smjera u ravnotežnom stanju, tako da koncentracija sulfitnih spojeva ostaje stabilna. Kada sulfit reagira s drugom molekulom i postane dio njegove strukture, više ne sudjeluje u reakciji ravnoteže i naziva se vezanim. Sulfiti koji su još uvijek dio ravnotežne reakcije nazivaju se slobodnim. Kombinirane količine slobodnih i vezanih sulfita nazivaju se ukupni SO_2 . Što je više spojeva dostupnih u vinu na koje se sulfiti mogu vezati, to će biti veći odnos vezanog prema ukupnom sulfitu. Stoga će vina koja nisu taložena ili filtrirana imati niži omjer slobodnog i ukupnog SO_2 (Waterhouse, 2016).

Funkcija i odnos slobodnog i vezanog SO_2

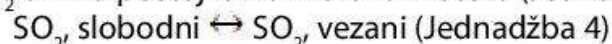
SO_2 se u vinu nalazi u slobodnom i vezanom obliku. Sadržaj slobodnog SO_2 sastoji se iz tri sulfitna dijela: molekularnog SO_2 , bisulfita (HSO_3^-) i sulfita (SO_3^{2-}). Manje od 5 % SO_2 obično postoji u svom neutralnom, takozvanom (tzv.) molekularnom obliku (Waterhouse i sur. 2016). Molekularni SO_2 javlja se ili u plinovitom stanju ili u obliku pojedinačnih molekula u moštu ili vinu. Hlapljiv je i iz vina se može izdvajati kod njegove izloženosti zraku, a posebno kod mijenjanja ili pretakanja vina. Međutim, molekula SO_2 je jedini sulfitni oblik koji pokazuje senzorne učinke. U visokim koncentracijama (osjetilni prag = 2 mg L⁻¹), pokazuje miris svježe upaljene šibice (Waterhouse i sur., 2016). Iz razloga što su ukupne koncentracije SO_2 regulirane u većini vinarskih zemalja, definiranje odgovarajućih minimalnih molekularnih koncentracija SO_2 od značaja je za vinarski svijet. Molekularni SO_2 ovisi o koncentraciji slobodnog SO_2 i pH, i može se izračunati pomoću Jednadžbe 3 (Waterhouse i sur., 2016):

$$\text{Molekularni } \text{SO}_2 = \text{Slobodni } \text{SO}_2 / (1 + 10^{\text{pH}-1.8}) \text{ (Jednadžba 3)}$$

Bisulfitna forma (HSO_3^-) je dominantni oblik SO_2 pri pH vrijednostima vina između 3,0 i 3,8 (Stockley, 2005; Fugelsang i Edwards, 2007; Waterhouse i sur., 2016). Bisulfit inaktivira enzime iz skupine polifenoloksida te dovodi do smanjenja koncentracije smeđih kinona. Pomaže izdvajanje antocijanina iz pokožice bobica crnog grožđa, ali sudjeluje i u njihovom izbjeljivanju i usporava njihovu polimerizaciju s drugim fenolnim spojevima. Reagira i s karbonilnim spojevima poput acetaldehida, tvoreći spojeve poput hidroksisulfonske kiseline (Danilewicz, 2007). Antiseptičko djelovanje bisulfitna na kvasce je slabo. Bisulfit je bez mirisa, ali ima slano-gorki okus (Oliveira i sur., 2011).

Pri uobičajenim pH vrijednostima vina, koncentracije sulfita (SO_3^{2-}) su zanemarive, a njegove reakcije s kisikom su spore. Ovo je jedini oblik SO_2 koji se direktno veže s kisikom. U koncentracijama, u kojima se uobičajeno nalazi u moštu i vinu, ne utječe na njihov miris i okus (Stockley, 2005).

Vezani SO_2 je dio koji je vezan za molekule u vinu, čime postaje dio strukture tih molekula. Jednom vezana, molekula više ne pruža zaštitu. Međutim, slabe veze formirane vezanim SO_2 , dopuštaju njegovo otpuštanje od molekula, kako bi se ponovno mogle vezati, primjerice, s aldehydima (acetaldehyd), šećerima, taninskim i obojenim tvarima. Afinitet prema acetaldehydu je najveći i taj spoj je stabilniji od ostalih (Azevedo i sur., 2007). Između slobodnog i vezanog SO_2 u vinu postoji dinamička ravnoteža (Jednadžba 4):



Točni odnosi koncentracija slobodnog i vezanog SO_2 , ovise najviše o temperaturi i sastavu vina. Pri višim temperaturama, ravnoteža se pomiče ulijevo, tj. vezani SO_2 disocira, pa se povećava količina slobodnog, i obratno. Dodavanjem novih količina SO_2 u vino, on u početku najvećim dijelom postoji kao slobodni SO_2 , pa se postupno veže te se poslije određenog vremena uspostavlja ravnoteža između količine vezanog i slobodnog SO_2 . Poslije narušavanja jedne ravnoteže (promjena temperature, dodavanje nove količine SO_2) potrebno je vrijeme od nekoliko dana i stabilni uvjeti, dok se ne uspostavi nova ravnoteža (Danilewicz i sur., 2008). Tipičan cilj slobodnog SO_2 za sprječavanje oksidacije vina je 20 do 40 mg L⁻¹ (Waterhouse i sur., 2016), ovisno o stilu vina, uvjetima starenja i očekivanom roku trajanja. Odnosi između količina dodanog i slobodnog SO_2 su složeni, ali se može reći da oni u najvećoj mjeri ovise o ukupnom sadržaju SO_2 u vinu te koncentracijama različitih spojeva vina za koje se SO_2 veže. Ukupni SO_2 definira se kao ukupna količina svih oblika SO_2 nazočnih u vinu, bilo u slobodnom stanju ili u kombinaciji s njihovim sastojcima. Što je veći ukupni sadržaj SO_2 , manje će se dodatno vezati SO_2 (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

Veza s acetaldehydom

Acetaldehyd je mala i vrlo reaktivna molekula sa aromom zelene trave, jabuke ili orašastih plodova. Njegov organoleptički utjecaj i njegova sposobnost brzog djelovanja sa SO_2 , čak i na niskim temperaturama, čine ovaj spoj jednim od ključnih produkata oksidacije tijekom proizvodnje vina (Zea i sur., 2015; Coetzee i sur., 2016b). Kad je u vezanom obliku, pretpostavlja se da je senzorni učinak acetaldehida smanjen (Jackowitz i sur., 2011), pa se preporučuje održavanje dovoljne razine slobodnog SO_2 kako bi se osigurala fiksacija acetaldehida. Acetaldehyd može nastati biološki (pomoću kvasca na početku alkoholnog vrenja) i kemijski (uglavnom nakon alkoholnog vrenja kada vina nisu zaštićena od oksidacije atmosferskim kisikom). Acetaldehyd obično ima više od 80 % vezanog SO_2 u vinima, a njegovo vezanje u osnovi je kemijski nepovratno (Pan i sur., 2011; Jakowitz i sur., 2011). Udio SO_2 vezan na acetaldehyd vrlo je slabo dostupan za zaštitu vina, jer je ta kombinacija vrlo stabilna. S druge strane, nastajanje spojeva SO_2 s drugim vrstama (piruvična kiselina, α -ketoglutarat) je reverzibilna, stoga ovi spojevi predstavljaju rezervoar slobodnog SO_2 nakon njihove hidrolize (Waterhouse i sur., 2016).

Odnos pH i vina

Za različite pH vrijednosti u vinu može se prikazati postotak slobodnog SO_2 koji je naznačen kao molekularni SO_2 (Tablica 1). Za bijela vina, razina molekularnog SO_2 od $0,8 \text{ mg L}^{-1}$, usporit će rast kvasca i spriječiti rast većine drugih mikroba. Ova razina SO_2 vezat će veći dio acetaldehida u vinu i značajno će smanjiti negativne arome kao posljedica oksidacije (Waterhouse i sur., 2016). Postotak slobodnog SO_2 koji je u molekularnom obliku izravno je povezan s pH vina. Kako se pH snižava ($\leq 3,0$), u vino se mora dodati manje SO_2 kako bi se zadržale odgovarajuće molekularne razine. Vinu koje je bliže pH 4,0 trebat će mnogo više SO_2 da zadrži odgovarajuću molekularnu razinu. Na molekularnim razinama ispod $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, SO_2 ne pruža dovoljno antimikrobnu zaštitu kako bi osigurao stabilnost vina. Kod molekularne razine iznad $0,8 \text{ mg L}^{-1}$, slobodni SO_2 se može osjetiti kao peckanje ili iritantni osjet u nosnom prolazu (Waterhouse i sur., 2016). Tablica 2. prikazuje koliko je slobodnog SO_2 potrebno za održavanje optimalnih vrijednosti molekularnog SO_2 pri različitim pH razinama.

Tablica 1. Postotak slobodnog SO_2 (kao molekularnog) pri različitim pH vrijednostima/
Table 1. The percent of the free SO_2 (as molecular) at different pH levels

pH vina/pH of the wine	% molekularnog SO_2 /The percentage of molecular SO_2
3,0	6,06
3,1	4,88
3,2	3,91
3,3	3,13
3,4	2,51
3,5	2,00
3,6	1,60
3,7	1,27
3,8	1,01
3,9	0,81
4,0	0,64

Izvor/Source: <https://www.accuvin.com/wp-content/uploads/2015/04/How-SO2-and-pH-are-Linked.pdf>

Tablica 2. Odnos pH i slobodnog SO_2 za izračun Jednadžbe 3/Table 2. The ratio of pH to free SO_2 to calculate Equation 3

pH/pH	3,0	3,1	3,2	3,3	3,4	3,5	3,6	3,7	3,8	3,9
Slobodni SO_2 /Free SO_2	14	18	22	28	35	44	55	69	87	109

Izvor/Source: <https://hannainst.com/resources/wine/ebooks/measuring-so2-in-wine-hanna-instruments.pdf>

Sumporovodik (H_2S)

U kemijskoj reakciji u kojoj sumpor dobiva elektrone, on se reducira. Spojevi koji se sastoje od reduciranog sumpora nazivaju se sulfidi. Sulfidne spojeve karakterizira jak, neugodan miris. Sumporovodik (H_2S), spoj je koji vinu može dati miris po trulim jajima. Može imati nekoliko izvora, ali najčešće je rezultat zaostale sumporne prašine nazočne na grožđu prilikom berbe. Nadalje, H_2S može proći daljnju kemijsku reakciju kako bi tvorilo spojeve zvane merkaptani. Merkaptani također imaju snažne neugodne arome koje podsjećaju na kupus i češnjak (Coetzee i sur., 2006a).

Gubici sumporovog dioksida

SO₂ se konzumira dok reagira s kisikom, a jedan dio reagira i postaje vezani SO₂. Stopa gubitka SO₂ ovisi prvenstveno o uvjetima čuvanja vina. Vina koja se čuvaju u hladnim podrumima i velikim spremnicima s minimalno otpražnjenim prostorom, mogu izgubiti oko 5 mg L⁻¹ slobodnog SO₂ u mjesecu. S druge strane, vino pohranjeno u toplim podrumima, u malim, djelomično ispunjenim i često otvorenim spremnicima, može izgubiti 20 mg L⁻¹ ili više slobodnog SO₂ u mjesecu (Danilewicz, 2016). Stoga, mnoge vinarije korigiraju SO₂ u vina jednom mjesečno. SO₂ u vinu se smanjuje tijekom skladištenja i dozrijevanja u boci. Kako pokazuje jedno od istraživanja, količina slobodnog SO₂ u vinima punjenim u staklene boce, koje najbolje čuvaju svojstva vina, za godinu dana se smanji za 42 - 48 % (Kojić i Jakobek, 2019).

Sumporov dioksid kao alergen

Osim što se veća količina SO₂ negativno odražava na kvalitetu vina (organoleptički), ona također utječe na određeni dio ljudske populacije, koji je znatno osjetljiv na sumpor. Iz tog razloga je klasificiran kao alergen, te je Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organisation - WHO) procijenila maksimalno prihvatljiv dnevni unos (engl. acceptable daily intake - ADI) od 0,7 mg SO₂ po kilogramu tjelesne težine (WHO, 2009).

Nakon što se vino konzumira, sumpor se umjesto kisika veže na hemoglobin, pa mozgu nedostaje kisika, percipirajući takvo stanje kao glavobolju. Prema *Direktivi EC/2003/89*, sulfiti, u koncentracijama većim od 10 mg kg⁻¹ ili 10 mg L⁻¹ izraženi kao SO₂, moraju se naznačiti na deklaraciji proizvoda. Stoga su potrošači sve više orijentirani na „zdrave“ proizvode bez kemijskih konzervansa (Costanigro i sur., 2014). Iz tog razloga, većina država ima stroge smjernice o maksimalnim dopuštenim razinama sulfita u vinu. EU legislativa odredio je graničnu koncentraciju ukupnog SO₂ do 150 mg L⁻¹ u crnim vinima i 200 mg L⁻¹ u bijelim i ružičastim vinima koja sadrže najviše 5 g L⁻¹ reducirajućih šećera (*Uredba EU br. 606/2009*), a koju primjenjuju sve članice Europske Unije.

Određivanje sumporovog dioksida u vinu

Međunarodno su prihvaćene dvije metode za kvantificiranje slobodnih i ukupnih sulfita u vinu ili moštu (*Compendium, 2006*). Konvencionalne metode kao što su analiza ubrizgavanja protokom, metoda aeracije i oksidacije (A-O) te jodometrijska metoda po Ripperu (Iland, 2004) uključuju početni korak zakiseljavanja i razrjeđivanja. To može dovesti do poremećaja slabo vezanih bisulfitnih spojeva, rezultirajući umjetno visoke koncentracije slobodnog SO₂, a samim tim i molekularnog SO₂. Novi su trend metode koje izbjegavaju promjene u sastavu vina. Na primjer, cijevi za otkrivanje plina (eng. headspace gas-detection tube HS-GDT), mogu se koristiti za mjerenje koncentracija SO₂ u glavnom prostoru u uravnoteženom uzorku, a molekularni SO₂ tada se može izračunati pomoću Henryjevog zakona (Coelho i sur. 2015). Ostale metode uključuju kolorimetrijske (Oliveira i sur., 2009), kromatografske metode (Koch i sur., 2010), fluorometriju, kemiluminescentnu spektrometriju (Ruiz-Capillas i Nollet, 2015) te različite elektroanalitičke tehnike, poput voltometrije, amperometrije i potenciometrije (Pisoschi, 2014; Kilmartin, 2016). Mnoge od ovih metoda provode se pomoću sustava za ubrizgavanje protoka koji uključuju jedinicu za difuziju plina za uklanjanje molekularnog SO₂ iz tekućine prije otkrivanja. Također, slobodni i vezani SO₂ mogu se odrediti korištenjem postupka aeracije, oksidacije, destilacije i titracije (Morgan i sur., 2019).

Zaključak

U vinu, spojevi pod zajedničkim imenom sulfiti, skupina su spojeva koji sadrže sumpor. Nema vina koja su u potpunosti bez sulfita, jer su oni prirodni nusproizvodi fermentacije. Sulfiti

pomažu pri inhibiciji rasta štetnih mikroorganizama, ograničavaju oksidaciju fenola, smanjuju aktivnost polifenol-oksidadze, vežu se s produktima oksidacije. Prilikom sulfitiranja vina, događa se antioksidativno djelovanje, odnosno, sprječava se oksidacija (posmeđivanje) vina, a time i kvarenje, što izuzetno utječe na kvalitetu vina. Zatim, sulfitiranje djeluje antiseptički, jer pomaže u uklanjanju neželjene mikroflore iz vina, ubrzava taloženje, što u konačnici rezultira bistrijim vinom. Koncentracija slobodnog sumporovog dioksida kao aktivne sastavnice u zaštiti vina ne smije biti previsoka, jer će organoleptički narušiti sklad vina. Povoljniji odnos slobodnog i ukupnog sumporovog dioksida, jamči pravilnije čuvanje vina, do i nakon punjenja u ambalažu. Najbolja strategija za upravljanje sumporovim dioksidom je zadržati njegovu najnižu učinkovitu razinu uz poštivanje zakonskih i zdravstvenih zahtjeva. Stoga je od izuzetne važnosti kvantificirati sumporov dioksid u vinu pomoću navedenih metoda.

Literatura

- Bartowsky, E. J. (2009) Bacterial spoilage of wine and approaches to minimize it. *Letters in Applied Microbiology*, 48 (2), 149–156.
- Cejudo-Bastante, M. J., Sonni, F., Chinnici, F., Versari, A., Perez-Coello, M. S., Riponi, C. (2010) Fermentation of sulphite-free white musts with added lysozyme and oenological tannins: Nitrogen consumption and biogenic amines composition of final wines. *LWT- Food Science and Technology*, 43 (10), 1501–1507.
- Coelho, J. M., Howe, P. A., Sacks, G. L. (2015) A headspace Gas Detection Tube Method to Measure SO₂ in Wine without Disrupting SO₂ Equilibria. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66 (3), 257–265.
- Coetzee, C., Brand, J., Jacobson, D., Du Toit, W. J. (2016a) Sensory effect of acetaldehyde on the perception of 3-mercaptopentan-1-ol and 3-isobutyl-2-methoxypyrazine. *Australian Journal of Grape and Wine research*, 22 (2), 197–204.
- Coetzee, C., Van Wyngaard, E., Šuklje, K., Silva Ferreira, A. C., Du Toit, W. J. (2016b) Chemical and Sensory Study on the Evolution of Aromatic and Nonaromatic Compounds during the Progressive Oxidative Storage of a Sauvignon blanc Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (42), 7979–7993.
- Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*; O.I.V.: Paris, France, 2006; Volume 2.
- Costanigro, M., Appleby, C., & Menke, S. D. (2014) The wine headache: Consumer perceptions of sulfites and willingness to pay for non-sulfited wines. *Food Quality and Preference*, 31, 81–89.
- Danilewicz, J. C. (2007) Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: Central role of iron and copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58, 53–60.
- Danilewicz, J. C., Seccombe, J. T., Whelan, J. (2008) Mechanism of interaction of polyphenols, oxygen, and sulfur dioxide in model wine and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59, 128–136.
- Danilewicz, J. C. (2016) Reaction of oxygen and sulfite in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 67, 13–17.
- De Azevedo, L. C., Reis, M. M., Motta, L. F., Da Rocha, G. O., Silva, L. A. De Andrade, J. B. (2007) Evaluation of the formation of stability of hydroxyalkylsulfonic acids in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (21), 8670–8680.
- Directive 2003/89/EC of the European Parliament and of the Council of 10 November 2003 amending Directive 2000/13/EC as regards indication of the ingredients present in foodstuffs. *Official Journal of the European Union L 308/15*, 25 November 2003.
- Divol, B., Du Toit, M., Duckitt E. (2012) Surviving in the presence of sulphur dioxide: Strategies developed by wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95 (3), 601–613.
- Donalies, U. E., Stahl, U. (2002) Increasing sulphite formation in *Saccharomyces cerevisiae* by overexpression of MET14 and SSU1. *Yeast*, 19 (6), 475–484.
- Ferrer-Gallego, R., Puxeu, M., Nart, E., Martín, L., Andorrà, I. (2017) Evaluation of tempranillo and albariño SO₂-free wines produced by different chemical alternatives and winemaking procedures. *Food Research International*, 102, 647–657.
- Fugelsang, K. C., Edwards, C. G. (2007) *Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures* (2nd ed). Springer, New York.
- <https://hannainst.com/resources/wine/ebooks/measuring-so2-in-wine--hanna-instruments.pdf> (15.11.2019.)
- <https://www.accuvin.com/wp-content/uploads/2015/04/How-SO2-and-pH-are-Linked.pdf> (15.11.2019.)
- Iland, P., Bruer N., Edwards G., Weeks S., Wilkes E. (2004) Analysis Method. U: *Chemical Analysis of Grapes and Wine: Techniques and Concepts*. Patrick Iland Wine Promotions; Campbelltown, Australia, str. 57.
- Jackowetz, J. N., Dierschke, S. E., Mira De Orduña, R. M. (2011) Multifactorial analysis of acetaldehyde kinetics during alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Research International*, 44 (1), 310–316.
- Kilmartin, P. A. (2016) Electrochemistry applied to the analysis of wine: A mini-review. *Electrochemistry Communications*, 67, 39–42.
- Koch, M., Köppen, R., Siegel, D., Witt, A., Nehls, I. (2010) Determination of total sulfite in wine by ion chromatography after in-sample oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (17), 9463–9467.
- Kojić, N., Jakobek, L. (2019) Chemical and sensory properties of red wines from Baranja vineyards // *Proceedings of International Conference 17th Ružička days "Today Science - Tomorrow industry"* / Tomas, S.; Ačkar, Đ. (ed.). Osijek i Zagreb: Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Food Technology Osijek, Croatian Society of Chemical Engineers, 63–71.

- Li, H., Guo, A., Wang, H. (2008) Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry*, 108 (1), 1–13.
- McGovern, P. E. (2003) *Ancient Wine: The Search for the Origins of Viniculture*. Princeton University Press, Princeton.
- Miranda-Castilleja, D. E., Ortiz-Barrera, E., Arvizu-Medrano, S. M., Ramiro-Pacheco, J., Aldrete-Tápia, J. A., Martínez-Peniche, R. A. (2015) Aislamiento, selección e identificación de levaduras *Saccharomyces* spp. nativas de viñedos en Querétaro, México. *Agrociencia*, 49 (7), 759–773.
- Morgan, S.C., Tantikachornkiat, M., Scholl, C. M., Benson, N. L., Clif, M. A., Durall, D. M. (2019) The effect of sulfur dioxide addition at crush on the fungal and bacterial communities and the sensory attributes of Pinot gris wines. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 1–14.
- Oelofse, A., Pretorius, I. S., Du Toit, M. (2008) Significance of *Brettanomyces* and *Dekkera* during winemaking: A synoptic review. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 29 (2), 128–144.
- Oliveira, S. M., Lopes, T. I., Tóth, I. V., Rangel, A. O. (2009) Development of a gas diffusion multicommuted flow injection system for the determination of sulfur dioxide in wines, comparing malachite green and pararosaniline chemistries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (9), 3415–3422.
- Oliveira, C. M., Ferreira, A. C. S., De Freitas, V., Silva, A. M. S. (2011) Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International*, 44 (5), 1115–1126.
- Pan, W., Jussier, D., Terrade, N., Yada, R. Y., de Orduña, R. M. (2011) Kinetics of sugars, organic acids and acetaldehyde during simultaneous yeast-bacterial fermentations of white wine at different pH values. *Food Research International*, 44 (3), 660–666.
- Pisoschi, A. M. (2014) Electroanalytical Techniques for the Determination of Sulphite Preservative: An Editorial. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 3 (2), 1–2.
- Rauhut, D. (2017) Usage and formation of sulphur compounds. U: König, H., Uden, G., Fröhlich, J., (eds) *Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer, Cham, 255–291.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donéche, B., Lonvaud, A. (2006) The use of sulfur dioxide in must and wine treatment. U: *Handbook of Enology Vol. 1. The Microbiology of Wine and Vinifications*. (2nd ed). Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd., 193–224.
- Ruiz-Capillas, C., Nollet, L. M. L. (2015) *Flow Injection Analysis of Food Additives* (1st ed.). CRC Press, Boca Raton.
- Sonni, F., Bastante, M. J. C., Chinnici, F., Natali, N., Riponi, C. (2009) Replacement of sulfur dioxide by lysozyme and oenological tannins during fermentation: Influence on volatile composition of white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (4), 688–696.
- Stockley, C. (2005) Sulfur dioxide and the wine consumer. *Australian and New Zealand Grapegrower & Winemaker*, 501, 73–76.
- Uredba Komisije (EZ) br. 606/2009 od 10. srpnja 2009. o utvrđivanju određenih detaljnih pravila za provedbu Uredbe Vijeća (EZ) br. 479/2008 u pogledu kategorija proizvoda od vinove loze, enoloških postupaka i primjenjivih ograničenja
- Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., Jeffery, D. W. (2016) Sulfur dioxide. U: *Understanding Wine Chemistry*. John Wiley & Sons, UK, 140–148.
- Wells, A., Osborne, J. P. (2011) Production of SO₂ binding compounds and SO₂ by *saccharomyces* during alcoholic fermentation and the impact on malolactic fermentation. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 32 (2), 267–279.
- Werner, M., Rauhut, D., Cottureau, P. (2009) Yeasts and natural production of sulphites. *Internet Journal of Enology and Viticulture*, 12 (3), 1–5.
- WHO (2009) Evaluation of certain food additives: Sixty-ninth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. In: WHO technical report series No. 952.
- Zea, L., Serratos, M. P., Mérida, J., Moyano, L. (2015) Acetaldehyde as Key Compound for the Authenticity of Sherry Wines: A Study Covering 5 Decades. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14 (6), 681–693.

Prispjelo/Received: 15.11.2019.

Prihvaćeno/Accepted: 4.12.2019.

Review paper

Impact of sulfur dioxide in wine

Abstract

Sulfur dioxide has been used in winemaking for centuries, as time has shown, for its antioxidant and antiseptic properties. No replacement has been found yet, which would meet the requirements of durability and biological stability. The negative effects of sulfur dioxide use are mainly related to its use in excessive amounts. High concentrations of sulfur dioxide compromise the aroma and taste of wine and significantly increase the risk of hydrogen sulfide formation. Because it can cause allergic reactions, sulfur dioxide is designated as an allergen and its concentration in wines is regulated by law. From all the above it is necessary to quantify sulfur dioxide in wine by different methods.

Keywords: sulfur dioxide, allergen, legal regulations, methods of determining sulfur dioxide