

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Uroš JALOVEC

**ZORENJE VINA SORTE MODRA FRANKINJA Z  
MIKROOKSIDACIJO**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**MATURATION OF MODRA FRANKINJA SORT WINE WITH  
MICROOXIDATION**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Delo je potekalo v laboratoriju Katedre za Tehnologijo prehrane in vina na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Mojmirja Wondro in za recenzenta doc. dr. Rajka Vidriha.

Mentor: doc. dr. Mojmir Wondra

Recenzent: doc. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Uroš Jalovec

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn  
DK UDK 663.222:663.256.2(043)=163.6  
KG vino/modra frankinja/zorenje vina/vinske posode/nerjaveče jeklene posode/leseni sodi/steklene posode/mikrooksidacija/kisik/fenoli/barva vina/sestavine vina/senzorične lastnosti  
AV JALOVEC, Uroš  
SA WONDRA, Mojmir (mentor)/ VIDRIH, Rajko (recenzent)  
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo  
LI 2009  
IN ZORENJE VINA SORTE MODRA FRANKINJA Z MIKROOKSIDACIJO  
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)  
OP X, 71 str., 7 pregl., 21 sl., 36 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Mikrooksidacija je proces pri katerem z vpihovanjem majhnih količin kisika vplivamo na kakovost mladih rdečih vin. Namen mikrooksidacije je, da pod določenimi pogoji značilno vplivamo na fenolno strukturo vin in s tem povečamo stabilnost ter intenziteto barve, zmeščamo trpke tanine, povečamo oksidativno stabilnost ter zmanjšamo neprijetne vegetativne arome vina. V diplomski nalogi smo proučevali učinke mikrooksidacije (3 mL kisika/L/teden, ki smo jih vpihovali v nerjavno jekleno posodo z mikrooksidacijo) na spremembo barvnih in ostalih fizikalno-kemijskih parametrov ter na vsebnost fenolnih snovi vina sorte modra frankinja. Pri analizah osnovnega in končnega vzorca smo določali vrednost pH, skupne titrabilne in hlapne kisline, orientacijsko pufrno kapaciteto, vsebnost skupnega in prostega žvepla, vsebnost relativne gostote in alkohola, vsebnost skupnih fenolnih spojin ter barvne parametre (intenziteta barve, ton barve, delež rdečega pigmenta, delež rdeče barve pri različnih valovnih dolžinah – 420, 520 in 620 nm). Prav tako smo podali senzorično oceno vzorcev vin. Za primerjavo smo enake vzorce vina istočasno spremljali v stekleni in leseni posodi. Rezultati so pokazali, da je mikrooksidacija povzročila spremembo barvnega značaja, izboljšanje intenzitete barve končnega vzorca v primerjavi s kontrolnim ter spodbudila tvorbo polimerizacijskih produktov, ki so zmeščali tanine in tako izboljšali senzorično zaznavo končnih vzorcev vina.

## KEY WORD DOCUMENTATION

- DN Dn  
DC UDC 663.222:663.256.2(043)=163.6  
CX wines/Modra Frankinja/maturation of wines/wine containers/stainless steel containers/wooden barrels/glass containers/microoxidation/oxygen /phenols/colour of wine/wine components/sensory properties  
AU JALOVEC, Uroš  
AA WONDRA, Mojmir (supervisor)/ VIDRIH, Rajko (reviewer)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology  
PY 2009  
TI MATURATION OF MODRA FRANKINJA SORT WINE WITH MICROOXIDATION  
DT Graduation thesis (University studies)  
NO X, 71 p., 7 tab., 21 fig., 36 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB Microoxidation is a process which with blowing of small amounts of oxygen influences on the quality of young red wines. Purpose of microoxidation is that under specific conditions significantly influences on the phenolic structure of wines and following on the increase of colour stability and colour intensity, it softens dry tannins, increases oxidative stability and reduces unpleasant vegetative wine flavour. In the graduation thesis we studied effects of microoxidation (3 mL oxygen/L/week were blown into stainless steel container with microoxidation) on changes of colour and other physical and chemical parameters and on phenolic content of modra frankinja sort wine. We analyzed basic sample and sample at the end of the test and determined pH value, total titratable and volatile acids, orientational buffer capacity, total and free SO<sub>2</sub> content, relative density and alcohol content, total phenolic compounds content, and colour parameters (colour intensity, colour hue, degree of red pigment colouration, degree of red pigment colouration at different wavelength – 420, 520 and 620 nm). We also did sensorial evaluation of wine samples. We added samples of wine into glass and wooden containers as a comparison to microoxidated sample. Results showed that microoxidation caused change in colour character, improved the wine colour density as compared to the control and stimulated formation of polymeric products which softened tannins and therefore improved sensorial perception of final wine samples.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>KEY WORD DOCUMENTATION.....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>1 UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 CILJ DELA.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2 DELOVNA HIPOTEZA .....</b>	<b>2</b>
<b>2 PREGLED OBJAV.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 SESTAVINE VINA .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.1 Voda .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.2 Alkoholi .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.2.1 Etanol.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.2.2 Metanol.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2.3 Višji alkoholi .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2.4 Polioli .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1.3 Ogljikovi hidrati .....</b>	<b>5</b>
2.1.3.1 Monosaharidi .....	6
2.1.3.2 Disaharidi .....	6
2.1.3.3 Polisaharidi .....	7
<b>2.1.4 Organske kisline .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.5 Aldehidi .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.6 Estri.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.7 Dušikove spojine .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.8 Žveplove spojine .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.9 Fenolne spojine .....</b>	<b>9</b>
2.1.9.1 Flavonoidi .....	10
2.1.9.2 Neflavonoidi .....	11
2.1.9.3 Barva vina.....	12
2.1.9.4 Vonj in okus vina.....	13
2.1.9.5 Oksidacija in antioksidativna sposobnost fenolov.....	13
2.1.9.6 Antimikrobno delovanje fenolov.....	13
<b>2.1.10 Vitamini .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1.11 Minerali .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.12 Plini .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.13 Aromatične spojine.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.14 Žveplov dioksid.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 ZORENJE VINA .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2.1 Vinska posoda .....</b>	<b>17</b>

2.2.1.1	Lesena vinska posoda .....	17
2.2.1.2	Betonske cisterne .....	17
2.2.1.3	Jeklene cisterne .....	17
2.2.1.4	Steklene posode .....	18
2.2.1.5	Plastične posode .....	18
2.2.2	<b>Sprememba barve med zorenjem vina .....</b>	<b>18</b>
2.2.3	<b>Sprememba okusa vina med zorenjem .....</b>	<b>18</b>
2.2.4	<b>Sprememba vonja vina med zorenjem .....</b>	<b>18</b>
2.2.5	<b>Zorenje vina v steklenici .....</b>	<b>18</b>
2.3	<b>MIKROOKSIDACIJA .....</b>	<b>19</b>
2.3.1	<b>Vpliv mikrooksidacije na barvo vina .....</b>	<b>20</b>
2.3.2	<b>Vpliv mikrooksidacije na okus in aromo vina .....</b>	<b>20</b>
2.3.3	<b>Faze mikrooksidacije .....</b>	<b>21</b>
2.3.3.1	Faza izgradnje .....	21
2.3.3.2	Faza harmonizacije .....	21
2.3.3.3	Faza nasičenja .....	21
2.3.4	<b>Kisik .....</b>	<b>22</b>
2.3.4.1	Topnost kisika .....	23
2.3.5	<b>Oksidacija in prosti radikali .....</b>	<b>24</b>
2.4	<b>MODRA FRANKINJA .....</b>	<b>25</b>
3	<b>MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>27</b>
3.1	<b>MATERIALI .....</b>	<b>27</b>
3.2	<b>NASTAVITEV IN POTEK POSKUSA .....</b>	<b>27</b>
3.3	<b>VPIHOVANJE KISIKA .....</b>	<b>28</b>
3.4	<b>METODE DELA .....</b>	<b>29</b>
3.4.1	Vzorčenje .....	29
3.4.2	Določanje pH vina .....	29
3.4.3	Določanje pufrne kapacitete vina .....	30
3.4.4	Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v vinu .....	31
3.4.5	Določanje žveplovega dioksida v vinu .....	33
3.4.6	Določanje relativne gostote in alkohola v vinu .....	34
3.4.7	Določanje hlapnih kislin v vinu .....	35
3.4.8	Določanje fenolnih spojin v vinu .....	37
3.4.9	Določanje barve vina .....	40
3.4.10	Senzorično določanje lastnosti vina .....	42
4	<b>REZULTATI .....</b>	<b>43</b>
4.1	<b>REZULTATI DOLOČANJA TITRABILNIH KISLIN V VINU .....</b>	<b>46</b>
4.2	<b>REZULTATI DOLOČANJA ORIENTACIJSKE PUFRNE KAPACITETE .....</b>	<b>47</b>
4.3	<b>REZULTATI DOLOČANJA pH VREDNOSTI .....</b>	<b>47</b>
4.4	<b>REZULTATI DOLOČANJA SKUPNEGA IN PROSTEGA ŽVEPLA .....</b>	<b>48</b>
4.5	<b>REZULTATI DOLOČANJA RELATIVNE GOSTOTE IN ALKOHOLA .....</b>	<b>49</b>
4.6	<b>REZULTATI DOLOČANJA SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN .....</b>	<b>49</b>
4.7	<b>REZULTATI DOLOČANJA HLAJNIH KISLIN .....</b>	<b>54</b>
4.8	<b>REZULTATI DOLOČANJA BARVE VINA .....</b>	<b>54</b>
4.9	<b>REZULTATI SENZORIČNEGA DOLOČANJA KAKOVOSTI VINA .....</b>	<b>60</b>

4.9.1	Dodatek taninov .....	61
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI .....</b>	<b>63</b>
5.1	RAZPRAVA.....	63
5.1.1	Skupne (titrabilne kisline) .....	63
5.1.2	Orientacijska pufrna kapaciteta .....	63
5.1.3	pH.....	63
5.1.4	Relativna gostota in alkohol .....	63
5.1.5	Skupno in prosto žveplo .....	64
5.1.6	Hlapne kisline.....	64
5.1.7	Fenolne spojine .....	64
5.1.8	Barvni parametri .....	65
5.1.9	Senzorična ocena .....	65
5.2	SKLEPI .....	66
<b>6</b>	<b>POVZETEK .....</b>	<b>67</b>
<b>7</b>	<b>VIRI.....</b>	<b>69</b>

## KAZALO PREGLEDNIC

<b>Preglednica 1:</b> Standardne raztopine galne kisline za pripravo umeritvene krivulje (Košmerl in Kač, 2004).....	39
<b>Preglednica 2:</b> Vpliv časa zorenja vina sorte modra frankinja v različnih vinskih posodah na fizikalnokemijske parametre (povprečna vrednost $\pm$ standardni odklon) $\rightarrow$ (Duncanov test, $\alpha = 0,05$ ).....	44
<b>Preglednica 3:</b> Primerjava zorenja vina sorte modra frankinja v različnih vinskih posodah po 4. tednih na fizikalnokemijske in senzorično ocenjene parametre (povprečna vrednost $\pm$ standardni odklon) $\rightarrow$ (Duncanov test, $\alpha = 0,05$ ).....	45
<b>Preglednica 4:</b> Skupne (titrabilne) kisline v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo hranjeno v stekleni posodi (vzorec št. 1).....	46
<b>Preglednica 5:</b> Skupne (titrabilne) kisline v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo hranjeno v lesenem sodu (vzorec št. 2).....	46
<b>Preglednica 6:</b> Skupne (titrabilne) kisline v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo hranjeno v nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo (vzorec št. 3).....	46
<b>Preglednica 7:</b> Spremljanje vrednosti pH v vinu sorte modra frankinja.....	48



## KAZALO SLIK

<b>Slika 1:</b> Disociacija fenola v vodni raztopini (Klofutar in sod., 1998).....	9
<b>Slika 2:</b> Strukturna formula flavona (Cushnie in Lamb, 2005).....	10
<b>Slika 3:</b> Strukturna formula elagične kisline (Belitz in Grosch, 1987).....	11
<b>Slika 4:</b> Različne faze mikrooksidacije pri rdečem vinu (Dykes in Kilmartin, 2007).....	22
<b>Slika 5:</b> Maksimalna količina kisika, ki se lahko doda v vino pri različnih temperaturah (Nel, 2000).....	24
<b>Slika 6:</b> Modra frankinja (Izletniška kmetija Na koncu vasi, 2009).....	26
<b>Slika 7:</b> Potek poskusa mikrooksidacije vina sorte modra frankinja.....	28
<b>Slika 8:</b> Mikrooksidator MICRODUE <sup>®</sup> (Lesica, 2005).....	29
<b>Slika 9:</b> Shema aparature za spektrofotometrijo (Pihlar, 2001).....	37
<b>Slika 10:</b> Vidni del elektromagnetnega spektra (Pihlar, 2001).....	37
<b>Slika 11:</b> Primer umeritvene krivulje za izračun skupnih fenolnih spojin.....	40
<b>Slika 12:</b> Časovno spreminjanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo zoreno v stekleni posodi (vzorec št. 1).....	50
<b>Slika 13:</b> Časovno spreminjanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo zoreno v lesenem sodu (vzorec št. 2).....	51
<b>Slika 14:</b> Časovno spreminjanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin pri vzorcu št.3 (mikrooksidacija v nerjavni posodi).....	52
<b>Slika 15:</b> Primerjava sprememb vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo.....	53
<b>Slika 16:</b> Primerjava spreminjanja intenzitete barve v vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo.....	55
<b>Slika 17:</b> Primerjava spreminjanja tona barve v vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo.....	56
<b>Slika 18:</b> Primerjava spreminjanja deleža (%) rdeče barve, tj. prostih in vezanih antocianinov v obliki flavilijevega kationa, v vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo.....	57

<b>Slika 19:</b> Primerjava spreminjanja deleža (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm pri vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo.....	58
<b>Slika 20:</b> Primerjava spreminjanja deleža (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm pri vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo.....	59
<b>Slika 21:</b> Primerjava spreminjanja deleža (%) rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm pri vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo.....	60





## 1 UVOD

Vino je po uradni definiciji EU iz leta 1971 pridelek, dobljen izključno s popolnim ali delnim alkoholnim vrenjem sladkorja v svežem pa tudi zdrozganem grozdju ali moštu. Izraz vino lahko uporabljamo samo za pijačo, dobljeno iz plemenitih sort vinske trte *Vitis vinifera*. Človeku je vino pomagalo preživeti, vplivalo je na kulturo, jo velikokrat soustvarjalo in bilo predmet opevanja in upodabljanja (Šikovec, 1996).

Zaradi svoje pomembnosti v človeški kulturi, zgodovini in vsakdanu, je vino postalo predmet mnogih razprav in proučevanj iz več vidikov: tehnološkega, biološko-kemijskega, senzoričnega, zdravstvenega in gastronskega. Vino je pridelek narave, človeških rok in človekovega znanja. Rodi se v vinogradu, dozori pa v vinski kleti. Od vseh naštetih dejstev je odvisna njegova končna kakovost.

Tehnološki postopek pridelave vina je sestavljen iz več faz. Ena najvažnejših je zorenje vina, se pravi faza dokončnega oblikovanja. Za pravilno zorenje vina je potreben kisik, ki uravnava oksidoredukcijske reakcije zorenja. Naloga enologa je, da s pravilnimi tehnološkimi postopki uravnava procese oksidacije – zorenja. Še zlasti rdeča vina, ki vsebujejo več fenolnih snovi potrebujejo več kisika v fazi zorenja. Če hočemo te procese pospešiti se lahko enolog odloči za dovajanje manjših količin kisika v fazi zorenja, kar imenujemo mikrooksidacija.

Pojem mikrooksidacije si lahko razlagamo kot tehniko pridelave vina, ki vsebuje dodajanje majhnih in kontroliranih količin kisika (Ortega-Heras in sod., 2008). Kisik je dodan v obliki stisnjene molekularnega plina skozi difuzer mikronske velikosti, ki je postavljen blizu dna nerjavečega jeklenega tanka. Ti mehurčki kisika se dvigujejo skozi vino in se raztapljajo, ko potujejo proti površju. Stopnje toka so kontrolirane s komoro, ki ima tlačni mehanizem za sprožitev. Ponavadi rangirajo od 0,25 do 100 ml/L/mesec (Rayne, 2007; Cano-Lopez in sod., 2008). Vino praktično konzumira ves kisik, ki ga absorbira. Stopnja raztopljenega kisika je pod normalnimi pogoji (20°C; 101,3 kPa). Ti dve dejstvi sta osnovni za način delovanja mikrooksidacije (Parish in sod., 2000). Ta tehnika zorenja je uporabna predvsem za rdeča vina, saj imajo le-ta visok antioksidacijski potencial, ki izvira iz njihovega relativno velikega deleža fenolnih spojin. Le-te so prav tako pomembne tudi zaradi njihovega vpliva na barvo, vonj in okus, so osnova za staranje vina, delujejo kot konzervansi ter tudi antimikrobno (Bavčar, 2006).

Leta 1873 je Louis Pasteur dejal, da kisik naredi vino, katero se pod njegovim vplivom stara. Mikrooksidacija je bila formalno razvita v Franciji v sredini 90. let prejšnjega stoletja z namenom, da bi kopirali pogoje v sodu za vina, ki so bila starana v velikih nerjavečih jeklenih in betonskih posodah (Dykes in Kilmartin, 2007). Tehnika in metodologija mikrooksidacije je bila v veliki meri razvita zaradi naporov Patricka Ducournaua in Thierrya Lemariea iz francoske družbe Oenodev (Parish in sod., 2000).

Kar nekaj faktorjev lahko vpliva na končne rezultate, kadar uporabljamo proces mikrooksidacije: kdaj začnemo s postopkom in kako dolgo ga izvajamo, količina vpihanega kisika ter fenolne značilnosti vina. Na različne sorte vin mikrooksidacija različno vpliva. Na vina z manjšo fenolno vsebnostjo je na primer ta vpliv manjši kot na

tista z višjo vsebnostjo fenolov (Cano-Lopez in sod., 2008). Zanimivo je dejstvo, da je sam postopek mikrooksidacije prisoten v vinarstvu že od nekdaj, saj proces vinifikacije in zorenja vina poteka v posodah oziroma lesenih sodih, ki bolj ali manj prepuščajo kisik. Problem, ki se pojavlja v novejšem času se nanaša predvsem na jeklene posode, ki pa same po sebi niso porozne in ne prepuščajo kisika. Prav zaradi tega je zelo pomembno, da če je le možno izvajamo postopek mikrooksidacije z naknadnim vpihovanjem kisika v vino, ki je že v jeklenih tankih. S tem izboljšamo senzorične lastnosti, omogočimo stabilnost in intenziteto barve, povišamo oksidativno stabilnost, zmanjšamo reduktiven karakter in zmanjšamo nastanek vegetativnih arom (Rayne, 2007).

## **1.1 CILJ NALOGE**

Diplomsko nalogo smo izvedli z namenom, da ugotovimo, kako sam postopek mikrooksidacije vpliva na razvoj vina sorte modra frankinja glede nekaterih kemičnih parametrov ter senzorične zaznave.

## **1.2 DELOVNA HIPOTEZA**

Predvidevali smo, da bo vpihovanje kisika in njegove reakcije z različnimi spojinami v vinu, vplivalo na izboljšanje stabilnosti in intenzitete barve, zmehčalo tanine ter pripomoglo k tvorbi stabilnejših polimeriziranih produktov. Predpostavljali smo tudi, da bo sama koncentracija fenolnih spojin variirala zaradi različnih kemijskih reakcij, ki jih bo vzpodbudilo vpihovanje kisika. Cilj naloge je bil doseči hitrejše oblikovanje sestavin vina in doseči boljše senzorične lastnosti vina zorenega s pomočjo mikrooksidacije v primerjavi z zorenjem v lesenem sodu oziroma v stekleni posodi.

## **2 PREGLED OBJAV**

### **2.1 SESTAVINE VINA**

Šikovec (1996) navaja, da je vino najplemenitejša pijača, ki je najmanj 8000 let že zvest človekov spremljevalec. Vino ima na svoji poti od trte do uživanja življenjska obdobja tako kot človek. Sadež zori na trti, vino se rodi med alkoholnim vrenjem, doseže svoj kakovostni vrh in se s prestaranjem zlomi.

Za takšen potek dogodkov so seveda v prvi vrsti odgovorne predvsem številne kemijske spojine, ki gradijo vina. Kemijska sestava vina je zelo spremenljiva. Odvisna je od številnih naravnih danosti in v veliki meri tudi od dela vinogradnika in vinarja. Je izredno kompleksna pijača, saj vsebuje več kot 1300 do sedaj znanih sestavin med katerimi sta osnovni vsekakor voda in etanol. Ostale značilne sestavine vina so še določena količina neprevretega sladkorja grozdja, organske kisline, glicerol, polifenolne barvilne in taninske snovi, dušične snovi, aromatične snovi, vitamini in mineralne snovi (Pogačnik, 2006).

#### **2.1.1 Voda**

Voda (H<sub>2</sub>O) je najpomembnejša spojina na svetu. Najdemo jo na površju, v ozračju, v živalih in rastlinah. Ker je molekula vode polarna, je voda dobro polarno topilo (Wertheim in sod., 1987).

Voda je najbolj zastopana spojina v vinu, saj jo vsebuje 75 do 85%. Zaradi vsebnosti vode se vino obnaša kot tekočina, deluje kot topilo in kot reagent v kemijskih reakcijah v celotnem procesu pridelave od grozdja do zorenja vina (Bavčar, 2006).

#### **2.1.2 Alkoholi**

##### **2.1.2.1 Etanol**

Je nedvomno najpomembnejši alkohol v vinu. Vinu daje kemijsko in mikrobiološko stabilnost, deluje kot topilo in zagotavlja posebne senzorične lastnosti. Njegova gostota znaša 0,79 g/L. V vinu je največkrat produkt alkoholne fermentacije sladkorja v moštu, čeprav se lahko male količine etanola tvorijo tudi v celicah grozdja. Za 1% vol. etanola med alkoholno fermentacijo je potrebna približno 18 g/L sladkorja (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Kemijsko gledano je etanol primarni alkohol z molekularno formulo C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH. Njegov ogljik 1 je tetraedično hibridiziran sp<sup>3</sup> in nosi dva atoma vodika, ki sta podvojena s hidroksi radikalom. Privlačnost etanola z vodo in njegova topnost z oblikovanjem vodikovih vezi ga naredi za močan dehidrant. Ta lastnost je pomembna pri flokulaciji hidrofilnih koloidov, proteinov ter polisaharidov. Prav tako daje etanolu razkuževalne lastnosti, kar je zelo pomembno pri zorenju vina (Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Delitev vin po količini alkohola (Bavčar, 2006):

- tanka vina (do 9% vol. alkohola)
- blaga in lahka vina (9,5-10,5% vol. alkohola)
- srednje močna vina (10,5-12% vol. alkohola)
- močna vina (12,5-14% vol. alkohola)
- zelo močna (nad 14% vol. alkohola)

Vplivi etanola kot spojine (Bavčar, 2006):

- pomembno topilo v ekstrakciji barvil in taninov med vinifikacijo rdečih sort
- raztaplja hlapne snovi, ki se akumulirajo med fermentacijo, in tiste, ki se oblikujejo med zorenjem v leseni posodi
- sodeluje pri tvorbi hlapnih snovi kot reaktant
- pri zorenju vina počasi reagira z organskimi kislinami in tvori estre, z aldehidi pa acetate
- vinu senzorično doda svoj specifičen vonj ter okus, stopnjuje zaznavo sladkosti in grenkobe, v večjih koncentracijah pa deluje pekoče

Prav tako je etanol eden od pogojev stabilnosti vina, saj je z njegovo prisotnostjo le-to mikrobiološko bolj obstojno kot bi bilo sicer. Vino z višjo alkoholno stopnjo je bolj obstojno kot tisto z nizko alkoholno stopnjo.

#### 2.1.2.2 Metanol

Slovenska vinska zakonodaja dovoljuje v belih in rose vinih do 150 mg/L metanola, v rdečih pa do 300 mg/L. Metanol ne vpliva na senzorične lastnosti vina in minimalno reagira z drugimi spojinami v vinu. Vina iz grozdja, napadenega s plesnijo *Botrytis cinerea*, imajo splošno večjo koncentracijo metanola (Bavčar, 2006).

Metanol se ne tvori med alkoholno fermentacijo, ampak kot posledica encimske hidrolize metoksi skupine pektinov med fermentacijo (Ribereau-Gayon in sod., 2000).



Strupeni učinki metanola so dobro poznani. Po zaužitju oksidira v forminski aldehid (formaldehid) in forminsko kislino (mravljična kislina), ki sta toksična za centralni živčni sistem. Vina pridelana po normalni poti nimajo količino metanola nikoli blizu nevarne koncentracije ( $\text{LD}_{50} = 350 \text{ mg/kg}$ ) (Ribereau-Gayon in sod., 2000).

#### 2.1.2.3 Višji alkoholi

Pomembni so pri zorenju vina, saj se iz njih tvorijo estri. Med alkoholno fermentacijo njihova sinteza poteka vzporedno s sintezo alkohola. Kvasovke oblikujejo višje alkohole direktno iz sladkorja ali pa iz aminokislin grozdja po Erlichovi poti. Njihova vsebnost se lahko poveša z mikrobiološkim kvarom, ki vključuje kvasovke ali bakterije. Na višje alkohole vpliva tudi T fermentacije, vsebnost skupnega dušika v moštu in dekantacija mošta (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).



Višji alkoholi so alkoholi z več kot dvema C atomoma. Ti alkoholi in njihovi estri imajo intenziven vonj in igrajo pomembno vlogo pri aromi vina. Glavni višji fermentacijski alkoholi so: izobutil (metil-2-propanol-1), amilni alkoholi (mešanice metil-2-butanol-1 in metil-3-butanol-1) in izoamil alkohol, ki predstavlja več kot 50% vseh višjih alkoholov. Pri majhnih koncentracijah (manj kot 300 mg/L) prispevajo h kompleksnosti vinske arome, medtem ko pri večjih njihov prodoren vonj zamaskira fineše vinske arome (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

#### 2.1.2.4 Polioli

To so alkoholi, ki imajo v svoji linearni ali ciklični molekuli tri ali več hidroksilne skupine. Akumulacija hidroksi radikalov v spojini zelo poveča točko vrelišča zaradi velikega števila vodikovih vezi. Prav tako se poveča viskoznost, topnost in sladkost. Prav zaradi slednjega jim pravimo tudi sladki alkoholi. Vinu dajejo uravnoteženost in poudarijo telo, še posebej pri vinih posebnih kakovosti (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Predstavniki poliolorov so (Ribereau-Gayon in sod., 2000):

- C<sub>3</sub> polioli: glicerol
- C<sub>4</sub> polioli: 2,3-butandiol in eritrol
- C<sub>5</sub>: polioli: arabinol
- C<sub>6</sub> polioli: manitol, sorbitol in mezoinozitol

Najpomembnejši polioli je vsekakor glicerol, saj je poleg vode in etanola kemijska spojina z največjo koncentracijo v vinu. Je najpomembnejši stranski produkt alkoholne fermentacije. Minimalna koncentracija glicerola v vinu je 5 g/L, lahko pa doseže vrednosti od 15-20 g/L, odvisno od pogojev fermentacije (posebej stopnje zveplanja pri moštu). Strukturna formula glicerola (Ribereau-Gayon in sod., 2000):



Glicerol deluje sladko in pripomore k občutku polnosti, predvsem v belih suhih vinih. V vinu je sicer stabilen, lahko pa služi tudi kot vir ogljika za mikroorganizme, kot so oacetnokislinske bakterije in nekatere mlečnokislinske bakterije (Bavčar, 2006).

#### 2.1.3 Ogljikovi hidrati

Ogljikovi hidrati so organske spojine, ki vsebujejo samo ogljikove, vodikove in kisikove atome. Njihova splošna formula je C<sub>x</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>. Njihovo ime upravičimo z dejstvom, da ti sladkorji nastanejo s fotosintezo v listih kar kaže na pomembnost vsebnosti vode v dozorevanju grozdja (Wertheim in sod., 1987; Ribereau-Gayon in sod., 2000).



Ogljikovi hidrati nakazujejo afiniteto napram vodi. Njihov hidrofilni značaj napoveduje njihovo visoko topnost v vodi. Velika topnost enostavnih sladkorjev v vodi razloži njihovo krioprotektivno zmožnost. Ker so sestavljeni iz polifunkcionalnih molekul, so zmožni sodelovati pri velikem številu kemijskih, biokemijskih in metabolnih reakcij. Tako so

prekurzorji organskih kislin, prav tako so prekurzorji za fenole in celo aromatske aminokislino kot so tirozin, fenilalanin in triptofan (Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Njihova končna koncentracija v vinu je pomembna za mikrobiološko stabilnost vina, za delitev vina v kategorije po kakovosti in senzorično zaznavo vina. Njihov sladki okus v pravilnem razmerju s kislino vzpostavi ravnotežje v vinu, večja koncentracija sladkorjev pa tudi prekrije zaznave grenkobe (Bavčar, 2006).

Ogljikove hidrate delimo na (Bavčar, 2006):

- a) monosaharidi: heksoze (glukoza, fruktoza) in pentoze (arabinoza, ksiloza in ramnoza)
- b) disaharidi: saharoza
- c) polisaharidi: pektini, glukani, škrob, dekstrani

#### 2.1.3.1 Monosaharidi

Delimo jih na heksoze (sladkorji s 6 C atomi) in pentoze (sladkorji s 5 C atomi). Oboje oziroma njihov ostanek v vinu po alkoholni fermentaciji imenujemo reducirajoči sladkorji. Imajo aldehidno in ketonsko funkcijo (bolj natančno  $\alpha$ -hidroksiketon), ki reducira alkalno kuprinsko raztopino (Fehlingova raztopina), ki se uporablja za njihovo kemijsko določanje. Koncentracija reducirajočih sladkorjev je odločilna za senzorične lastnosti vina, za zaznavo sladkega okusa pa so pomembni tudi vplivi ostalih spojin (etanol, kisline in fenoli) (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Dve glavni heksozi vakuolarnega soka grozdnih jagodnih celic sta: D-glukoza (dekstroza) in D-fruktoza (levuloza). Med zorenjem se razmerje glukoza/fruktoza spreminja zaradi delovanja epimeraz v smer povečevanja deleža fruktoze. Koncentracija glukoze in fruktoze v zrelem grozdju je med 150 in 250 g/L. Ta dva sladkorja sta zamenjujoča s kemijsko ali encimsko epimerizacijo preko enediola in sta zato funkcionalna izomera (Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Pentoz je v vinu mnogo manj kot heksoz. Kvasovke jih ne morejo uporabiti kot substrat. Če je koncentracija vseh reducirajočih sladkorjev do 1,5 g/L, imajo pentoze celo večinski delež v suhih vinih. Dejstvo je, da manj prispevajo k sladkemu okusu vina kot heksoze (Bavčar, 2006).

#### 2.1.3.2 Disaharidi

Med disaharide prištevamo: melibiozo (reducirani galaktoza in glukoza), maltozo (reducirani glukoza in glukoza), laktozo (reducirani glukoza in galaktoza), rafinozo (nereducirani fruktoza in melibioza), trehalozo (nereducirani glukoza in glukoza) ter saharozo (nereducirani glukoza in fruktoza) (Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Saharoza je najpomembnejši disaharid in je esencialen prehranski sladkor. Je odlično topna v vodi in se tudi z lahkoto kristalizira, kar olajša bistrenje vina. Kemijsko je optično aktiven diglikozid, sestavljen iz glukoze in fruktoze. Glukoza in fruktoza sta povezani preko kisikovega atoma med prvim C-atomom v molekuli glukoze in drugim C-atomom v molekuli fruktoze. Čeprav saharoze same po sebi kvasovke ne uporabljajo direktno, pa

privzemajo produkte njene hidrolize, ki jih kvasovke pridobijo s pomočjo encima invertaze (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

### 2.1.3.3 Polisaharidi

To so spojine z veliko molekulsko maso (do 5 milijonov), ki so zgrajene iz molekul sladkorjev (saharidi). V grozdju imajo dve pomembni funkciji: strukturno (celuloza, pektin) in energetska (škrob). Po navadi je njihova koncentracija večja v rdečih vinih, kjer v tehnološkem postopku uporabimo višjo temperaturo za ekstrakcijo barvnih spojin. V vinu in moštu so pomembni zaradi velikosti molekul in koloidnih lastnosti, saj lahko predstavljajo probleme pri filtraciji in preprečujejo bistrenje vina. Koncentracija polisaharidov v dokončno negovanem vinu je zelo majhna. Del jih prispevajo tudi kvasovke iz celičnih sten, predvsem med podaljšanim stikom vina s kvasovkami (Bavčar, 2006; Pogačnik, 2006).

Polisaharidi zmanjšajo trpek okus vina kadar so povezani s fenolnimi sestavinami (tanini). (Ribereau-Gayon in sod., 2000).

### 2.1.4 Organske kisline

V vinu so prisotne predvsem vinska, jabolčna, mlečna, očetna in jantarna kislina ter v zelo majhnih količinah še ostale kisline iz cikla trikarboksilnih kislin. Skupna koncentracija kislin v vinu je običajno v intervalu od 5,5 do 8,5 g/L. Bela vina jih vsebujejo več kot rdeča, izjemi sta teran PTP in refošk. Koncentracija kislin je pomembna za stabilnost, barvo, kislost oziroma primeren pH in obstojnost vina. Imajo velik vpliv na senzorično ravnotežje vina (Bavčar, 2006).

Skupno vsem organskim kislinam je, da so sestavljene iz polifunkcionalnih molekul, mnoge od teh so hidroksi kisline. Ta dva radikala (hidroksi in karboksilni) dajeta tem kislinam polarne in hidrofilne lastnosti. Kot rezultat vsega tega so topne v vodi in celo v razredčenih alkoholnih raztopinah kot je vino. Njihove polifunkcionalne značilnosti so prav tako odgovorne za kemijsko reaktivnost, ki jim omogoča razvoj med zorenjem vina. Lastnost večine organskih kislin v vinu je tudi ta, da imajo enega ali dva asimetrična ogljika. To so značilnosti biološko pomembnih molekul (Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Funkcije kislin v vinu so (Bavčar, 2006):

- imajo velik vpliv na senzorično zaznavo vina. Kisel okus vina je odvisen od koncentracije titrabilnih kislin, pH vrednosti, razmerja med vinsko in jabolčno kislino ter količino mineralnih snovi.
- imajo odločilen vpliv na pH vina in s tem na veliko število reakcij, ki potekajo med pridelavo vina
- manjša pH vrednost vina pomeni bolj stabilno barvo rdečih vin. Tako pridobimo bolj rdeče odtenke barve antocianov, istočasno pa je vsaj delno preprečena oksidacija
- manjša pH vrednost onemogoča rast mikroorganizmom
- sodelujejo pri stabilizaciji, saj pospešujejo usedanje pektinov in beljakovin
- prispevajo k boljši aromi vin, saj kislinska hidroliza v glikozide vezanih aromatičnih spojin sprošča proste terpene, fenole, norizoprenoide

– med zorenjem vina sodelujejo pri tvorbi estrov in razvoju t.i. "ležalne arome"

### 2.1.5 Aldehidi

Acetaldehid (etanal) predstavlja več kot 90 % vseh aldehydov, ki jih najdemo v vinu. Čeprav je pomembna komponenta vina, so večje koncentracije (100 do 125 mg/L) nezaželene, ker povzročajo aldehydno noto vin (sveže naribano jabolko). Največ ga nastane med alkoholno fermentacijo, drugi vir nastanka je oksidacija fenolnih snovi in etanola. Oksidacija etanola poteče s peroksidnim ali hidrokسيلnim radikalom, ki se sprostita med začetno oksidacijo polifenolov, kateri vsebujejo katehol in v prisotnosti kovinskih katalizatorjev. Acetaldehid ima veliko reaktivnost (CHO radikal ima razširjeno kemijsko afiniteto), prav tako hitro reagira z SO<sub>2</sub> pri nizkih temperaturah. Igra pomembno vlogo pri spremembi barve, ki nastane v rdečem vinu med staranjem zaradi kopolimerizacije fenolov (antocianinov in katehinov). Acetaldehid, ki nastane z oksidacijo etanola in tisti, ki je že prisoten zaradi fermentacije kvasovk, lahko povežeta antocianine in flavanole v nestabilne pigmente povezane z etilom (vijoličasto rdeče) in v bolj stabilne (oranžne) piranoantocianinske pigmente (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000; Fell in sod., 2007).

Drugi pomembni aldehydi so fenolni aldehydi, ki nastanejo pri razgradnji lignina lesenih posod (aldehyd cimetine kisline, vanilin), kot posledica delovanja kvasovk in plesni *Botrytis cinerea* (benzaldehyd) ali pa izvirajo iz grozdja. Predvsem višji aldehydi prispevajo k cvetici nekaterih vin (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

### 2.1.6 Estri

So izrednega pomena za aromo vina. Nastajajo z reakcijo med karboksilno skupino organskih kislin in hidrokسيلno skupino alkoholov (alifatski estri) ali fenolov (fenolni estri). To je reverzibilna reakcija, ki je omejena z invertno reakcijo hidrolize estrov. Estri imajo v vinu dva izvora: encimska esterifikacija med fermentacijo in kemijska esterifikacija med dolgotrajnim zorenjem (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Pomembnejši so alifatski estri, saj jih je bistveno več kot fenolnih, poleg tega pa so tudi bolj hlapni. Pomembni so tisti, ki nastanejo med etanolom in nasičenimi maščobnimi kislinami (etil heksanat, etil oktanoat, etil dekanat) ter tisti med očetno kislino in etanolom ali višjimi alkoholi (etilacetat, izoamil acetat, izobutil acetat, 2-fenil etil acetat, heksil acetat). Slednji so t.i. sadni estri, ki so zaželjeni (Bavčar, 2006).

### 2.1.7 Dušikove spojine

Dušik je eden izmed najbolj razširjenih elementov v vesolju, zato tudi ne čudi dejstvo, da ga najdemo tudi v vinu. V vinu ga najdemo v anorganski in organski obliki. Koncentracija skupnega dušika (anorganski del + organski del) v moštu znaša od 1,0 do 2,0 g/L. Od tega anorganski del (amoniak in amonijeve spojine) znaša do 300 mg/L, ostalo so organske spojine med katerimi prevladujejo aminokisline, ki znašajo od 50 do 90% koncentracije skupnega dušika. Te so: prolin, glutamin, arginin, serin, treonin, glutamat in alanin. Ostale organske dušikove spojine so: amidi, amini, heksozamini ali aminirani sladkorji,

nukleinski dušik, beljakovine in polipeptidi. Po alkoholni fermentaciji v vinu nastanejo ali ostanejo tudi druge dušikove spojine: preostale aminokisliline iz celic kvasovk ali med ležanjem vina na drožeh: biogeni amini, urea, etil karbamat (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

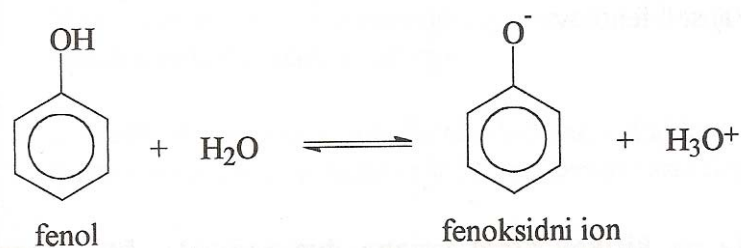
### 2.1.8 Žveplove spojine

Hlapne žveplove spojine so naravno prisotne v vinih. Njihova prisotnost je posledica delovanja kvasovk med fermentacijo. Na splošno je količina, ki nastane redko večja kot 10 mg/L, vendar v določenih primerih lahko prekorači 30 mg/L. Nekatere spojine z žveplom so del sorte arome (hlapni tioli: 4-merkpto-4-metilpentan-2-ol, 3-merkptoheksan-1-ol, 3-merkpto-3-metilbutan-1-ol z vonjem po limoninih olupkih ali grenivki). Izhajajo iz prekursorjev, v katerih so omenjene spojine vezane s cisteinom. Koncentracija sproščenih tiolov v vinih je dokazano različna glede na vrsto uporabljenih sevov kvasovk med alkoholno fermentacijo (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

### 2.1.9 Fenolne spojine

Fenolne spojine so pomembne, saj vinu dajejo barvo, vplivajo na vonj in okus, so osnova za zorenje vina, delujejo kot antioksidanti in konzervansi ter izkazujejo antimikrobno aktivnost. Izvirajo iz različnih delov grozdja in se ekstrahirajo med pridelavo vina. Njihova struktura variira med zorenjem vina v sodih in steklenicah odvisno od pogojev zorenja. Splošno so fenoli ciklične (aromatske) spojine z eno ali več hidroksilnimi skupinami, ki so vezane neposredno na aromatsko jedro. Delimo jih na dve osnovni skupini: flavonoidi in neflavonoidi (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000; Klofutar in sod., 1998).

Osnovna spojina je fenol, šibka organska kislina, ki v vodnih raztopinah disociira na oksonijeve in fenoksidne ione. Fenoli so topni v alkalnih raztopinah. Lahko jih nevtraliziramo z vodno raztopino natrijevega hidroksida (Klofutar in sod., 1998).



**Slika 1:** Disociacija fenola v vodni raztopini (Klofutar in sod., 1998)

Na koncentracijo skupnih fenolnih snovi v vinu vplivajo številni dejavniki: čas kontakta grozdnega soka s kožicami in pečkami, koncentracija etanola, temperatura fermentacije, mešanje soka in kožic (pri maceraciji), intenzivnost stiskanja, sorta vinske trte, idr. Koncentracija fenolov je maksimalna na koncu maceracije, potem pa upada z zorenjem zaradi vezave s proteini, pretokov in dodatka čistil. Začasno lahko poveča njihovo

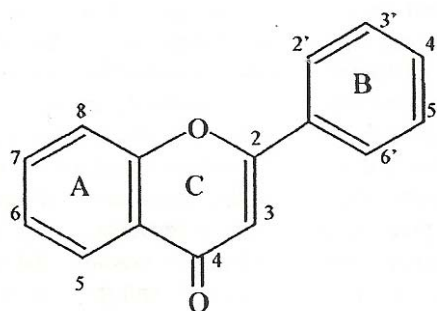
koncentracijo le stik z leseno posodo, predvsem na račun ne flavonoidov (Bavčar, 2006; Košmerl in Kač, 2004).

Fenolne spojine so pomembne kot potencialne aromatične spojine. Nastale aromatične spojine so vinil fenoli (4-vinil gvajakol, 4-vinil fenol) ter etil fenoli (4-etil gvajakol, 4-etil fenol). Vinu dajejo vonj po začimbah, zdravilih, dimu, fenolih, hlevu in konjih. Lahko so tudi del sortne arome (2-feniletanol → po cvetju, vrtnicah) ali pa izhajajo iz lesa (aldehidi kot so benzaldehid, vanilin, sirin, galdehid) (Bavčar, 2006).

### 2.1.9.1 Flavonoidi

So tipične spojine rdečih vin in predstavljajo do 85% vseh prisotnih fenolov, v belih vinih pa le 20%.

Flavonoidi so fenolne spojine, zgrajene iz 15 C atomov. Osnovno spojino flavon sestavljajo strukture, ki jih označimo s  $C_6C_3C_6$ . Osnovno strukturno formulo flavonoidov imenujemo 2-fenilbenzopiran. Med flavonoide spadajo spojine, ki se razlikujejo po oksidacijski stopnji heterocikličnega  $C_3$  obroča, kot tudi po različnih substituentih na obročih A, B in C. V naravi so običajno glikolizirani, kar pomeni, da imajo vezane različne monosaharide, ali pa tudi daljše verige, ki so vezane na obroč. Največkrat je sladkor vezan na  $C_3$ , lahko tudi na  $C_5$  ali  $C_7$  atom. Le redki flavonoidi imajo sladkor vezan na B obroč. Nesladkorni del molekule imenujemo aglikon. Po aglikonu jih ločimo na flavone, flavonole, katehine, flavanole, dihidroflavonole, flavan-3,4-diole, antocianidine, izoflavone, neoflavone, kalkone, dihidrokalkone in avrone (Abram, 2000).



**Slika 2:** Strukturna formula flavona (Cushnie in Lamb, 2005)

Najbolj pogosti so (Bavčar, 2006):

- antociani (so monoglukozidi malvidina, cianidina, delfinidina, petunidina in peonidina ter pripadajoči estri, kjer je glukoza zaestrena z očetno ali p-kumarno kislino). Te delimo naprej na antocianidine (ni vezane sladkorne komponente) in antocianine (vezana sladkorna komponenta)
- flavonoli (kvercetin, miricetin, kamferol)
- flavan-3-oli oziroma flavanoli (katehin, epikatehin in proantocianidini oziroma kondenzirani tanini →  $(C_6-C_3-C_6)_n$ )

Flavonoli in antociani se nahajajo v kožici grozdne jagode. Njihova sinteza je spodbujena s svetlobo. Flavanoli se nahajajo v pečkih in pecljevini ter v kožici grozdne jagode. Flavonoidi splošno lahko obstajajo v prosti obliki, vezani na druge flavonoide, neflavonoide in sladkorje kot glikozidi ali kot kombinacija naštetih oblik. Katehin in epikatehin se polimerizirata v t.i. proantocianidine (kondenzirani tanini), ki so prevladujoča oblika flavanolov (Bavčar, 2006).

Tanini je skupno ime za vse polimerne fenole, ki so sposobni vezati proteine. Mednje uvrščamo tako proantocianidine kot neflavonoidne polimere. Delimo jih na hidrolizabilne (iz neflavonoidnih fenolov) in kondenzirane (iz proantocianidinov). Pri bistrenju rdečih vin z enološkimi sredstvi izkoriščamo sposobnost taninov, da se vežejo na proteine in tako omilimo odvečno grenkobo in trpkost (Bavčar, 2006).

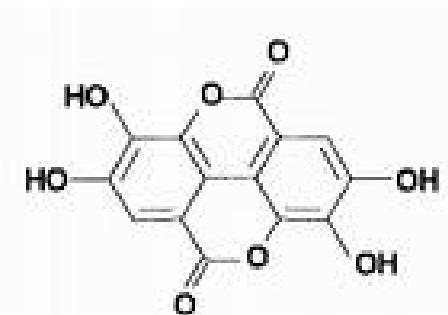
Na vsebnost flavonoidov v grozdju vplivajo sorta, klimatski pogoji, stopnja zrelosti grozdja in lega ter obremenitev vinograda. Na obseg ekstrakcije vplivajo uporabljeni enološki postopki (maceracija kožic in pešk v drozgi, temperatura, dolžina postopka, pH, ter koncentraciji etanola in SO<sub>2</sub>) (Bavčar, 2006).

#### 2.1.9.2 Neflavonoidi

Neflavonoidi iz grozdja so derivati hidroksicimetnih in hidroksibenzojevih kislin ter stilbenov (resveratrol). Predstavljajo večino fenolnih snovi v belih vinih (Bavčar, 2006).

Nahajajo se predvsem v celičnih vakuolah kožice grozdne jagode. Najbolj zastopani in poznani so derivati hidroksicimetnih kislin, ki so vezani oziroma esterificirani na sladkorje, alkohole ali kisline. Med njimi je največ estrov vinske kisline s kavno (kaftarna), p-kumarno (kutarna) in ferulno kislino (fertarna). Najbolj zastopana je kaftarna kislina (okrog 75%) (Bavčar, 2006).

Drugi vir neflavonoidov je ekstrakcija iz lesa. Glavna sestavina je elagična kislina, ki izvira iz hidrolizabilnih taninov lesa, to je polimerov elagične in galne kisline z glukozo. Elagična kislina je v bistvu sestavljena iz dveh molekul galne kisline, ki sta zaestreni. Z razgradnjo lignina se v vino izločajo tudi drugi neflavonoidi (benzaldehidi in aldehidi cimetne kisline). Neflavonoidni tanini se lažje ponovno ločijo v izhodiščne komponente zaradi majhne pH vrednosti vina, medtem ko so flavonoidni tanini relativno stabilni zaradi močnejše kovalentne vezi med vodikom in kisikom posameznih fenolov (Bavčar, 2006).



**Slika 3:** Strukturna formula elagične kisline (Belitz in Grosch, 1987)

### 2.1.9.3 Barva vina

Za barvo rdečih vin so odgovorni predvsem antociani. V belem grozdju niso prisotni. Antociani se v grozdju nahajajo kot monoglukozidi, kar pomeni, da sta med seboj povezana fenolna spojina antocianidina in ena molekula glukoze. Glede na mesto hidroksilne in metilne skupine na B obroču molekule, jih delimo na monoglukozide malvidina, cianidina, delfinidina, petunidina in peonidina. Razmerja in koncentracije naštetih antocianov se spreminjajo glede na sorto grozdja in pogoje rasti, vplivajo pa na odtenek in intenziteto barve (Bavčar, 2006).

V večini rdečih sort grozdja in vina prevladuje monoglukozid malvidina (malvidin-3-glukozid). Glukoza antociane kemijsko stabilizira oziroma prepreči oksidacijo prostih antocianov ter poveča njihovo topnost v vodi. Večina hibridov tvori tudi diglukozidne antociane, ki so bolj stabilni. Ta posebnost je osnova za določanje nežlahtnih sort grozdja v vinu (Bavčar, 2006).

Antociani se vežejo v obarvane komplekse med seboj ali z drugimi fenolnimi spojinami, alkaloidi, aminokislinami in organskimi kislinami. Proces se imenuje kopigmentacija in ima za posledico povečanje intenzitete barve in spremembo absorpcijskega maksimuma. Obarvanost vina je odvisna od pH in prostega SO<sub>2</sub>. Manjša pH vrednost pomeni več najbolj zaželenih ionizacijskih oblik (flavilijev kation) in zato bolj intenzivno rdečo barvo (Bavčar, 2006).

Med maceracijo se poleg antocianov izločajo tudi drugi flavonoidi, kar vodi v kompleksne reakcije med fenolnimi spojinami. Tako katehini in proantocianidini reagirajo s prostimi antociani in antocianidini (vezava antocianov s tanini). To je reakcija polimerizacije, ki se začne že med alkoholno fermentacijo in poteka, dokler niso vezani vsi razpoložljivi antociani. Je odločilna za stabilizacijo barve rdečih vin. Vezava s tanini zaščiti molekulo antocianidina pred oksidacijo, zmanjša izločanje taninov in prepreči razbarvanje zaradi večje pH vrednosti in dodatka SO<sub>2</sub>. Polimerizacija je še hitrejša ob prisotnosti acetaldehida (Bavčar, 2006).

Barva se z zorenjem spreminja s povečevanjem števila polimeriziranih antocianov. Vino pridobiva bolj opečnate odtenke, istočasno pa se intenziteta barve zmanjšuje (Bavčar, 2006). Pogačnik (2006) navaja, da je intenziteta merilo za učinek nekega vpliva (v fiziki je to predvsem merilo za energijo sevanja). Tako gre pri intenziteti barve predvsem za njeno svetlost, kjer večja intenziteta pomeni temnejšo barvo.

Vzrok za zmanjševanje intenzitete barve je izginjanje prostih antocianov, izguba polimerov s sesedanjem in vezavo na protein ter spremembe na polimerih, ki postopoma izgubljajo barvo (Bavčar, 2006).

Za določanje barvnih parametrov je prav tako pomemben barvni ton, ki je sestavljen iz barvne kvalitete ali barvitosti, nasičenosti in količine črne barve ali teme (npr. rdeč, moder, zelen) (Pogačnik, 2006).



#### 2.1.9.4 Vonj in okus vina

Grenkoba in trpkost sta glavni zaznavi, na kateri vplivajo fenolne spojine. Posredno vplivajo tudi na zaznavo sladkosti in kislosti, pa tudi na polnost in harmonijo vina. V rdečih vinih so pomembni katehini in proantocianidini oziroma kondenzirani tanini kot glavni viri grenkobe in trpkosti. Katehini in manj polimerizirani proantocianidini v ustih delujejo bolj grenko, bolj polimerizirani proantocianidini pa predvsem trpko (Bavčar, 2006).

#### 2.1.9.5 Oksidacija in antioksidativna sposobnost fenolov

Sorte grozdja izkazujejo različno občutljivost za oksidacijo in posledično porjavenje. To je razložljivo zaradi različnih koncentracij fenolnih spojin, njihovo sestavo in obnašanjem v prisotnosti kisika ter encimov polifenoloksidaz odgovornih za porjavenje vina (Bavčar, 2006).

Že v moštu se prične encimska oksidacija kaftarne kisline v kinone pod vplivom polifenoloksidaz. Nastali kinoni niso stabilni, ampak se lahko reducirajo nazaj v fenole. Po stiskanju se nadaljuje neencimska oksidacija (avtooksidacija) fenolnih snovi, ki sicer poteka počasneje, zajame pa več različnih fenolnih spojin. Fenoli se s procesom avtooksidacije spreminjajo v kinone. V tem procesu se iz kisika tvori vodikov peroksid. Ta pa oksidira razpoložljivi etanol v acetaldehid (Bavčar, 2006).

Rdeča vina imajo sposobnost porabe (asimilacije) kisika, saj fenolne snovi delujejo kot antioksidanti in vežejo kisik. Poraba kisika je še posebej uspešna, če ga dodajamo kontrolirano v manjših koncentracijah (skozi porozne stene lesenih posod ali z načrtno mikrooksidacijo s posebnimi sondami). Počasno dodajanje kisika tako prepreči nastanek nezaželenih produktov oksidacije, pospešuje usedanje taninov, prepreči akumulacijo vodikovega peroksida in vzdržuje nižji oksidacijsko-redukcijski potencial, ki je ugoden za razvoj ležalne arome (Bavčar, 2006).

#### 2.1.9.6 Antimikrobno delovanje fenolov

Njihovo delovanje na določene bakterije in plesni je povezano z inaktivacijo njihovih encimov, povzročeni s spremembami na celični membrani, sposobnostjo želiranja ali vezavo pomembnih proteinov (Bavčar, 2006). Cushnie in Lamb (2005) navajata, da antimikrobno delovanje fenolnih spojin (predvsem flavonoidov) deluje na principu inhibicije sinteze nukleinskih kislin, inhibicije funkcije citoplazemske membrane ter inhibicije energijskega metabolizma.

#### 2.1.10 Vitamini

So organske spojine, ki jih v majhnih količinah najdemo v hrani. Potrebni so kot pomoč encimom pri katalizi reakcij v telesu (Wertheim in sod., 1987). Boyer (2002) navaja, da so vitamini velika skupina organskih spojin, ki so vključene v različne biološke procese in so pomembne za rast in razvoj organizma. Prav zaradi tega njihovo pomanjkanje lahko občutimo kot bolezensko stanje.

Njihova koncentracija v moštu in nato v vinu se zmanjšuje z alkoholno fermentacijo in zorenjem kot posledica reakcij z SO<sub>2</sub>, vezave s čistili ali pa zaradi svetlobe in višje temperature. Prisotni so askorbinska kislina (vitamin C), tiamin (vitamin B<sub>1</sub>), riboflavin (vitamin B<sub>2</sub>), biotin (vitamin H) in nikotinska kislina. Aktivatorji vrenja ali enološka sredstva za pospeševanje alkoholne fermentacije vsebujejo dodatne vitamine za kvasovke (predvsem tiamin) (Bavčar, 2006).

Najpomembnejši vitamin v vinu je askorbinska kislina, saj zavira kemično oksidacijo. Prav zato lahko njen dodatek v vino pred stekleničenjem (maksimalna količina 100 mg/L) vsaj delno nadomesti dodajanje žveplovega dioksida. Sicer pa askorbinska kislina nima nobenega poznanega delovanja na mikroorganizme ali encime. Z encimi le tekmuje za razpoložljiv kisik. V reakciji s kisikom iz askorbinske kisline nastaja vodikov peroksid, ta oksidira etanol v acetaldehid, ki se veže z SO<sub>2</sub> (Bavčar, 2006).

### **2.1.11 Minerali**

Mineralne snovi so anorganske sestavine hrane, največkrat v obliki soli, ki so nujno potrebne za presnovne procese. Imajo vlogo kot sestavni deli vitaminov in encimov, sodelujejo pri izmenjavi hranil med kvasovkami in okoljem ter reagirajo z drugimi sestavinami, na primer tvorba soli. Izjemoma lahko nekatere težke kovine (živo srebro, kadmij,...) delujejo toksično. Predvsem baker in železo lahko povzročata napake vin (lomi vina), spremembo okusa, oksidacijske reakcije in porjavitve (Pogačnik, 2006; Bavčar, 2006).

### **2.1.12 Plini**

V vinu so raztopljeni različni plini. Prevladujeta ogljikov dioksid in kisik ter žveplov dioksid kot posledica delovanja kvasovk in kot dodatek med procesi pridelave vina. Ostali so lahko posledica zaščite pred oksidacijo z uporabo inertnih plinov (dušik, argon). CO<sub>2</sub> in O<sub>2</sub> ne reagirata z drugimi spojinami v vinu in sta brez vpliva na vonj in okus. V mladem vinu se sicer zadržijo večje koncentracije CO<sub>2</sub>, ki pripomorejo k značilni svežini okusa. Tik pred polnitvijo oziroma stekleničenjem se lahko v vino uvajajo manjše količine CO<sub>2</sub> iz jeklenke za povrnitev svežine, ki se izgubi med zorenjem in enološkimi postopki. Kisik preide v mošt predvsem pri stiskanju. Pri normalnih pogojih se raztopi približno 9 mg kisika/L mošta (Bavčar, 2006).

### **2.1.13 Aromatične spojine**

V vinu je dokazanih več kot 800 spojin, ki vplivajo na vonj, okus in aromo. Na naše čutilne receptorje delujejo hkrati. Spojine, odgovorne za vonj so predvsem alkoholi, kisline, aldehidi, ketoni, terpeni, norizoprenoidi, pirazini in merkaptani. V vinu se z izjemo etanola v povprečju nahajajo v skupni koncentraciji od 0,2 do 1,2 g/L (50% višji alkoholi) (Bavčar, 2006).

Razdelimo jih v tri skupine (Bavčar, 2006):

– aromatične spojine iz grozdja (terpeni, norizoprenoidi, pirazini)

- aromatične spojine, ki nastanejo med alkoholno fermentacijo (alkoholi in višji alkoholi, estri, kisline, aldehidi, ketoni, hlapni fenoli ali fenolni derivati, merkaptani)
- aromatične spojine, ki nastanejo med zorenjem vina (estri maščobnih kislin, terpeni se zmanjšujejo, sprostijo se nekateri norizoprenoidi, žveplove spojine → ležalna aroma, hlapni fenoli, aromatične spojine lesa)

Med zorenjem vina v posodah in ležanjem v steklenicah se dogajajo kompleksne spremembe vonja in arome. To so razpad nekaterih aromatičnih spojin iz grozdja, hidroliza vezanih aromatičnih spojin, transformacija v druge spojine in ekstrakcija novih spojin iz lesa. Vse te reakcije so odvisne od časa zorenja, temperature, dostopnosti kisika, svetlobe, vrste posode in časa zorenja (Bavčar, 2006).

### 2.1.14 Žveplov dioksid

V vinu se nahaja zaradi prisotnosti kvasovk in dodatkov enoloških sredstev med različnimi enološkimi postopki. Njegova splošna uporaba se je začela nekje na koncu 18. stoletja (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Glavni namen dodatka SO<sub>2</sub> v mošt ali vino je (Bavčar, 2006):

- preprečevanje aktivnosti oksidacijskih encimov (polifenoloksidaze)
- vezava s porabniki kot so acetaldehid, piruvat, ketoglutarat, antociani, sladkorji,...
- preprečevanje in zadrževanje reakcij porjavenja
- preprečevanje rasti nezaželenih mikroorganizmov (bakterije in ne-*Saccharomyces* kvasovke)

Žveplov dioksid, raztopljen v moštu ali vinu, se nahaja v sledečih oblikah: molekularna (SO<sub>2</sub>), bisulfitna (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) in sulfitna (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Koncentracija SO<sub>2</sub> se zmanjšuje, dokler se ne vežejo vsi porabniki žvepla. Vezan SO<sub>2</sub> obsega bisulfitno obliko s porabniki žvepla in ima manj pomembne oziroma nepomembne antiseptične in antioksidativne lastnosti. Na razmerje med posameznimi oblikami odločilno vpliva pH in koncentracija komponent, ki se vežejo z bisulfitno obliko. Slednja ima prostor za vezavo molekul, ki vsebujejo karbonilne skupine (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Antimikrobno delovanje SO<sub>2</sub> je povezano z njegovo prosto obliko. Od prostih oblik je molekularna najbolj toksična za mikroorganizme. Že 1,5 mg/L molekularnega SO<sub>2</sub> zadostuje za preprečevanje rasti bakterij, predvsem oetnokislinskih in ne-*Saccharomyces* kvasovk. Potrebno je poudariti, da je njegov učinek večji na bakterije kot na kvasovke. Pri majhnih koncentracijah SO<sub>2</sub> je njegov inhibitorni učinek začasen, medtem ko velike koncentracije uničijo določen odstotek mikrobiološke populacije. Pomembno je tudi dejstvo, da prisotnost prostega SO<sub>2</sub> v že stekleničenih vinih odpravlja naknadno nevarnost mikrobiološkega kvarjenja. Prav tako je treba upoštevati, da je manjša koncentracija skupnega SO<sub>2</sub> (pod 60 mg/L), priporočljiva za uspešno izveden mlečnokislinski (biološki) razkis (Bavčar, 2006; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Žveplov dioksid deluje tudi kot odlični antioksidant, in sicer njegova sulfitna oblika (4 mg SO<sub>2</sub> vežejo 1 mg O<sub>2</sub>). S svojim delovanjem upočasnijo aktivnost oksidacijskih encimov, ki oksidirajo različne aromatične spojine. Prepreči tudi tvorbo kinonov. Dodatek 50 mg/L

SO<sub>2</sub> pomeni zmanjšanje encimske aktivnosti za 90%. Preprečuje tudi neencimske oksidacijske reakcije (Maillardova reakcija). Prav tako je SO<sub>2</sub> pomemben za antioksidativno delovanje askorbinske kisline (Bavčar, 2006).

Pomembne so še nekatere ostale reakcije v katerih tudi sodeluje SO<sub>2</sub>. Med drugim med alkoholno fermentacijo poveča koncentracijo acetaldehida. V rdečih vinih z vezavo z antocianini preprečuje stabilizacijo barve, prav tako pa bisulfitna oblika lahko razgradi tiamin, ki je pomemben za rast številnim mikroorganizmom (Bavčar, 2006).

Njegova edina zares negativna lastnost, poleg korozivnosti kot posledica prekomernega čiščenja in sterilizacije vinarske opreme, je negativni vpliv na zdravje ljudi. V koncentracijah nad 45 mg/L prostega SO<sub>2</sub> večina ljudi zazna moteč vonj po žveplu. SO<sub>2</sub> sproži astmatične napade pri občutljivih ljudeh oziroma alergične reakcije pri tistih ljudeh, ki ne morejo pretvoriti sulfidov v sulfate (bolezen sulfituria) (Bavčar, 2006).

## 2.2 ZORENJE VINA

V času ležanja potekajo v vinu velike kemične in fizikalne spremembe. Od teh je močno odvisna kakovost vina. Spremembe, ki jih zaznavamo organoleptično, predstavljajo ležalni buket, nastanejo pa tudi spremembe alkohola, kisline in aldehydov. Z dolgim ležanjem izgubimo del alkohola in kislin, poveča pa se količina glicerina in ekstraktnih snovi. V tem času se tudi začne esterifikacija, ko vino zgubi poglavitne sortne značilnosti in pridobi nove aromatične snovi (Vodopivec, 1993).

Pomembno je dejstvo, da vino razvije svoje sortne značilnosti samo v redukcijskem območju ali bolje v območju, kjer redukcijski procesi prevladujejo nad oksidacijskimi. Molekularni kisik O<sub>2</sub>, ki ga je v zraku skoraj 21% vol., je ob prisotnosti encimov (oksidaze, oksigenaze, hidrooksidaze) močno oksidacijsko sredstvo. Če so v moštu ali vinu prisotni ioni težkih kovin, ki delujejo kot katalizatorji – pospeševalci prenosa kisika, lahko nastane neposredna oksidacija posameznih kemičnih sestavin mošta in vina. rH vrednost (oksidoredukcijski potencial) označuje reducirajoče oziroma oksidirajoče stanje v vinu (označen od 0 do 42), zato je pomemben parameter pri spremljanju zorenja. Čim večja je rH vrednost, toliko več vsebuje mošt ali vino oksidirajočih snovi oziroma kisika in s tem oksidirajoče moči. V vinu so oksidirajoče in reducirajoče snovi v nekem ravnotežju, zato je rH, odvisno od sorte, kjer se optimalno oblikuje njegova aroma, v območju od 17,5 do 19 (Šikovec, 1993).

Zorenje vina razdelimo v dve fazi. V prvi fazi je to čas od konca alkoholne fermentacije do stekleničenja. Za to fazo so značilne velike fizikalno-kemijske spremembe vina, ki jih povzročijo enološki postopki (biološki razkis, pretoki, dodatek enoloških sredstev, zorenje v lesenih sodih in stabilizacija vina pred stekleničenjem). Druga faza se prične s stekleničenjem in je omejena glede na sposobnost posameznega vina, da se upira spremembam v kakovosti. Splošno kot zorenje obravnavamo čas, ko vino pridobiva na kakovosti. Spremembe po končani alkoholni fermentaciji se začnejo z izgubo tipične fermentacijske arome, nato sadnosti in sortnosti vina, ki jih začne nadomeščati zorilna aroma, vino pa istočasno izgublja svežino zaradi izhajanja CO<sub>2</sub>. Vino postaja bolj skladno, pitno na okus oziroma na splošno bolj harmonično, kompleksno (Bavčar, 2006).

Na dozorevanje vina vplivajo trije dejavniki:

- biološki procesi, ki jih povzročajo kvasovke in bakterije
- kemični procesi, ki jih povzroča zrak, ki prihaja v vino skozi luknjice v dogah ali pa pri zračnem pretakanju
- fizikalni procesi, ki povzročajo sesedanje raznih sestavin vina in tako spreminjajo razmerje posameznih sestavin v vinu

Glavni dejavnik pri dozorevanju in staranju vina je seveda kisik. Ta proces pospešuje stalno spreminjanje zračnega tlaka in temperature v kleti. Kadar tlak pada in temperatura raste, uhaja CO<sub>2</sub> iz vina, če pa raste tlak in pada temperatura, prodira kisik v vino. Največji del CO<sub>2</sub> izgubi vino med pretakanjem (seveda če je zračni pretok), medtem ko v vino prodira kisik. Seveda pa kisik ni edini dejavnik, ki vpliva na zorenje. Zelo pomemben dejavnik je tudi v kakšni vinski posodi opravljamo zorenje vina, kajti vinska posoda močno vpliva na kakovost vina (Vodopivec, 1993).

### 2.2.1 Vinska posoda

V vinarstvu jih uporabljamo v različne namene, in sicer za fermentacijo mošta ali drozge, stabilizacijo in nego vina ter za transport. Razlikujemo več vrst vinske posode: lesena, betonska, plastična, jeklena, steklena (Vodopivec, 1993).

#### 2.2.1.1 Lesena vinska posoda

Njene prednosti so v večji poroznosti lesa, kar omogoča hitrejše dozorevanje vina, poleg tega pa sode lahko izdelujemo v poljubnih velikostih ter jih zaradi tega lahko premikamo in razstavljamo. Pomanjkljivosti lesene vinske posode so: omejena trajnost, ki je odvisna od lesa in nege sodov; les lahko vpliva na kakovost vina (razni priokusi); s slabo negovanim sodom prenašamo bolezni in napake; osušek vina je večji kot v drugi posodi. Sod, ki je skrbno negovan in stalno napolnjen z vinom, je vedno boljše kakovosti kot malo rabljen (Vodopivec, 1993). Hernandez-Orte in sod., (2008) navajajo, da so bila vina visoke kakovosti tradicionalno zorena v lesenih sodih zaradi izboljšanja njihovih senzoričnih lastnosti. Problem zorenja v lesenem sodu je drag in težaven proces, ki tudi ni primeren za vsa vina.

#### 2.2.1.2 Betonske cisterne

Njihove dobre strani so v tem, da je njihova velikost neomejena, da so kletni prostori dobro izkoriščeni, čiščenje je preprosto, so univerzalno uporabne tako za rdeča kot tudi bela vina, so trajnejše, kalo vina je manjši, dozorelo vino se bolje ohrani kot v sodu. Negativna lastnost je predvsem v slabi prepustnosti za zrak, kar upočasni zorenje vina. Primerne so za skladiščenje dozorelega vina ter za rezanje (egalizacijo) vina. Za vrenje mošta brez hladilnih naprav niso priporočljive (Vodopivec, 1993).

#### 2.2.1.3 Jeklene cisterne

Grajene so iz plemenitega jekla in so univerzalno uporabne, saj jih lahko uporabimo kot vrelne, skladiščne, prevozne posode. Njihova življenjska doba je zelo dolga, vzdržijo večje

tlake, so dober prevodnik toplote, vinu ohranjajo svežino. Lahko jih čistimo, vendar kljub temu nekaj nege taka posoda le potrebuje. Posebno važne so pipe, ki morajo biti iz kakovostnega materiala. Kisline, ki so v vinu, raztapljajo nekatere sestavine običajnih vodovodnih ventilov in pip in so lahko organizmu nevarne (težke kovine). Napako lahko zaznamo v vinu kot priokus po kovini (Vodopivec, 1993; Fric, 2007).

#### 2.2.1.4 Steklne posode

Uporabljajo se za razne namene, in sicer kot obloga betonskim cisternam, stekleni baloni in steklenice. Steklo je neoporečno, njegove pomanjkljivosti pa so cena, majhen volumen in občutljivost na transport (Vodopivec, 1993).

#### 2.2.1.5 Plastične posode

Več se jih uporablja kot ležalne ali transportne posode, manj pa kot vrelni. Po več letih uporabe prihaja do depolimerizacije poliestrskih smol in preboja stirola v vino (Vodopivec, 1993).

### 2.2.2 Sprememba barve med zorenjem vina

Z zorenjem vina porjavijo. Barva se spreminja s povečevanjem števila polimeriziranih antocianov. Intenziteta barve upada zaradi izgube prostih antocianov, izgube polimerov s sesedanjem in vezavo s proteini ter zaradi sprememb na polimerih, ki se razbarvajo. Polimerizacijo in s tem stabilnejšo barvo vina pospešujeta višja temperatura in rahla aeracija, ki sta nevarni zaradi delovanja osetnokislinskih bakterij (Bavčar, 2006).

### 2.2.3 Sprememba okusa vina med zorenjem

Poleg počasne izgube raztopljenega CO<sub>2</sub> so najpomembnejše spremembe v grenkobi in trpkosti rdečih vin. Splošno se z zorenjem in polimerizacijo grenkoba in trpkost vina zmanjšujeta. V minimalnem obsegu na okus lahko vplivajo reakcije glukoze in fruktoze z drugimi snovmi ter minimalne izgube skupne kislosti (Bavčar, 2006).

### 2.2.4 Sprememba vonja vina med zorenjem

Značilne spremembe med zorenjem so povezane z estri, terpeni in hlapnimi fenoli. Koncentracija H<sub>2</sub>S se zmanjšuje med zorenjem, kar pa ne velja za ostale spojine, ki imajo podoben negativni vpliv na aromo vina (merkaptani, dimetil sulfid). Zorenje se nadaljuje v steklenicah in kompleksne reakcije vplivajo na razvoj ležalne arome (Bavčar, 2006).

### 2.2.5 Zorenje vina v steklenici

Na zorenje vina v steklenici vplivajo (Bavčar, 2006):

– temperatura (višje temperature pospešujejo hidrolizo aromatičnih estrov. Podobno se manjša koncentracija terpenov, kar vodi v izgubo sadnega in sortnega značaja vina. Pri rdečih vinih temperatura vpliva tudi na hitrost porjavitve zaradi izgube prostih antocianov in tvorbe polimernih pigmentov. Sesedanje pigmentov vodi v nastanek usedline. Hitra

nihanja temperature med skladiščenjem lahko povzročijo vdor zraka v steklenico zaradi slabšega tesnjenja plutovinastega zamaška, ki je posledica krčenja in raztezanja vina.)

– svetloba (steklenic ne izpostavljammo sončnemu sevanju ali sevanju umetne svetlobe, da se izognemo segrevanju vina, kar pospeši proces staranja. Svetloba lahko pospeši nastanek različnih napak (priokus po svetlobi, tvorba negativnih žveplovih spojin, bakreni lom). )

– kisik v steklenici lahko uniči sadno sortne vonje in povzroči nastanek oksidacijskega (aldehidnega) vonja. Porjavenje rdečih sort je pogosto pri večjem pH, saj se reaktivnost fenolov poveča. Pri rdečih vinih se ob prisotnosti kisika reaktivnost antocianov in njihova polimerizacija s tanini pospeši.

### 2.3 MIKROOKSIDACIJA

Mikrooksidacija (mikrooksigenacija) je tehnika pridelave vina, ki so jo razvili v začetku 90. let 20. stoletja v Franciji. Temelji na dodajanju majhnih količin kisika v vino pri različnih stopnjah pridelave vina. Namen tega procesa je izboljšanje okusa, stabilnosti in intenzitete barve, povečanje oksidativne stabilnosti, zmanjšanje reduktivnega karakterja ter vegetativnih arom. Uporablja se predvsem pri rdečih vinih, in sicer v vseh fazah pridelave vina (Rayne, 2007).

Nemanič (2002) navaja, da se uvajanje kisika v cisterno začne in neprekinjeno nadaljuje po končani alkoholni fermentaciji oziroma najpozneje po končani jabolčno-mlečni kislini fermentaciji. Uvajanje kisika mora biti na začetku najbolj izdatno, pozneje se zmanjšuje. Prav tako svetuje volumetrično doziranje, ker je pretok plina težko uravnati.

Proces zorenja v leseni posodi je drag in ni primeren za uporabo pri vseh vinih, zato je mikrooksigenacija predstavljena kot alternativa za pospeševanje stabilizacije barve in fenolnih sestavin. Mikrooksidacija vpliva na armo vina, vendar je učinek v veliki meri odvisen od vrste vina (Hernandez-Orte in sod., 2008).

Na dobljene rezultate ob uporabi mikrooksidacije lahko vplivajo nekateri faktorji, kot so: trenutek in dolžina uporabe mikrooksidacije, količina vpihanega kisika ter fenolna vsebnost vina. Na različna vina namreč mikrooksigenacija različno vpliva. Na splošno imajo vina z večjo skupno vsebnostjo fenolov, ki so podvržena mikrooksidaciji, večjo vsebnost novonastalih pigmentov, ki se tvorijo iz antocianinov. Na vina z manjšo fenolno vsebnostjo je ta učinek manjši (Cano-Lopez in sod., 2008).

Tehnika mikrooksidacije sloni na vnosu mikromehurčkov z uporabo mikrodifuzerja (Cano-Lopez in sod., 2008). Rayne in sod., (2007) navajajo, da mora biti ta difuzer mikronske velikosti postavljen na dno nerjavnega jeklenega tanka. Ti mehurčki se dvigujejo na površje in pri tem raztapljajo, tako da so proti površini vina vse manjši. Pri tem je pomembna tudi vsebnost plina CO<sub>2</sub> v vinu, ki naj bo pod 500 mg/L. CO<sub>2</sub> namreč difundira v mehurčke kisika, pospeši potovanje mehurčkov na površino in raztapljanje kisika ni popolno. V tem primeru se zgublja aroma in, če sledi uvajanje kisika takoj po končanem alkoholnem vrenju, ko je v vinu še veliko ogljikovega dioksida, lahko nastopi močno penjenje (Cano-Lopez in sod., 2008; Nemanič, 2002).

### 2.3.1 Vpliv mikrooksidacije na barvo vina

Mikrooksidacija vpliva na barvo vina. Antocianini so najznačilnejše sestavine odgovorne za vijoličasto-rdečo barvo mladih vin. Mikrooksidacija povečuje polimerizacijo pigmentov podobno tisti v hrastovih sodih. Za oblikovanje novih pigmentov je več vzrokov (Rayne, 2007):

a) reakcije, ki vključujejo acetaldehid z formacijo antocianin-tanin molekul, ki so povezane z etilnimi mostički. Tipično imajo maksimalno valovno dolžino pri  $\approx 528\text{--}540$  nm in pomikajo barvo vina proti povečanemu odtenku modre.

b) direktne reakcije med antocianini in flavanoli, ki imajo maksimalno valovno dolžino pri  $\approx 520$  nm (515 do 526 nm) in dominanten delež rdeče

c) tvorba piranoantocianinov z reakcijami med antocianini in ostalimi snovmi: vinilfenoli, acetaldehid ali piruvična kislina, ki imajo tipično maksimalno valovno dolžino 480–510 nm in pomikajo barvo vina proti povečanemu odtenku rumene.

Skupno ti procesi vodijo do oblikovanja snovi večje molekulske mase, ki stabilizirajo barvo in se bolj upirajo razbarvanju pri dodatku  $\text{SO}_2$  v vino (Rayne, 2007).

pH vina je zelo pomemben faktor pri zorenju in stabilizaciji vina. Čim manjša je pH vrednost vina, torej čim bolj je vino kislo, več je prostih antocianov. Te proste molekule so nestabilne. V približno štirih tednih se razgradijo, če ni prisoten kisik. Obarvanost vina se opazno zmanjša. Antociani se vežejo s tanini in čim več nastane teh kombiniranih taninsko-antocianskih spojin, stabilnejša je obarvanost vina. Vežanje barvil s tanini poteka le v prisotnosti kisika. Kemična vez, ki ji pravimo acetaldehidni most, ima pomembno vlogo. Tako povezani antociani s tanini so bolj rezistentni na spremembe (tudi dodatek žvepla) in zagotavljajo stabilno barvo (Nemanič, 2002).

Tako se z mikrooksidacijo intenzivnost barve poveča pri merjeni absorpciji pri valovni dolžini 520 nm (rdeča) in 620 nm (modra). Konstantna količina kisika v vinu tako vodi do hitrejšega zorenja, ki jo imenujemo "kemijska starost". Ta je definirana kot razmerje med barvo zaradi snovi, ki so odporne na spremembe zaradi dodatka žvepla in barvo, ki ni odporna na dodatek žvepla. Večja kot je kemijska starost, bolj je rdeča barva stabilna in odporna na spremembe zaradi dodatka žvepla (Pour-Nikfardjam in sod., 2004).

### 2.3.2 Vpliv mikrooksidacije na okus in aromo vina

Mikrooksidacija vpliva na okus in aromo vina. Proces zorenja privede do sprememb v dolžini taninske verige in s tem na zaznave grenkobe in trpkosti. Daljše taninske verige prispevajo k bolj trpkemu okusu, medtem ko je pri krajših verigah zaznaven bolj grenak okus. Značilne spremembe v okusu in predvsem trpkosti med strukturno in harmonično fazo lahko spremljamo z meritvami povprečne stopnje polimerizacije proantocianidinov v vinu. Dodatek  $\text{SO}_2$  lahko moti učinke mikrooksidacije polifenolov z antioksidativnim delovanjem, in s tem zadrži ali celo prepreči formiranje taninskih verig in privede do zaznave večje grenkobe in trpkosti. Tanini igrajo pomembno vlogo pri maskiranju "zelenih arom" (beli poper). Samo dolge verige taninov so sposobne zamaskirati zelene arome, medtem ko krajše – izzvane skozi antioksidativni učinek  $\text{SO}_2$  – ta učinek opaženo



reducirajo. Dolge verige taninov lahko prav tako omogočijo dobro antioksidacijsko zaščito barve in arome kar pelje do daljšega roka uporabnosti (Pour-Nikfardjam in sod., 2004).

### **2.3.3 Faze mikrooksidacije**

Raziskave kažejo, da senzoričen razvoj vin zaradi delovanja mikrooksidacije ni linearen, ampak skozi čas oscilira. Razvoj vina so razdelili na tri faze: faza izgradnje (strukturiranja), faza mehčanja (harmonizacije) in faza nasičenja (preoksidacije) (Dykes in Kilmartin, 2007).

#### **2.3.3.1 Faza izgradnje**

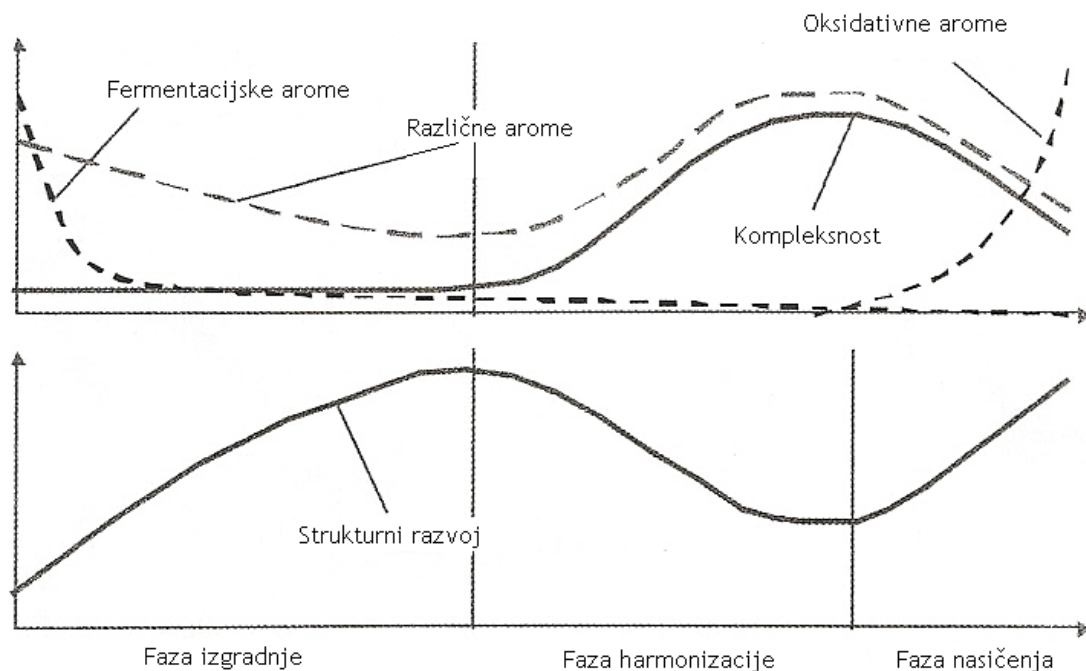
Ta se ponavadi začne pred dodatkom SO<sub>2</sub> v vino in je okarakterizirana z gradnjo snovi (ponavadi je določena kot kombiniran efekt astringentnosti, grenkobe in teže okusa – izražena kot taninska sila) in zmanjševanjem fermentacijskih arom. V tej fazi izgleda kot, da se vino poslabšuje in da se razvija v nasprotni smeri od željene. Ta faza lahko traja od treh dni do šestih tednov. Količine dodanega kisika so v tem času relativno velike, med 20-90 mg O<sub>2</sub>/L vina/mesec (Dykes in Kilmartin, 2007).

#### **2.3.3.2 Faza harmonizacije**

Ta faza se začne, ko struktura vina doseže največjo intenziteto. Od tu dalje se okus vina mehča. Povečajo se različne arome in njihova kompleksnost. Ta razvoj se nadaljuje dokler ni dosežen strukturni maksimum, kjer bi delovanje mikrooksidacije moralo prenehati. Količine dodanega kisika so manjše kot v fazi izgradnje (1-10 mg/L/mesec). Traja lahko od 3 tednov pa do 6 mesecev, odvisno od vrste vina (Dykes in Kilmartin, 2007).

#### **2.3.3.3 Faza nasičenja**

Ko doseže vino strukturni maksimum, vodi nadaljnje delovanje do preoksidiranja oziroma faze nasičenja, ki je okarakterizirana s povečanjem trpkosti (suhi tanini) in povečanjem oksidativnih arom. Prav zato je pomembno konstantno spremljanje zorenja, da mikrooksidacija ne doseže faze nasičenja (Dykes in Kilmartin, 2007).



**Slika 4:** Različne faze mikrooksidacije pri rdečem vinu (Dykes in Kilmartin, 2007)

#### 2.3.4 Kisik

Kisik je dvovalentni kemijski element. Je plin brez barve, vonja in okusa. Je okvirno 1,1-krat težji od zraka, v katerem ga je 23,3 masnega odstotka. Ker ga je v vodi 88,8 masnega odstotka in v zemeljski skorji še nadaljnjih 47,3 masnega odstotka, je tako kisik najpogostejši element na Zemlji (tako pogost kot vsi drugi elementi skupaj). Njegova najpomembnejša lastnost je sposobnost spajanja z večino snovi (zgorevanje, oksidacija). To so kemični procesi, ki so bistvenega pomena za preživetje ljudi in živali (dihanje) (Pogačnik, 2006).

Kisik je v procesu mikrooksidacije ponavadi razpršen med nekatere izmed naslednjih faz: med alkoholno fermentacijo, na koncu alkoholne fermentacije in pred začetkom jabolčno-mlečne fermentacije. Igra zelo pomembno vlogo v procesu vinifikacije: na eni strani je odgovoren za oksidacijo fenolnih in hlapnih komponent, po drugi strani pa prisotnost kisika v ustreznih količinah izboljša senzorične karakteristike vina. Njegovi pozitivni učinki so: izboljšana intenziteta in stabilnost barve vina, prav tako pa tudi vsečnost in struktura. Treba je namreč vedeti, da kemijsko povezovanje barvil (antociani) s tanini poteka le v prisotnosti kisika. Adicija majhnih in kontroliranih količin kisika, kot je to pri mikrooksidaciji, omogoča razvoj sadnih arom, integrira aromo lesa, zmanjša reduktivne in rastlinske lastnosti (kisik lahko oksidira neželene žveplove komponente –  $H_2S$ ) in lahko prav tako zmanjša zelene arome (predvsem pri rdečih vinih). Večja stabilnost fenolne sestave vina ima direkten prekursorski efekt na aromo, ki bi morala biti bolj sveža in sadna (Ortega-Heras in sod., 2008; Nemanič, 2002).

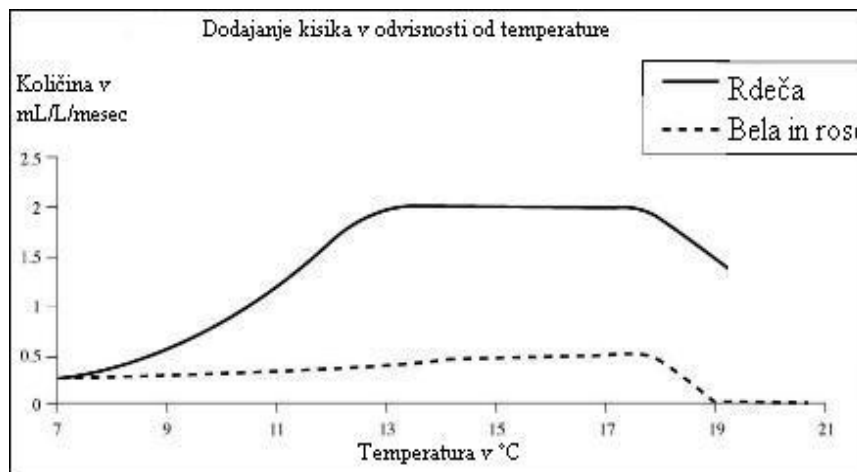
Raztopljeni kisik vodi do nastanka acetaldehida iz etanola. Ta nato lahko reagira s flavanoli do tvorbe zelo reaktivne ogljikove spojine, ki hitro reagira bodisi z drugo

flavanolno molekulo ali z antocianinom. Tako nastanejo etilni mostički (acetaldehidni mostički) flavanol-flavanol in flavanol-antocianin oligomeri. Tako povezani antociani s tanini so bolj odporni na spremembe (tudi dodatek žvepla) in zagotavljajo obstojno barvo. Pri manjši pH vrednosti se le malo antocianov veže s tanini. Če v mladem vinu kisik ni na razpolago, se vežejo antociani z barvili neposredno, brez acetaldehidnega mostu. Ta vezava brez kisika je rešitev v sili in ne zagotavlja prave obarvanosti in kakovosti vina. Trpkost taninov se pri omenjeni povezavi ne zmanjšuje, zmanjšuje pa se intenzivnost rdečega odtenka barve in povečuje intenzivnost rumenkaste. Acetaldehid prav tako sodeluje pri tvorbi novih pigmentov, kot so vitisin B in ostali piranoantocianini. Količina kisika mora biti zadostna za indukcijo polimerizacijskih in kombinacijskih reakcij. Prevelika količina kisika po drugi strani pa lahko vodi do oksidacije arom, obarjanja polimerov z visoko molekulsko težo in porjavenja (Llady in sod., 2006; Nemanič, 2002).

#### 2.3.4.1 Topnost kisika

Je merilo za sposobnost raztapljanja snovi v topilu. Odvisna je od temperature in se pri večini trdnih snovi povečuje s temperaturo. Topnost plinov, kot je tudi kisik, se z naraščanjem temperature na splošno zmanjšuje. Navajamo jo v gramih ali molih snovi na 100 g topila pri temperaturi 20°C (pri plinih pri temperaturi 0°C). Zlato pravilo topnosti je, da se kemijsko podobna snov raztaplja v kemijsko podobni snovi. Kisik mora biti prisoten v tekoči fazi, da se pojavijo reakcije z vinom. Ravnotežna topnost kisika v vinu (12% vol. etanola) pri standardni temperaturi in tlaku (25°C, 1 atm) je približno 11 mg/L (Pogačnik, 2006; Dykes in Kilmartin, 2007).

Kot je bilo omenjeno, se mora z oksidacijsko količino kisika ravnati tako, da dosežemo željene učinke. Topnost kisika je v različnih fazah predelave vina različna. Običajno se v normalnih pogojih predelave tehnološko zrelega in zdravega grozdja raztopi v 1L mošta od 80 do 100 mg kisika. Kadar je vino zoreno s pomočjo dodanega kisika, ta v vinu reagira s komponentami vina in se zmanjša do zelo nizkih vrednosti (preko 10 µg/L). Pozneje v statičnem stanju (med staranjem) se kinetika raztapljanja zmanjša bolj kot kinetika porabe, tako da so koncentracije kisika v vinu zelo majhne, s povprečnim intervalom od 10 do 40 µg/L. Naravna stopnja prepustnosti kisika v novih hrastovih sodih je med 20 mL/L vina/leto (1,66 mL/L vina/mesec). Wollan in Kelly sta izpostavila dejstvo, da bi večje količine kisika (8 mL/L vina/mesec) kot so tiste naravne, ki prehajajo skozi lesene pore soda, bile potrebne za boljše zorenje rdečega vina. Šikovec (1993) navaja, da naravna hitrost topnosti kisika iz zraka v moštu ali vinu na površinsko enoto ni odvisna samo od temperature (večja topnost pri nižji temperaturi), ampak tudi od količine encimov in kislosti (Nevares in Alano, 2008; Wondra, 1997).



**Slika 5:** Maksimalna količina kisika, ki se lahko doda v vino pri različnih temperaturah (Nel, 2000)

### 2.3.5 Oksidacija in prosti radikali

Oksidacijski procesi so pomembni v tehničnih (gorenje) in biokemičnih procesih (dihanje, alkoholno vrenje), saj pri tem nastaja energija. Oksidacija oziroma redukcija se nanašata na izgubo oziroma sprejem elektrona nekemu atomu ali ionu (kemijska vez). Oksidacijsko število (oksidacijska stopnja) je število elektronov, ki jih je pri tvorbi ionske vezi atom oddal ali sprejel. S tvorbo atomske vezi je mišljeno število premeščenih elektronov, če bi bila spojina zgrajena iz ionov. Pozitivno oksidacijsko število označuje oddajo elektronov (oksidacija), negativno oksidacijsko število pa sprejem elektronov (redukcija). Atomi elementov se označujejo z oksidacijsko stopnjo 0, vendar izguba ali sprejem  $n$  elektronov pripelje do spremembe oksidacijskega stanja za  $\pm n$  (Pine, 1987; Pogačnik, 2006).

Oksidacijski procesi so omenjeni zato, ker je proces mikrooksidacije oksidacija v malem. Veliko je govora o stabilizaciji barve, izboljšanju okusa, mogoče pa je premalo poudarka na oksidativni stabilizaciji, ki jo med drugim tudi povzroči metoda mikrooksidacije. S postopkom mikrooksidacije ne smemo pretiravati, ker se nato le-ta kaže v nezaželenih učinkih na vino (oksidativna nota, morebitni prosti radikali).

Prosti radikali so atomi, molekule ali ioni z vsaj enim elektronom brez para. So visoko reaktivne molekule, ki poškodujejo celične strukture, vključno z nukleinskimi kislinami in geni. Nastajajo pri cepitvi kovalentne vezi. Kisikovi prosti radikali so udeleženi pri številnih normalnih in patoloških procesih v telesu. Najpomembnejši kisikovi prosti radikali so: superoksidni anion ( $\text{O}_2^-$ ), tripletni kisik ( $^3\text{O}_2$ ), singletni kisik ( $^1\text{O}_2$ ), hidroksilni radikal ( $\text{OH}^\cdot$ ), vodikov peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radikal dušikovega oksida ( $\text{NO}^\cdot$ ) in peroksidni radikal ( $\text{ROO}^\cdot$ ). Za preprečevanje in popravilo oksidativnih poškodb celic je pomemben antioksidativni sistem. Porušeno ravnotežje med prostimi radikali in antioksidanti imenujemo oksidativni stres. Antioksidanti ga preprečujejo z lovljenjem prostih radikalov, s keliranjem kovinskih ionov, z odstranjevanjem in/ali popravitvom oksidativno poškodovanih biomolekul (Korošec, 2000).

Antioksidanti so lahko encimski ali neencimski sistemi, topni v vodi ali v maščobah. Učinkovitost antioksidantov je odvisna od redukcijskega potenciala radikala z enim elektronom manj kot starševska spojina. Prav tako je važna polarnost ali nepolarnost same spojine in iz tega izvirajoča porazdelitev antioksidanta med polarnim in nepolarnim medijem in kako dobro se določen antioksidant absorbira v organizmu. Vino, še posebej rdeče, vsebuje relativno visoko vsebnost fenolnih spojin, zato je dober vir antioksidantov (Abram, 2000).

Za fenolne antioksidante (AH) predpostavljajo, da zaustavljajo oksidacijo lipidov, ker se njihov vodikov atom poveže z lipidnim radikalom. Učinkovitost antioksidantov je tem večja, čim manjša je jakost vezi A–H. Pri tem nastali fenoksilni radikal ne sme sprožiti novih radikalskih reakcij, niti se hitro oksidirati. Fenolni antioksidanti so dobri donorji vodika ali elektronov, poleg tega so njihovi radikali relativno stabilni zaradi resonančne delokalizacije nesparjenih elektronov okrog aromatskega obroča. Najbolj pomembni parametri za to, kako dober antioksidant je nek flavonoid, so naslednji: konstanta hitrosti razpada in konstanta hitrosti pobiranja radikalov, redoks potencial in pK vrednosti fenolnih –OH skupin. Flavonoidom kot antioksidantom pripisujejo predvsem zmožnost lovljenja radikalov, za kar je pomembna stabilnost radikala antioksidanta. Flavonoidi so antioksidanti, ki lahko preprečijo peroksidacijo lipidov na več načinov (Abram, 2000):

- z lovljenjem radikalov ( $\cdot O_2^-$ ,  $\cdot OH$ ,  $^1O_2$  in  $Fe(OH)_3$ )
- z vezavo kovinskih ionov
- z lovljenjem lipidnih peroksidnih radikalov
- z inhibicijo encimskih sistemov, ki katalizirajo nastanek prostih radikalov

## 2.4 MODRA FRANKINJA

Spada v skupino čnomorskega bazena *Proles pontica*. Njeni sinonimi so: Blauer Limberger (nem.), Blaufränkisch (avs.), frankovka (hrv.), kekfrankos, Blue Franconias, franconia azzura. Nemci so frankinjo pripisovali Avstrijcem, le-ti pa so jim to vrnilo s tezo da je s Frankovskega. Od tod tudi njeno ime (Medved, 2001; Šikovec, 1996; Nemanič, 1996).

Po kakovosti in razširjenosti je glavna rdeča sorta v posavski vinorodni deželi. Zasedimo jo v sosednjih državah – na Hrvaškem, v Avstriji, Madžarski, Slovaški. Za tla ni zahtevna, uspeva tudi na težkih apnenčastih tleh, najbolje pa na globokih, rodovitnih, ilovnatih tleh, ki so lahko delno peščena. Zaradi bujne rasti, ki je predvsem v vlažnih letih pretirana, zahteva strokovno obdelavo, predvsem pri zimski rezi in gnojenju vinograda. Sicer je v vinogradu neproblematična in jo imajo vinogradniki radi (Nemanič, 1996).

Grozd je velik in rahel. Jagode so srednje velike, okrogle do podolgovate, rdeče do črno modre, z debelo kožico in prijetnim okusom mesa, sok je sladko-grenak. Rodi zmerno po količini in kakovosti. Mošt ima 15 do 18% sladkorja in 7 do 8 g/L skupnih kislin. Jagodna kožica ima bogato fenolno sestavo (barvne in taninske snovi) in s strokovno vodeno maceracijo grozdja lahko pridelamo odlično mlado vino za takojšnjo porabo oziroma krepka, intenzivno obarvana rdeča vina za daljše zorenje (Nemanič, 1996; Šikovec, 1996).

Vino je intenzivno rubinasto rdeče barve, ki dolgo ohrani mladosten videz in šele po nekaj letih zorenja v steklenici opazamo spreminjanje videza s pojavom opečnatih in kavnih pramenov. Sortno značilen vonj je blag, topel, v mladosti sadnega značaja, v zrelosti pa ima vonj po usnju, praženi kavi, čokoladi. Mlado vino s kratko maceracijo kaže vonjave po drobnih rdečih sadežih (ribez, murva), toda diskretno. Po okusu je srednje težko vino, v dobrih letnikih je razmerje med kislino in taninskimi snovmi uravnano v dobro harmonijo. Povprečni letniki se kažejo v večji kislosti, ki ne prenese večje količine taninov, zato sta priporočljivi krajša maceracija in prodaja vina v prvem letu po trgatvi. Sorta se dobro meša s portugalko in je kot zvrst vina boljša kot samostojna. V družbi z drugimi vini jim v skupnem učinku daje polnost in ekstraktnost. Z ležanjem v steklenici doseže vino lep ležalni buket (Medved, 2001; Šikovec, 1996; Nemanič, 1996).



**Slika 6:** Modra frankinja (Izletniška kmetija Na koncu vasi, 2009)

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 MATERIALI

V poskusu smo uporabili vino sorte modra frankinja iz vinorodne dežele Posavje, natančneje iz vinorodnega okoliša Dolenjska ter Bizeljsko-sremiškega vinorodnega okoliša. Mlado vino letnik 2008 iz Vinske kleti Krško je bilo pred poskusom 2 meseca hranjeno v lesenem sodu. Uporabili smo 50 L vzorca (2. december 2008), ki smo ga nato transportirali v dveh 25 L plastičnih posodah. Mikrooksidacijo vina v nerjavni jekleni posodi in vse kemijske, elektrokemijske, spektrofotometrične ter senzorične analize smo opravili na Katedri za TPV, Oddelku za živilstvo, Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Material, ki smo ga potrebovali za nastavitev poskusa: mikrooksidator MICRODUE<sup>®</sup>; 28 L nerjavna posoda; cevčice, s katerimi smo povezali posodo z mikrooksidatorjem, kompresor za zrak, jeklenka s kisikom, merilec tlaka.

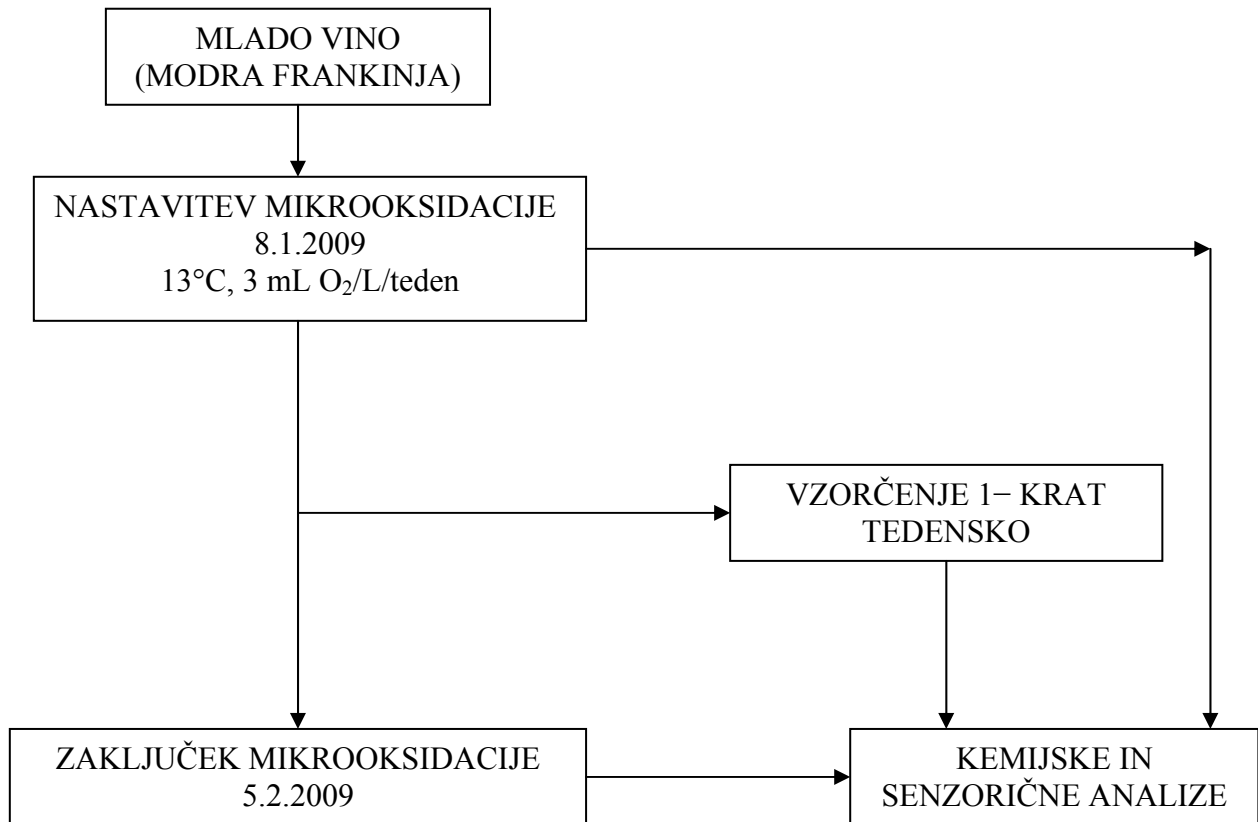
#### 3.2 NASTAVITEV IN POTEK POSKUSA

Vino smo iz plastičnih posod pretočili v nerjavno kovinsko posodo volumna 28 L. Ostanek smo pretočili še v 10 L stekleno posodo. Poskus smo hoteli zastaviti tako, da bi med mikrooksidacijo imeli več paralelk z različnimi količinami vpihovanja kisika, vendar to ni bilo izvedljivo. Zato smo naredili tri različne vzporedne poskuse na podlagi različnih posod, v katerih so bili hranjeni vzorci vina (steklo – št. 1, lesen sod – št. 2, mikrooksidacija v nerjavni posodi – št. 3.). Za vsakega od teh treh različnih poskusov smo opravili pri vsaki analizi tri paralelke označene z A, B in C.

Opravili smo naslednje kemijske analize v poskus zajetih vzorcev vina: pH, titrabilne kisline, skupne fenole, orientacijsko pufrno kapaciteto, skupno in prosto žveplo, alkohol, hlapne kisline, intenziteto in ton barve ter vino senzorično analizirali. Naštete analize smo opravili na začetku poskusa v osnovnem vinu in na koncu po štirih tednih našega poskusa. Tedensko smo opravljali sledeče analize: pH, titrabilne kisline, skupne fenole, intenziteto barve in senzorično analizo.

Naš poskus smo zastavili v prostorih Biotehniške fakultete (katedra za TPV), kjer smo hranili vzorca (št. 1 in št. 3) in je trajal 4 tedne. Vzorec št. 2 (vino v lesenem sodu) je bil hranjen v Vinski kleti Krško. Koncentracija vpihovanega kisika v vzorcu št. 3 je bila 3 mL O<sub>2</sub>/L/teden. Povprečna temperatura v prostoru je bila 13°C. Poskus smo zaključili na podlagi senzorične ocene vina zorenega z mikrooksidacijo.

Po zaključku našega poskusa smo nastavili še dodaten test. Tokrat smo uporabili samo vzorec št. 1 (steklo) in vzorec št. 3 (mikrooksidacija). Vsak vzorec smo razdelili na tri dele: 0 – (kontrola), 1 (dodatek 3g Tanin +/-100L) ter 2 – (dodatek 2g Tanin + ter 2g tanina Premium prostato barrique/100L). Želeli smo preizkusiti vpliv dodatka taninov na senzorično zaznavo vin. Senzorično analizo smo opravili po 13 dneh.



**Slika 7:** Potek poskusa mikrooksidacije vina sorte modra frankinja

### 3.3 VPIHOVANJE KISIKA

Pri poskusu smo uporabili aparaturo (mikrooksidator) Microdue® proizvajalca JU.CLA.S. (Brevetto) s točnim nastavlјivim volumetričnim doziranjem kisika. Z uravnavanjem tlaka kisika na bat in s frekvenco delovanja samega bata je možno nadzirati ter spreminjati količino dovedenega kisika. Tako smo lahko nastavili in nato tudi uravnavali točno določeno količino vpihovanega kisika (3 mL O<sub>2</sub>/L vina/teden).





Slika 8: Mikrooksidator MICRODUE® (Lesica, 2005)

### 3.4 METODE DELA

#### 3.4.1 Vzorčenje

Tekom poskusa, ki je trajal 4 tedne, smo vzorce analizirali 1-krat tedensko. Vzorčenje je potekalo tako, da smo vsakič odvzeli približno 0,5 L vzorca, ki smo ga potrebovali za opravljanje vseh kemijskih ter tudi senzoričnih analiz. Vzorca št. 1 (steklo) in št. 3 (mikrooksidacija) sta bila dosegljiva v prostorih Biotehniške fakultete, medtem ko smo vzorec št. 2 redno tedensko dobivali iz Vinske kleti Krško. Tako smo se odločili zaradi bolj verodostojnih rezultatov, kajti tudi v leseni vinski posodi poteka naravni proces mikrooksidacije zaradi poroznosti le-te.

Po končanem poskusu smo vzorce vin senzorično ocenili na Kmetijskem inštitutu Slovenije (KIS) po Bouxbaumovi metodi dvajsetih točk.

#### 3.4.2 Določanje pH vina

Definicija: pH je negativni desetiški logaritem koncentracije oksonijevih ionov ( $H_3O^+$ ). Je mera za vsebnost oksonijevih oziroma vodikovih ionov v raztopini (Pogačnik, 2006). Vpliv  $H_3O^+$  ionov se kaže v selektivnem delovanju na mikroorganizme, v intenzivnosti in odtenku barve, okusu, oksidacijsko-redukcijskem potencialu, razmerju med prostim in vezanim žveplovim dioksidom, v občutljivosti za pojav motnosti (zaradi žveplovih spojin),

idr. Običajno je pH vina manjši od 3,6. Praviloma je pH mladega vina (brez ogljikovega dioksida) večji od pH mošta, iz katerega je vino pridelano (Košmerl in Kač, 2004).

Opis metode: merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, merilna elektroda (steklena) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti  $\text{H}_3\text{O}^+$  ionov v raztopini. Ponavadi uporabljamo kombinirano stekleno elektrodo (merilna in referenčna elektroda v enem kosu); čutilo hranimo v destilirani vodi (Košmerl in Kač, 2004).

Oprema (Košmerl in Kač, 2004):

- a) pH meter s kombinirano stekleno elektrodo (Mettler Toledo DL50 Graphix)
- b) magnetno mešalo
- c) visoka čaša (100 mL)
- d) puhalka z deionizirano vodo

Reagenti (Košmerl in Kač, 2004):

- komercialna pufrna raztopina s pH 4,00
- komercialna pufrna raztopina s pH 7,02
- standardna raztopina (nasičena raztopina kalijevega hidrogentartrata)

Opis postopka: v 100 mL čašo nalijemo prefiltriran vzorec mošta ali vina (približno 50 mL). Elektrodo potopimo v vzorec in odčitamo pH vrednost na aparatu, ko se le-ta umiri in ne spreminja več. Priporočljivo je, da je temperatura vzorca čim bližje 20°C in da je čutilo v celoti potopljeno ter da se ne dotika sten čaše ali pa magnetnega mešala (Košmerl in Kač, 2004).

Rezultat podamo na dve decimalni mesti.

### 3.4.3 Določanje pufrne kapacitete vina

Pufrna kapaciteta mošta ali vina je lastnost vina, da se njegov pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz bistveno ne spremeni. Definicija: pufrna kapaciteta je množina (število molov)  $\text{H}_3\text{O}^+$  ali  $\text{OH}^-$  ionov, ki jih moramo dodati 1 L vzorca, da se njegov pH spremeni za eno enoto. Običajno pufrna kapaciteta mošta ali vina zavzema vrednosti od 35 do 50 mmol/L/pH, v ekstremnih primerih pa lahko le 25 mmol/L/pH ali celo do 60 mmol/L/pH (Košmerl in Kač, 2004).

Pufrna kapaciteta je funkcija pH. V moštu ali vinu, ki sta v bistvu raztopini različnih šibkih organskih kislin, lahko pufrno kapaciteto, ki je aditivna lastnost, ocenimo na osnovi koncentracije vsake posamezne kisline in konstante disociacije (vrednosti pKa) vsake kisline. Bolj kislina vina imajo večjo pufrno kapaciteto, poleg tega pa jo definira tudi prisotnost kovinskih ionov (Košmerl in Kač, 2004).

Opis metode: metoda je enaka kot pri določanju pH vina. Pri dodajanju baze oziroma kisline poteka reakcija:



Po vsakem dodatku titranta potenciometrično določimo pH.

Oprema (Košmerl in Kač, 2004):

- a) pH meter s kombinirano stekleno elektrodo (Mettler Toledo DL50 Graphix)
- b) magnetno mešalo
- c) polnilna pipeta (50 mL)
- d) visoka čaša (100 mL)
- e) bireta (25 mL)

Reagenti (Košmerl in Kač, 2004):

- komercialna pufrna raztopina s pH 4,00
- komercialna pufrna raztopina s pH 7,02
- standardna raztopina (nasičena raztopina kalijevega hidrogenartrata)
- 0,1 M raztopina natrijevega hidroksida
- 0,1 M raztopina klorovodikove kisline

Opis postopka: po umeritvi pH metra v 100 mL čašo odpipetiramo 50 mL termostatiranega (20°C) vzorca mošta ali vina. Elektrodo potopimo v vzorec in odčitamo začetno vrednost pH. Nato na pH metru nastavimo končno točko postopka (dodajanja baze) za 1 pH enoto višje kot je izmerjena začetna pH vrednost. Nato dodajamo 0,1 M raztopino NaOH do nastavljenih končnih točk titracije, kjer potem odčitamo porabo baze.

Izračun: mi smo določali le orientacijsko pufrno kapaciteto vina. Ta nam služi kot parameter pri ocenjevanju zrelosti grozdja in je večja kot dejanska. Rezultat podamo na eno decimalno mesto natančno (Košmerl in Kač, 2004).

$$PK \text{ (mmol/L/pH)} = \frac{a_{NaOH} \text{ (mL)} \cdot c_{NaOH} \text{ (mol/L)} \cdot 1000}{v \text{ (mL)}} \quad \dots(5)$$

Obrazložitev oznak:

- a...pomeni volumen porabljenega titranta v mL
- c...koncentracija NaOH (0,1 M)
- v...volumen vzorca (50 mL)

### 3.4.4 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v vinu

Med pH vina in koncentracijo skupnih (titrabilnih) kislin ni enostavne zveze. Grozdje vsebuje znatne količine različnih šibkih karboksilnih kislin. Med dozorevanjem je značilno zmanjševanje koncentracije kislin in s tem posledično večanje pH. Vsebnost karboksilnih kislin izražamo kot množino vinske kisline na liter mošta oziroma vina, glede na določanje (pH končne točke titracije) pa sta v uporabi izraza skupne kisline in titrabilne (titracijske) kisline. Skupna vsebnost karboksilnih kislin v grozdnem soku, moštu in vinu (v g vinske kisline/L vzorca) je med 6 in 9 g/L, pri sladkih in desertnih vinih med 4 in 6,5 g/L, za botricidna vina pa okrog 10 g/L (Košmerl in Kač, 2004).

Opis metode: enaka kot pri določanju pufrne kapacitete vina. Titracija z 0,1 M raztopino NaOH poteka na avtomatskem titratorju do končne točke titracije pH = 7,0 oziroma pH = 8,2.

Oprema (Košmerl in Kač, 2004):

- a) pH meter s kombinirano stekleno elektrodo (Mettler Toledo DL50 Graphix)
- b) magnetno mešalo
- c) polnilna pipeta (25 mL)
- d) visoka čaša (100 mL)
- e) bireta (25 mL)
- f) puhalka z deionizirano vodo

Reagenti:

- komercialna pufrna raztopina s pH 4,00
- komercialna pufrna raztopina s pH 7,02
- standardna raztopina (nasičena raztopina kalijevega hidrogenatratra)
- 0,1 M raztopina natrijevega hidroksida
- 0,1 M raztopina klorovodikove kisline

Opis postopka: po umeritvi pH metra v 100 mL čašo odpipetiramo 25 mL termostatiranega (20°C) vzorca mošta ali vina. Elektrodo potopimo v vzorec in odčitamo začetno pH vrednost. Na pH metru izberemo metodo "Dvotočkovna titracija pH7 in pH8,2". To pomeni, da smo nastavili prvo končno točko titracije na 7,00. Nato titriramo z 0,1 M raztopino NaOH do nastavljenе točke titracije in odčitamo porabo baze. Nadaljujemo s titracijo do že predhodno nastavljenе končne točke titracije 8,2 in ponovno odčitamo porabo baze. Ta odgovarja porabi baze od pH 7,0 do pH 8,2 in jo potrebujemo za izračun skupnih kislin (Košmerl in Kač, 2004).

Izračun: masno koncentracijo skupnih (titrabilnih) kislin (g vinske kisline/L) izračunamo po dveh obrazcih (Košmerl in Kač, 2004).

$$TK_1 \text{ (g/L)} = \frac{a_1 \text{ (mL)} \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)}}{v \text{ (mL)} \cdot n} \quad \dots(6)$$

$$TK_2 \text{ (g/L)} = \frac{a_3 \text{ (mL)} \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)}}{v \text{ (mL)} \cdot n} \quad \dots(7)$$

Obrazložitev oznak:

TK<sub>1</sub>...titrabilne kisline

TK<sub>2</sub>...skupne kisline

a<sub>1</sub>...pomeni volumen porabljene baze pri titraciji do pH 7,00 (mL)

a<sub>3</sub>...pomeni volumen porabljene baze pri titraciji do pH 8,20 (mL)

c...koncentracija baze (0,1M)

M...molska masa vinske kisline (150,09 g/mol)

v...volumen vzorca (25 mL)

n...molsko razmerje kemijske reakcije med NaOH in vinsko kislino (n=2)

### 3.4.5 Določanje žveplovega dioksida v vinu

Vina običajno vsebujejo 5-40 mg prostega SO<sub>2</sub>/L vina. Prosti SO<sub>2</sub> je definiran kot nevezana oblika SO<sub>2</sub> v vinu: žveplov dioksid, ki ni vezan na acetaldehid, druge aldehyde ali organske spojine. Poleg teh spojin reagira bisulfitni ion (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) reverzibilno tudi z nenasičenimi in fenolnimi spojinami (predvsem s kavno in p-kumarno kislino). Skupni SO<sub>2</sub> je medtem definiran kot vsota vseh zvrsti žveplovega dioksida v vinu (molekularna, bisulfitna in sulfitna), bodisi v prosti ali vezani obliki (Košmerl in Kač, 2004).

Opis metode: metoda, ki smo jo uporabili je t.i. Ripperjeva metoda. Gre za titracijsko metodo, ki temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda (I<sub>2</sub>). Ker se raztopina joda hitro oksidira, jo je bilo potrebno dnevno standardizirati (točna določitev molarne koncentracije). Za določitev prostega SO<sub>2</sub> vzorec vina najprej nakisamo z dodatkom žveplove (VI) kisline (s tem zmanjšamo oksidativni vpliv predvsem polifenolnih spojin pri titraciji z raztopino joda), dodamo indikator (škrobovico) in titriramo s standardizirano raztopino joda. Jod oksidira žveplovo (IV) kislino v žveplovo (VI) kislino in v končni točki titracije (tik po ekvivalentni točki) prebitna količina joda obarva raztopino modro (Košmerl in Kač, 2004).

Oksidacija žveplove (IV) kisline v žveplovo (VI) kislino poteka takole (Košmerl in Kač, 2004):



Za določitev koncentracije skupnega SO<sub>2</sub> vzorcu vina najprej dodamo 1 M raztopino NaOH, da dosežemo hidrolizo vezanega SO<sub>2</sub> (tj. acetaldehi- $\alpha$ -hidroksisulfonata) in drugih bisulfitnih kompleksov). Nato sledi dodatek ostalih reagentov in jodometrična titracija, kot pri določanju prostega SO<sub>2</sub> (Košmerl in Kač, 2004).

Oprema (Košmerl in Kač, 2004):

- a) bireta (25 mL)
- b) pipete (merilne in polnilna)
- c) erlenmajerica s širokim vratom (250 mL)
- d) merilna bučka (1000 mL)
- e) vir svetlobe (zaželjeno, da se vidi preskok barve)
- f) puhalka z deionizirano vodo

Reagenti (Košmerl in Kač, 2004):

- izhodna raztopina joda
- 0,01 M raztopina joda
- raztopina natrijevega tiosulfata (za standardizacijo 0,01 M raztopine joda)
- 1 M raztopina natrijevega hidroksida
- 1% raztopina škrobovice (indikator)
- natrijev hidrogenkarbonat (po potrebi)

Opis postopka: prosti SO<sub>2</sub> določamo tako, da v 250 mL erlenmajerico odpipetiramo 25 mL vzorca vina, dodamo 5 mL škrobovice, po potrebi pa dodamo noževo konico natrijevega hidrogenkarbonata in vse skupaj premešamo. Nato dodamo 5 mL raztopine žveplove (VI)

kislina in takoj titriramo s standardizirano raztopino joda do modre barve, ki mora biti obstojna približno 20 sekund. Pri določanju skupnega SO<sub>2</sub> na začetku v 25 mL vzorca vina dodamo 25 mL 1M NaOH in vse skupaj dobro premešamo, pokrijemo ter počakamo 10 minut, da poteče reakcija hidrolize vezanega žveplovega dioksida. Nadaljnji postopek je popolnoma enak kot pri določanju prostega SO<sub>2</sub> (Košmerl in Kač, 2004).

Izračun: koncentracijo prostega in skupnega SO<sub>2</sub> v mg/L izračunamo po enačbi (Košmerl in Kač, 2004):

$$C(\text{SO}_2) = \frac{a \cdot C(I_2) \cdot M \cdot 1000}{n \cdot v} \quad \dots(9)$$

Obrazložitev oznak:

a...volumen standardizirane raztopine joda (mL)

C(I<sub>2</sub>)...koncentracija joda (0,01 M)

M...molska masa SO<sub>2</sub> (64,06 g/mol)

n...molsko razmerje kemijske reakcije med jodom in žveplovim dioksidom (n = 1)

v...volumen vzorca (25 mL)

Koncentracijo vezanega SO<sub>2</sub> izračunamo iz razlike izračunanih koncentracij skupnega in prostega SO<sub>2</sub> v vzorcu vina po naslednji formulaciji (Košmerl in Kač, 2004):

$$C(\text{SO}_2) (\text{vezani}) = C(\text{SO}_2) (\text{skupni}) - C(\text{SO}_2) (\text{prosti}) \quad \dots(10)$$

### 3.4.6 Določanje relativne gostote in alkohola v vinu

Definicija: relativna gostota je razmerje med gostoto mošta ali vina pri 20°C in gostoto vode pri isti temperaturi. Suha vina imajo relativno gostoto blizu 1. Na gostoto vzorca mošta ali vina vplivajo vse v vinu raztopljene snovi. Te so bodisi specifično težje (sladkorji, kisline, glicerol) ali specifično lažje od vode (alkohol) (Košmerl in Kač, 2004).

Opis metode: termostatiranemu vzorcu vina (20°C) izmerimo relativno gostoto z denzimetrom. Nato točno določen volumen (100 mL) ponovno termostatiranega vzorca predestiliramo z destilacijsko napravo v 100 mL merilno bučko. Po destilaciji vzorca dobljeni alkoholni destilat termostatiramo in izmerimo njegovo relativno gostoto z denzimetrom. Poleg relativne gostote odčitamo tudi koncentracijo (volumenski delež) alkohola (Košmerl in Kač, 2004).

Oprema:

- destilacijska naprava (D.E.E. Gibertini)
- denzimeter Mettler Toledo DE45 Density Meter
- merilna bučka (100 mL)
- kapalka
- puhalka z deionizirano vodo

Reagenti:

- 12% raztopina kalcijevega oksida (le pri destilaciji vzorca vina!)
- 20% raztopina protipenilca (le pri destilaciji vzorca vina!)

Opis postopka: pred samo meritvijo je potrebno umerjanje denzimetra z deionizirano vodo ali komercialno dostopnim standardom. Prefiltriran vzorec vina nalijemo v 50 mL čašo. Z vzorcem vina (3-5 mL) 2 do 3-krat speremo resonančno U-cevko v denzimetru s pomočjo injekcijske brizge. Nato previdno in počasi (na sme biti zračnih mehurčkov!) ponovno napolnimo cevko z vzorcem vina in pritisnemo na gumb Measure. Čas meritve je odvisen od temperature vzorca v celici (Cell), ki je prikazana na zaslonu denzimetra. Nastavljena (Set) in dejanska temperatura morata biti izenačeni, da se začne merjenje relativne gostote. Rezultat odčitamo tako, da z gumbom Display poiščemo vrednost relativne gostote, ki je označena kot SG (t/t) (Košmerl in Kač, 2004).

Za merjenje koncentracije alkohola in relativne gostote alkoholnega destilata, moramo vzorec predhodno obdelati. 100 mL merilno bučko, napolnjeno nad oznako, postavimo v vodno kopel in termostatiramo 20 min pri 20°C. Nato s kapalko odvezamemo toliko vina, da je vsebina točno do oznake (spodnji menisk). Vsebino točno 100 mL vina iz merilne bučke kvantitativno prenesemo v destilacijsko posodo (prej merilno bučko 3-krat speremo z deionizirano vodo) in merilno bučko podstavimo pod cevko, kjer priteka destilat. V destilacijsko posodo dodamo 5 mL 12% raztopine kalcijevega oksida (boljša električna prevodnost), 2-3 kapljice protipenilca in speremo steno destilacijske posode z deionizirano vodo. Vzorec destiliramo v 100 mL merilno bučko do končnega volumna destilata 75-80 mL. Nato dopolnimo pod oznako z deionizirano vodo in alkoholni destilat ponovno termostatiramo v vodni kopeli 20 min pri 20°C. Potem merilno bučko dopolnimo točno do oznake z deionizirano vodo in izmerimo relativno gostoto alkoholnega destilata ter koncentracijo alkohola destilata z denzimetrom enako kot pri nedestiliranim vzorcem (Košmerl in Kač, 2004).

Izračun: izračuna pri tej metodi ni, saj dobimo vse meritve direktno izpisane na zaslonu denzimetra.

### **3.4.7 Določanje hlapnih kislin v vinu**

Za merjenje hlapnih kislin smo uporabili destilacijsko metodo. Hlapne kisline (očetna kot glavna, mravljinčna in butanojska) določamo titrimetrično v destilatu vina (po destilaciji z vodno paro) (Košmerl in Kač, 2004).

Opis metode: po destilaciji vzorca z vodno paro sledi titracija destilata s standardizirano vodno raztopino natrijevega hidroksida. Rezultat izrazimo kot očetno kislino (g/L) (Košmerl in Kač, 2004).

Oprema (Košmerl in Kač, 2004):

- a) generator pare (VADE, Gibertini)
- b) destilacijska naprava (D.E.E. Gibertini)
- c) pipete (merilne 1 mL, 5 mL, in 10 mL; polnilna 20 mL)
- d) erlenmajerica (250 mL)
- e) bireta (50 mL)
- f) kapalka
- g) puhalka z deionizirano vodo

Reagenti (Košmerl in Kač, 2004):

- 0,1 M raztopina natrijevega hidroksida
- 1 M raztopina natrijevega hidroksida
- 1% alkoholna raztopina fenolftaleina (indikator)
- 0,01 M raztopina joda
- raztopina žveplove (VI) kisline
- 1% raztopina škrobovice (indikator)
- 50% raztopina vinske kisline
- 20% raztopina protipenilca

Opis postopka: najprej opravimo destilacijo vina pri 130°C, in sicer tako, da v destilacijsko bučko odmerimo 20 mL vzorca vina. Nato dodamo 1 mL 50% raztopine vinske kisline in 2-3 kapljice protipenilca. Stene destilacijske posode speremo z deionizirano vodo in destiliramo vzorec z vodno paro v 250 mL erlenmajerico do končnega volumna destilata 150 mL. Titracijo destilata začnemo tako, da mu dodamo 2-3 kapljice raztopine fenolftaleina in takoj titriramo s standardizirano 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida do prehoda brezbarvne raztopine v svetlo rožnato, ki mora biti obstojna vsaj 15 sekund. Na koncu odčitamo porabo titranta, ki ga uporabimo za izračun koncentracije hlapnih kislin (enačba 11) (Košmerl in Kač, 2004).

Prav tako smo opravili tudi korekcijo na prosti ter preostali (kombinirani) žveplov dioksid (enačba 12). Takoj po končani prvi titraciji dodamo v erlenmajerico 1 mL žveplove (VI) kisline, 1 mL raztopine škrobovice, in titriramo z 0,01 M raztopino joda do prehoda v modro-zeleno barvo. Po končani korekciji za prosti SO<sub>2</sub>, dodamo v raztopino 10 mL 1 M raztopine NaOH, segrevamo do vrenja (2-3 min), ohladimo na sobno temperaturo, dodamo 5 mL raztopine žveplove (VI) kisline, 1 mL raztopine škrobovice in titriramo z 0,01 M raztopino joda do prehoda v modro-zeleno obarvanje (enačba 13) (Košmerl in Kač, 2004).

Izračun: masno koncentracijo hlapnih kislin izražamo kot masno koncentracijo očetne kisline (g/L) (Košmerl in Kač, 2004).

$$HK_1 = a_1 \cdot c \cdot M(\text{g/mol}) \cdot \left( \frac{50}{1000} \right) \quad \dots(11)$$

$$HK_2 = a_2 \cdot 0,06 \quad \dots(12)$$

$$HK_3 = a_3 \cdot 0,03 \quad \dots(13)$$

Obrazložitev oznak:

HK<sub>1</sub>...koncentracija hlapnih kislin, izraženih kot očetna kislina (g/L)

a<sub>1</sub>...poraba titranta (mL)

c...koncentracija NaOH (0,1 mol/L)

50...razredčitveni faktor

M...molska masa očetne kisline (60,05 g/mol)

HK<sub>2</sub>...korekcija koncentracije hlapnih kislin zaradi prostega SO<sub>2</sub> v destilatu, izraženo kot očetna kislina (g/L)

a<sub>2</sub>...poraba titranta (raztopina joda v mL)



0,06...empirični stehiometrični faktor

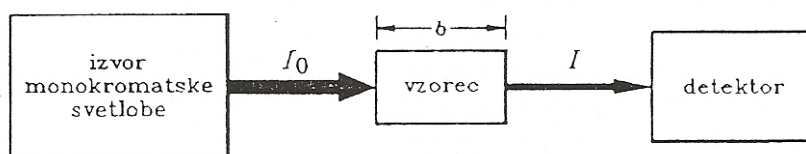
$HK_3$ ...korekcija koncentracije hlapnih kislin zaradi preostalega (kombiniranega)  $SO_2$  v destilatu, izraženo kot očetna kislina (g/L)

$a_3$ ...poraba titranta (raztopina joda v mL)

0,03...empirični stehiometrični faktor

### 3.4.8 Določanje fenolnih spojin v vinu

Fenolne spojine v vinu smo določali po spektrofotometrični metodi po Singletonu in Rossiju, ki sta jo predstavila leta 1965. Spektrofotometrične metode so absorpcijske molekulske metode, kjer koncentracijo vzorca ugotovimo z merjenjem absorpcije monokromatske svetlobe pri prehodu skozi raztopino vzorca. Za vzbujanje uporabimo monokromatsko svetlobo v UV (190-350 nm) ali vidnem (VIS) področju (350-800 nm), ki povzroča v molekulah spremembe v elektronskih stanjih (Pihlar, 2001).



Slika 9: Shema aparature za spektrofotometrijo (Pihlar, 2001)

Človeško oko praktično ne zaznava svetlobe pod 400 in ne nad 800 nm; najbolj je občutljivo na rumeno barvo ( $\lambda_{maks.} = 556$  nm) (Pihlar, 2001).

Barva	$\lambda$ [nm]
vijolična	380 – 450
modra	450 – 495
zelena	495 – 550
rumeno-zelena	550 – 570
rumena	570 – 590
oranžna	590 – 620
rdeča	620 – 700

Slika 10: Vidni del elektromagnetnega spektra (Pihlar, 2001)

Za našo specifično metodo (metoda po Singletonu in Rossiju) velja t.i. Beer-Lambertov zakon, ki podaja absorpcijo elektromagnetnega valovanja (svetlobe). Po njem je absorbanca  $A$  premosorazmerna koncentraciji (Pihlar, 2001):

$$A = \log I_0/I = a \cdot b \cdot C \quad \dots(14)$$

Obrazložitev oznak:

- a...absorptivnost ( $\text{Lcm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )
- b...dolžina svetlobne poti (cm)
- C...koncentracija (g/L)

Povprečna koncentracija fenolnih spojin v belem vinu je 225 mg skupnih fenolnih spojin/L, v rdečem vinu 1800 mg/L, v desertnem vinu pa od 350-950 mg/L (Košmerl in Kač, 2004).

Opis metode: fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo UV spektra in vidnega spektra. Zaradi tega lahko odčitano vrednost absorbance pri primerni valovni dolžini uporabimo za oceno koncentracije skupnih fenolov. Za določanje skupnih fenolnih snovi dodamo v vino Folin-Ciocalteujev reagent, ki v alkalni raztopini (dodatek natrijevega karbonata) oksidira fenolne spojine. Dodatek natrijevega karbonata je potreben za alkalnost reakcijske zmesi. Absorbanco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm (Košmerl in Kač, 2004).

Oprema (Košmerl in Kač, 2004):

- a) UV-VIS spektrofotometer
- b) kivete (10 mm)
- c) merilne bučke (100 mL)
- d) polnilne pipete (1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL in 10 mL)
- e) puhalka z deionizirano vodo

Reagenti (Košmerl in Kač, 2004):

- osnovna raztopina galne kisline (trihidroksibenzojska kislina)
- Folin-Ciocalteujev reagent
- 20% raztopina natrijevega karbonata
- deionizirana voda

Opis postopka: najprej pripravimo umeritveno krivuljo iz katere lahko potem izračunamo koncentracije skupnih fenolnih spojin naših vzorcev. Iz osnovne raztopine galne kisline pripravimo z ustreznim razredčevanjem različne koncentracije standardnih raztopin galne kisline. V 100 mL merilne bučke odpipetiramo od 0 do 10 mL osnovne raztopine galne kisline, jih dopolnimo do oznake z deionizirano vodo ter premešamo (Košmerl in Kač, 2004).

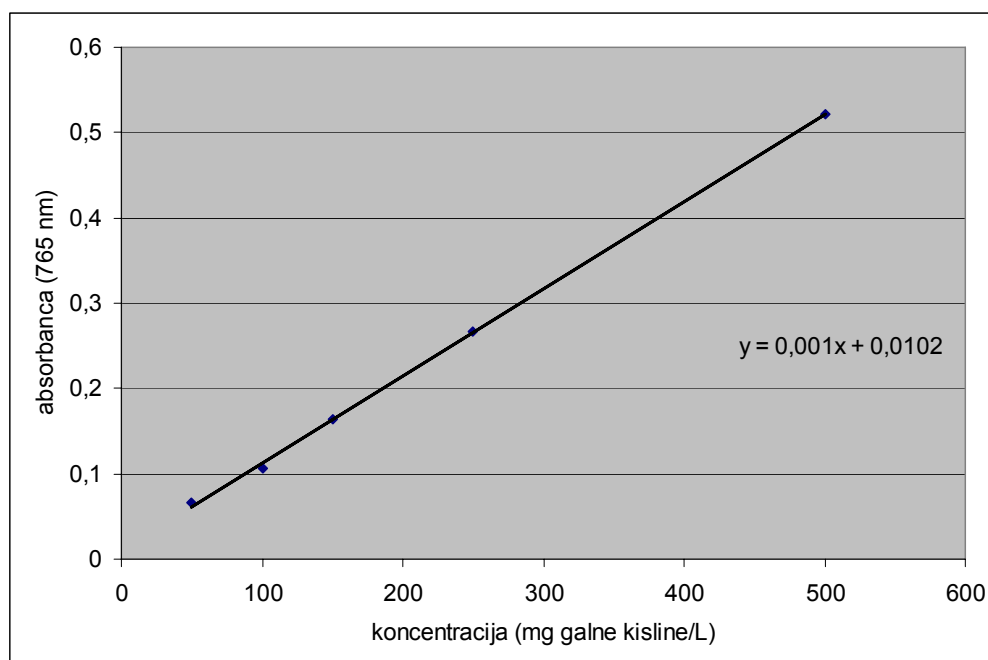
**Preglednica 1:** Standardne raztopine galne kisline za pripravo umeritvene krivulje (Košmerl in Kač, 2004)

Oznaka bučke	Volumen osnovne raztopine galne kisline (mL)	Končna koncentracija galne kisline v standardni raztopini (mg/L)
0	0	0 (slepi vzorec)
1	1	50
2	2	100
3	3	150
4	5	250
5	10	500

Nadaljnji postopek je takšen, da iz vsake merilne bučke odmerimo po 1 mL standardne raztopine v 100 mL merilno bučko, dodamo približno 60 mL deionizirane vode in raztopino premešamo. Nato dodamo 5 mL razredčenega Folin-Ciocalteujevega reagenta in raztopino ponovno dobro premešamo ter dodamo 15 mL 20% raztopine natrijevega karbonata. Vse skupaj zopet premešamo in dopolnimo do oznake z deionizirano vodo. Tako pripravljeno raztopino pustimo stati 2 uri pri sobni temperaturi. Po tem času vsebino merilne bučke še enkrat premešamo in jo prenesemo v 10 mm kivete. Med posameznimi meritvami moramo kivete sprati z naslednjim vzorcem, da izperemo morebitne ostanke predhodnih vzorcev. Tako je meritev karseda natančna. Na koncu izmerimo absorbanco proti slepemu vzorcu pri valovni dolžini 765 nm. Iz dobljenih meritev narišemo umeritveno krivuljo (Košmerl in Kač, 2004).

Rdeča vina je potrebno pred analizo ustrezno razredčiti (običajno v razmerju 1:10), da naši izmerjeni podatki zavzamejo vrednosti v območju umeritvene krivulje. To je potrebno zaradi visoke vsebnosti skupnih fenolnih spojin v rdečih vinih. 10 mL vina odmerimo v 100 mL merilno bučko in jo do oznake napolnimo z deionizirano vodo ter premešamo. Za analizo uporabimo 1 mL tako pripravljenega vzorca, ki ga odpipetiramo v drugo 100 mL bučko. Dodamo 60 mL deionizirane vode in postopamo naprej kot pri pripravi umeritvene krivulje (Košmerl in Kač, 2004).

Izračun: končno koncentracijo skupnih fenolnih snovi v vzorcu izračunamo iz enačbe umeritvene krivulje. Seveda moramo upoštevati tudi faktor razredčitve (10). Enačbo umeritvene krivulje dobimo, ko imamo vse meritve za umeritveno krivuljo in jo lahko narišemo. Le-ta vključuje odvisnost absorbance od masne koncentracije galne kisline (mg/L). Za to metodo velja Beer-Lambertov zakon za koncentracijsko območje od 50 do 500 mg galne kisline/L.



**Slika 11:** Primer umeritvene krivulje za izračun skupnih fenolnih spojin

Primer izračuna končne koncentracije skupnih fenolnih snovi: ko imamo narisano umeritveno krivuljo (Slika 12), lahko določimo njeno enačbo. S pomočjo le-te pa nato izračunamo koncentracijo fenolnih snovi preiskovanega vzorca.

$A_{\text{abs.}}(A) = 0,216 \rightarrow$  količina izmerjene absorbanca paralelke A našega vzorca

$y = 0,001x + 0,0102 \rightarrow$  enačba umeritvene krivulje

Ker je absorbanca na ordinatni osi (os y), kot je videti iz Slike 12, vstavimo v našo enačbo umeritvene krivulje vrednost izmerjene absorbanca na mesto y. Tako dobimo naslednjo zvezo:

$0,216 = 0,001x + 0,0102 \rightarrow$  enačbo rešimo in dobimo rezultat:

$x = 205,8 \rightarrow$  to seveda ni dokončna rešitev, saj moramo upoštevati še faktor razredčitve (10), ker smo naše vzorce pred analizo razredčili v razmerju 1:10.

Tako je končna rešitev oziroma izračun končne koncentracije skupnih fenolov v tem primeru takšen:

$x \cdot R = C_{\text{fenol}} \rightarrow 205,8 \cdot 10 = 2058 \text{ mg galne kisline/L}$

### 3.4.9 Določanje barve vina

Barvo opisujemo različno glede na spekter absorbirane in prepuščene svetlobe, pri čemer vse subjektivne zaznave ne pomenijo jasno definirane fizikalne veličine (intenziteta barve,

odtenek barve, spekter svetlobe). Človeško oko ni sposobno razlikovati posameznih komponent barve ločeno po valovnih dolžinah, ampak jih zaznamo kot celoto. Številna barvila in pigmente v vinu zaznamo običajno kot odtenek barve ali intenziteto barve (Košmerl in Kač, 2004).

Opis metode: barvo rdečih vin določamo z merjenjem absorbance pri valovnih dolžina 420 nm, 520 nm in 620 nm. Pred merjenjem moramo vzorce ustrezno razredčiti; običajno v razmerju 1:10. Vsota absorbanc predstavlja intenziteto barve (enačba 14), medtem ko razmerje absorbance pri 420 nm in 520 nm pomeni odtenek (ton) barve (enačba 15). Za redčenje uporabimo pufrno raztopino, katere pH je čim bolj enak pH analiziranega vzorca vina (Košmerl in Kač, 2004).

Oprema (Košmerl in Kač, 2004):

- a) UV-VIS spektrofotometer
- b) kivete (10 mm)
- c) epruvete (20 mL)
- d) polnilne pipete (1 mL, 5 mL in 10 mL)
- e) pH meter (za določanje pri rdečih vinih)

Reagenti (Košmerl in Kač, 2004):

→ raztopina za razredčevanje (pH je 3,30)

Opis postopka: vzorce najprej razredčimo v razmerju 1:10 z raztopino za razredčevanje in vse skupaj dobro premešamo. Razredčen vzorec nato odpipetiramo v kvarčno kiveto in izmerimo absorbanco pri valovnih dolžinah 420, 520 in 620 nm proti slepemu vzorcu (voda) (Košmerl in Kač, 2004).

Izračun: pri določanju barve smo naredili izračune za osnovne barvne parametre kot sta intenziteta barve (enačba 15) in ton barve (enačba 16) ter dodatne izračune, ki jih naredimo samo pri vzorcih rdečih vin. Ti izračuni so: delež rdeče barve (%), tj. prostih in vezanih antocianinov v obliki flavilijevega kationa (odvisen od pH vrednosti vina; enačba 16) ter delež (%) rdeče barve pri posamezni valovni dolžini (enačbe 18, 19, 20).

$$I = \sum (A_{420} + A_{520} + A_{620}) \quad \dots(15)$$

$$\text{ton} = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad \dots(16)$$

$$dA_F(\%) = \left[ A_{520} - \frac{(A_{420} + A_{620})}{2} \right] \cdot \frac{1}{A_{520}} \cdot 100 \quad \dots(17)$$

$$\text{pri 420 nm: } dA_{420}(\%) = \left( \frac{A_{420}}{I} \right) \cdot 100 \quad \dots(18)$$

$$\text{pri 520 nm: } dA_{520}(\%) = \left( \frac{A_{520}}{I} \right) \cdot 100 \quad \dots(19)$$

$$\text{pri 620 nm: } dA_{620}(\%) = \left( \frac{A_{620}}{I} \right) \cdot 100 \quad \dots(20)$$

### 3.4.10 Senzorično določanje lastnosti vina

Poleg vseh kemijskih, elektrokemijskih ter spektrofotometričnih metod za analizo naših vzorcev, smo opravili tudi senzorično oceno vzorcev. Pri tem smo se poslužili že uveljavljene Bouxbaumove metode, ki je v Sloveniji tudi uradno sprejeta.

Bouxbaumovo metodo je leta 1951 v strokovnem časopisu Weinbau objavil W. Bouxbaum in je v veljavi še danes. Odlikuje se predvsem po svoji enostavnosti. Za barvo sta predvideni največ 2 točki, za bistrost tudi do 2, za vonj do 4, za okus do 6 točk in za harmonijo do 6 točk. Po prvotni shemi je navedeno tudi najmanjše število točk, ki jih mora vino dobiti za posamezno lastnost (barva, bistrost, vonj, okus), da bi bilo primerno za trženje, ne glede na zadostno število skupno doseženih točk. Da je vino sposobno za promet, mora doseči najmanj 12,1 točke. Metoda nima predvidenih negativnih točk. Največje možno število točk, ki jih lahko doseže vino, je 20 (Nemanič, 1996).

Za posamezne kakovostne parametre mora po slovenski vinski zakonodaji vino doseči naslednje število točk:

- namizno vino brez porekla od 12,1 do 14,0 točk
- namizno vino z geografskim poreklom od 14,1 do 16,0 točk
- kakovostno vino z geografskim poreklom od 16,1 do 18,0 točke
- vrhunsko vino z geografskim poreklom nad 18,1 točke

Za ocenjevanje je treba vzorce vin ustrezno pripraviti. Vino je potrebno več dni pred ocenjevanjem ohranjati na isti temperaturi, določeni za senzorično ocenjevanje. Priporočljive temperature so (Nemanič, 1996):

- peneča vina:  $8 \pm 1^\circ\text{C}$
- bela in rose´ suha vina:  $10 \pm 1^\circ\text{C}$
- bela vina z ostankom sladkorja:  $12 \pm 1^\circ\text{C}$
- lažja rdeča vina:  $14 \pm 1^\circ\text{C}$
- krepkejša rdeča vina:  $16 \pm 1^\circ\text{C}$

Poleg Bouxbaumove metode pa v svetu poznajo še druge uradno priznane ocenjevalne metode (Nemanič, 1996):

- a) Vedelova metoda negativnih točk, ki jo je Mednarodni urad za trto in vino v Parizu (OIV) sprejel kot najbolj verodostojno za mednarodna ocenjevanja;
- b) metoda Mednarodne zveze enologov (UIE) → 100-točkovna metoda, ki se je v novjšem času uveljavila na mednarodnih ocenjevanjih;
- c) nemška DLG 5-točkovna metoda.

## 4 REZULTATI

Vzorci za vse opravljene kemijske analize smo po opravljenem vzorčenju filtrirali. Kemijske analize smo opravili na vzorcu, ki je bil hranjen v lesenem sodu, nato smo naš poizkus razširili še na hrambo v inertnem materialu (steklena posoda) in v nerjavni jekleni posodi (mikrooksidacija). Naš osnovni vzorec vina sorte modra frankinja smo spremljali v treh različnih okoljih, da smo ugotavljali kako se vino odziva na različne pogoje zorenja.

Pri vsakem vzorcu z različnimi pogoji zorenja (vzorec št. 1 → steklena posoda, vzorec št. 2 → leseni sod in vzorec št. 3 → nerjavna jeklena posoda z mikrooksidacijo) smo vsako meritev opravili v treh paralelkah. Za vse fizikalnokemijske in senzorične parametre smo naredili tudi statistično obdelavo podatkov (Preglednici 2 in 3).

**Preglednica 2:** Vpliv časa zorenja vina sorte modra frankinja v različnih vinskih posodah na fizikalnokemijske parametre (povprečna vrednost  $\pm$  standardni odklon)  $\rightarrow$  (Duncanov test,  $\alpha = 0,05$ )

parameter	zorenje v nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo			zorenje v lesenem sodu			zorenje v stekleni posodi		
	začetek	po 4. tednih	z.	začetek	po 4. tednih	z.	začetek	po 4. tednih	z.
pH	3,61 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	3,54 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***	3,61 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	3,56 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***	3,61 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	3,54 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	*
TK <sub>1</sub>	4,76 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	4,93 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	**	4,76 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	5,09 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	***	4,76 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	5,01 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	*
TK <sub>2</sub>	5,23 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	5,44 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	***	5,23 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	5,68 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	***	5,23 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	5,52 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	*
pufrna kapaciteta	36,37 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	37,13 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	***	36,37 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	39,33 $\pm$ 1,04 <sup>a</sup>	**	36,37 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	38,57 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	*
SO <sub>2</sub> skupni	35,67 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	23,67 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	***	35,67 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	30,67 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	***	35,67 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	33,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	**
SO <sub>2</sub> prosti	29,33 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	17,67 $\pm$ 2,08 <sup>b</sup>	***	29,33 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	19,67 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	***	29,33 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	20,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	*
skupni fenoli	2074 $\pm$ 15 <sup>b</sup>	2149 $\pm$ 25 <sup>a</sup>	*	2073 $\pm$ 15 <sup>a</sup>	2006 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	*	2073 $\pm$ 15 <sup>b</sup>	2116 $\pm$ 10 <sup>a</sup>	*
intenziteta barve	8,92 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	7,63 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	***	8,92 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	7,27 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	***	8,92 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	7,82 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	*
ton barve	0,73 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,71 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***	0,73 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,71 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***	0,73 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,70 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	*
rdeča barva (%)	48,73 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	55,27 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	***	48,73 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	53,47 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	***	48,73 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	55,10 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	*
rdeča barva 420 nm (%)	36,30 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	37,27 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	***	36,30 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	36,93 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	***	36,30 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	37,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	*
rdeča barva 520 nm (%)	49,87 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	52,60 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	***	49,87 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	52,20 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	***	49,87 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	52,90 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	*
rdeča barva 620 nm (%)	13,83 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	10,10 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	***	13,83 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	10,90 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***	13,83 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	10,10 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	*
hlapne kisline	0,53 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,51 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	*	0,53 $\pm$ 0,00	0,53 $\pm$ 0,01	nz	0,53 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,64 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	**
alkohol (vol%)	12,92 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	12,72 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	***	12,92 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	12,76 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	***	12,92 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	12,65 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	*

\*\*\* p  $\leq$  0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; \*\* p  $\leq$  0,01 statistično visoko značilen vpliv; \* p  $\leq$  0,05 statistično značilen vpliv; nz – p > 0,05 statistično neznačilen vpliv; skupini z različno črko v indeksu se med seboj statistično značilno razlikujeta.



**Preglednica 3:** Primerjava zorenja vina sorte modra frankinja v različnih vinskih posodah po 4. tednih na fizikalnokemijske in senzorično ocenjene parametre (povprečna vrednost  $\pm$  standardni odklon)  $\rightarrow$  (Duncanov test,  $\alpha = 0,05$ )

parameter	zorenje v nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo	zorenje v lesenem sodu	zorenje v stekleni posodi	Z.
pH	3,54 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	3,56 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	3,54 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***
TK <sub>1</sub>	4,93 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	5,09 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	5,01 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	***
TK <sub>2</sub>	5,44 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	5,68 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	5,52 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	***
pufna kapaciteta	37,13 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	39,33 $\pm$ 1,04 <sup>a</sup>	38,57 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	*
SO <sub>2</sub> skupni	23,67 $\pm$ 0,58 <sup>c</sup>	30,67 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	33,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	***
SO <sub>2</sub> prosti	17,67 $\pm$ 2,08	19,67 $\pm$ 0,58	20,00 $\pm$ 0,00	-
skupni fenoli	2149 $\pm$ 25 <sup>a</sup>	2006 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	2116 $\pm$ 10 <sup>a</sup>	***
intenziteta barve	7,63 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	7,27 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	7,82 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	***
ton barve	0,71 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,71 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,70 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***
rdeča barva (%)	55,27 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	53,47 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	55,10 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	***
rdeča barva 420 nm	37,27 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	36,93 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	37,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***
rdeča barva 520 nm	52,60 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	52,20 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>	52,90 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	***
rdeča barva 620 nm	10,10 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	10,90 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	10,10 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	***
hlapne kisline	0,51 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,53 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,64 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	***
alkohol (vol%)	12,72 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	12,76 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	12,65 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	*
bistrost	1,97 $\pm$ 0,06	1,80 $\pm$ 0,26	1,83 $\pm$ 0,29	nz
barva	1,97 $\pm$ 0,06	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	nz
vonj	3,20 $\pm$ 0,46	3,37 $\pm$ 0,23	3,33 $\pm$ 0,12	nz
okus	5,37 $\pm$ 0,06	5,30 $\pm$ 0,26	5,23 $\pm$ 0,25	nz
harmonija	5,27 $\pm$ 0,06	5,30 $\pm$ 0,17	5,20 $\pm$ 0,30	nz
skupna senzorična ocena	17,63 $\pm$ 0,57	17,60 $\pm$ 0,10	17,43 $\pm$ 0,15	nz

\*\*\*  $p \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilen vpliv; \*\*  $p \leq 0,01$  statistično visoko značilen vpliv; \*  $p \leq 0,05$  statistično značilen vpliv; nz –  $p > 0,05$  statistično neznačilen vpliv; skupini z različno črko v indeksu se med seboj statistično značilno razlikujeta.

#### 4.1 REZULTATI DOLOČANJA TITRABILNIH KISLIN V VINU

Analize skupnih (titrabilnih) kislin smo opravljali tedensko. Masno koncentracijo skupnih kislin izražamo v g vinske kisline/L in jo izračunamo po formulah 6 (titracija do končne točke titracije pH = 7,0) in 7 (titracija do končne točke titracije pH = 8,2).

**Preglednica 4:** Skupne (titrabilne) kisline v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo hranjeno v stekleni posodi (vzorec št. 1)

Čas (tedni)	1	2	3	4
TK <sub>1-1</sub> (g/L)	5,10	4,94	5,05	5,01
TK <sub>2-1</sub> (g/L)	5,50	5,44	5,54	5,52

Vrednost skupnih (titrabilnih) kislin izraženih v g/L vinske kisline je največja po prvem tednu hrambe v steklu. Kot je vidno iz preglednice 4, je vrednost najmanjša po 2. tednu (4,94 g/L za TK<sub>1</sub> in 5,44 g/L za TK<sub>2</sub>). Masna koncentracija skupnih kislin nato malce naraste po 3. tednu in nato na koncu našega poskusa (po 4. tednu) zopet malce pade.

**Preglednica 5:** Skupne (titrabilne) kisline v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo hranjeno v lesenem sodu (vzorec št. 2)

Čas (tedni)	0	1	2	3	4
TK <sub>1-2</sub> (g/L)	4,76	5,20	5,02	5,12	5,09
TK <sub>2-2</sub> (g/L)	5,23	5,80	5,58	5,66	5,68

Masna koncentracija skupnih (titrabilnih) kislin za vzorec iz lesenega sode je bila najmanjša na začetku našega poskusa kot je razvidno iz preglednice 5. Ta je znašala 4,76 g/L vinske kisline za TK<sub>1</sub> in 5,23 g/L vinske kisline za TK<sub>2</sub>. Ta vrednost je bila nato največja po 1. tednu zorenja v sodu, in sicer se je dvignila na 5,2 za TK<sub>1</sub> oziroma na 5,8 za TK<sub>2</sub>. Nato so skupne kisline po 2. tednu kar precej padle in se do konca našega poskusa malo dvignile na končnih 5,09 g/L vinske kisline za TK<sub>1</sub> ter na 5,68 g/L vinske kisline za TK<sub>2</sub>.

**Preglednica 6:** Skupne (titrabilne) kisline v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo hranjeno v nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo (vzorec št. 3)

Čas (tedni)	1	2	3	4
TK <sub>1-3</sub> (g/L)	5,10	4,93	5,02	4,93
TK <sub>2-3</sub> (g/L)	5,50	5,40	5,51	5,44

Tudi pri vzorcu, ki je bil zoren z metodo mikrooksidacije, opazimo da je bila največja vrednost skupnih (titrabilnih) kislin po 1. tednu zorenja, in sicer so vrednosti dosegle enako vrednost kot pri hrambi v stekleni posodi (5,1 g/L za TK<sub>1</sub> in 5,5 g/L za TK<sub>2</sub>). Kot vidimo iz preglednice 6, je masna koncentracija skupnih kislin po 2. tednu padla, nato se je po 3. tednu malce dvignila, na koncu pa zopet padla na takšno raven kot po 2. tednu zorenja.

V vseh treh vzorcih (1, 2 in 3) smo opazili, da je raven skupnih (titrabilnih) kislin največja po 1. tednu zorenja. Kasneje te vrednosti nihajo, in sicer pri vseh treh primerih po 2. tednu masna koncentracija titrabilnih kislin pade, nato po 3. tednu malce naraste, nato pa na koncu zopet zabeležimo rahel padec. Nihanja vrednosti so posledice dejstva, da so

organske kisline v vinu sestavljene iz polifunkcionalnih molekul, ki so odgovorne za kemijsko reaktivnost. Ta se odraža pri stabilizaciji vina z usedanjem komponent kot so pektini in beljakovine. Rahel padec masne koncentracije skupnih titrabilnih kislin pri vseh treh vzorcih na koncu poskusa v primerjavi z začetnimi vrednostmi je posledica sodelovanja le-teh pri tvorbi estrov in razvoju t.i. ležalne arome.

Vrednosti skupnih (titrabilnih) kislin izraženih v g/L vinske kisline so pri vseh treh vzorcih skozi ves čas poskusa bile nad najmanjšo zahtevano koncentracijo, ki znaša 3,5 g/L (UL RS 43/2004).

Kot je razvidno iz Preglednice 2, ima čas merjenja na fizikalnokemijske parametre pri masni koncentraciji skupnih (titrabilnih) kislin, statistično zelo visoko značilen vpliv pri vseh treh različnih vzorcih. Prav tako se povprečne vrednosti (na začetku in na koncu) pri posameznih vzorcih med seboj statistično značilno razlikujejo.

Vpliv tehnologije zorenja (steklena posoda, lesen sod, nerjavno jeklo z mikrooksidacijo) je statistično zelo visoko značilen (Preglednica 3). Tako se povprečne vrednosti meritev med seboj statistično značilno razlikujejo, vendar v praksi ne pomenijo velike razlike. Tako je po 4. tednih zorenja vzorca v steklu (št. 1) titrabilna kislina do končne točke titracije  $\text{pH}=7$  večja le za 0,08 g/L v primerjavi z mikrooksidiranim vzorcem (št. 3), med vzorcema 2 in 3 pa je razlika 0,16 g/L.

## 4.2 REZULTATI DOLOČANJA ORIENTACIJSKE PUFRNE KAPACITETE

Pufarno kapaciteto smo določali samo na začetku (teden 0 → pred nastavitvijo poskusa) in na koncu meritev (po 4. tednu). Na začetku smo naredili meritve samo na vzorcu, ki je bil zoren v lesenem sodu, na koncu pa na vseh treh (vzorec št.1, vzorec št. 2 in vzorec št.3).

Ugotavljamo, da se je vrednost orientacijske pufrne kapacitete iz začetne (36,4 mmol/L/pH) pri vseh treh vzorcih (1, 2 in 3) povečala. Najbolj je narasla pri vzorcu, ki je bil hranjen v lesenem sodu, in sicer na 39,3 mmol/L/pH, malo manj pri vzorcu, ki je bil zoren v steklu (38,6 mmol/L/pH), najmanj pa pri vzorcu, ki je bil hranjen v nerjavni jekleni posodi (37,1 mmol/L/pH). Pufarno kapaciteto, ki je aditivna lastnost mošta ali vina, lahko ocenimo na podlagi koncentracije vsake posamezne kisline in konstante disociacije vsake kisline. Očitno ima poroznost lesa in z njo vdor kisika v vino boljše učinke na stabilizacijo pH vrednosti (večja pufna kapaciteta), kot umetno vpihavanje majhnih koncentracij kisika pri mikrooksidaciji. Iz Preglednic 2 in 3 je razvidno, da ima čas merjenja na vrednost pufrne kapacitete večji vpliv (statistično zelo visoko značilen) kot pa tehnologija zorenja (statistično značilen vpliv).

Vse meritve zavzemajo količine, ki so v območju normalnih vrednosti za pufarno kapaciteto (35-50 mmol/L/pH), ki ga navajata Košmerl in Kač (2004).

## 4.3 REZULTATI DOLOČANJA pH VREDNOSTI

Meritve vrednosti pH so potekale tedensko. Glede na začetno izmerjeno vrednost (3,61) so se končne meritve (po 4. tednih), kot je razvidno iz Preglednice 7, pri vseh treh vzorcih

zmanjšale. Najmanj se je vrednost pH zmanjšala pri vzorcu vzetem iz lesenega soda (3,56). Pri ostalih dveh vzorcih se je vrednost pH bolj zmanjšala, in sicer na 3,54. Tako vse končne meritve padajo v okvir, ki določa pH mladih vin, ki naj bi bil manjši od vrednosti 3,6.

**Preglednica 7: Spremljanje vrednosti pH v vinu sorte modra frankinja**

Vzorec št. 1 (zorenje v stekleni posodi)				
Čas (tedni)	1	2	3	4
pH	3,60	3,60	3,61	3,54
Vzorec št. 2 (zorenje v lesenem sodu)				
Čas (tedni)	1	2	3	4
pH	3,63	3,62	3,61	3,56
Vzorec št. 3 (zorenje v nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo)				
Čas (tedni)	1	2	3	4
pH	3,60	3,59	3,61	3,54

Najmanjšo spremembo rezultatov vrednosti pH gre pri vzorcu iz lesenega soda pripisati tudi največji določeni pufrni kapaciteti. Iz Preglednic 2 in 3 je razvidno, da tako čas kot različne tehnologije zorenja statistično zelo značilno vplivajo na dobljene vrednosti pH. Zorenje vina v nerjavni jekleni posodi z metodo mikrooksidacije in zorenje v stekleni posodi se po povprečnih vrednostih med seboj statistično značilno ne razlikujeta, medtem ko se vrednost pH pri hrambi v lesenem sodu od ostalih dveh statistično značilno razlikuje (Preglednica 3).

#### 4.4 REZULTATI DOLOČANJA SKUPNEGA IN PROSTEGA ŽVEPLA

Skupno in prosto količino žveplovega dioksida smo določali na začetku in na koncu poskusa. Vzorcem, ki smo jih hranili na Oddelku za živilstvo (vzorec št. 1 in vzorec št. 3), v vsem tem času nismo dodali novih količin SO<sub>2</sub>. Prav tako tudi v Vinski kleti Krško v tem času niso dodajali žvepla v leseni sod iz katerega smo tedensko jemali vzorce za analize.

Največ skupnega žvepla smo določili pri vzorcu št. 1, in sicer 33 mg/L. Sledi mu vzorec št. 2, kjer smo določili 31 mg/L. Najmanj skupne količine žvepla smo določili pri vzorcu št. 3 (24 mg/L). Količina določenega prostega žvepla je zopet najmanjša pri vzorcu št. 3 (17 mg/L), medtem ko je vrednost ostalih dveh vzorcev enaka (20 mg/L). Pri vzorcu, ki je bil zoren s pomočjo mikrooksidacije, je bila določena najmanjša količina prostega SO<sub>2</sub> zaradi tega, ker je le-ta odličen antioksidant, ki s svojim delovanjem upočasni aktivnost oksidacijskih encimov in prepreči tudi tvorbo kinonov. V ta vzorec vina je bilo redno dovajana določena količina molekularnega kisika, ki je posredni porabnik žvepla. Pri drugih dveh vzorcih tako velikega in predvsem rednega vdora kisika v vino ni bilo, zato je količina prostega žvepla precej večja kot pri vzorcu št. 3. Statistična obdelava podatkov prikaže, da čas in tehnologija zorenja vina statistično značilno vplivata na spremembe v koncentracijah skupnega in prostega SO<sub>2</sub> (Preglednica 2 in 3).

V našem primeru smo imeli pri vseh treh različnih tehnologijah zorenja na koncu poskusa med 15 in 20 mg/L prostega žveplovega dioksida. Prav toliko ga je, kot navaja Bavčar

(2006), potrebnega v rdečih vinih zaradi razvoja oziroma polimerizacije fenolnih spojin med zorenjem.

#### **4.5 REZULTATI DOLOČANJA RELATIVNE GOSTOTE IN ALKOHOLA**

Relativno gostoto in alkohol smo določali na začetku in na koncu eksperimenta. Imeli smo dve meritvi, in sicer za nedestilirane ter destilirane vzorce. Pri nedestiliranih vzorcih smo določali samo relativno gostoto, medtem ko smo pri destiliranih določali tako relativno gostoto kot tudi vsebnost alkohola (vol.%).

Začetna vrednost relativne gostote nedestiliranih vzorcev (0,9937) se do konca poskusa ni spremenila. Manjša sprememba je opazna le pri vzorcu št. 1 (steklo), kjer vrednost za relativno gostoto znaša 0,9935. Pri destiliranih vzorcih je vrednost določena na začetku (0,9831) manjša kot pri končnih rezultatih. Najbolj se je povečala pri vzorcu št. 1 (0,9834), sledi mu vzorec št. 3 (0,9833). Najmanj se je relativna gostota v primerjavi z začetno vrednostjo povečala pri vzorcu št. 2, in sicer na 0,9832.

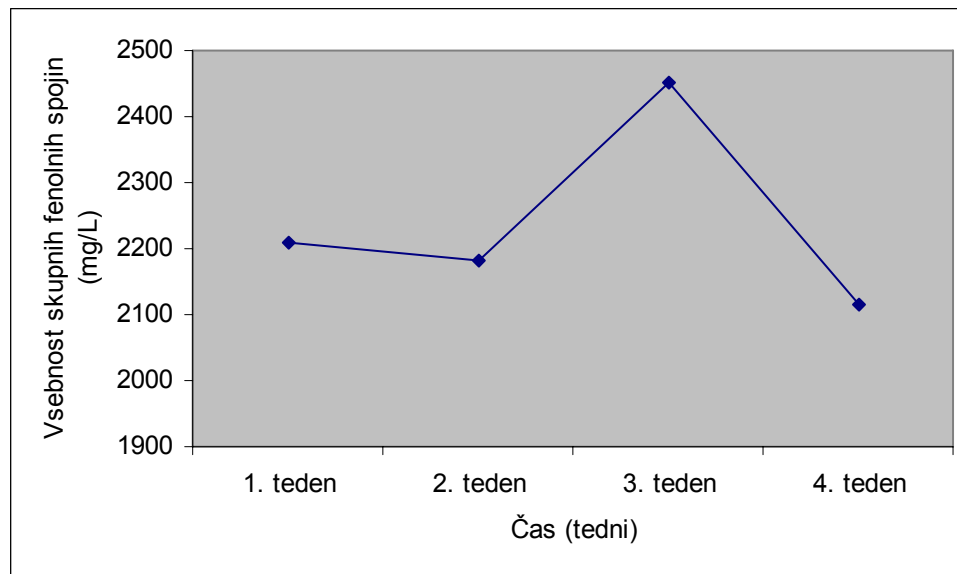
Največji vol.% alkohola smo določili v vinu na začetku našega poskusa, in sicer je ta znašal 12,92. Najbolj se je od začetnega vol.% alkohola razlikoval tisti, ki smo ga izmerili pri vzorcu št. 1, in sicer 12,65 (zmanjšanje za 2,1%). Najbližje osnovnemu vzorcu je bil tisti, ki smo ga po 4. tednih vzeli iz lesenega soda (12,76 vol.%), medtem ko je vzorec št. 3 po vrednosti alkohola predstavljal vmesno vrednost med njima (12,72 vol.%). Pri določanju stopnje alkohola smo ugotovili, da spremembe sovpadajo z določanjem relativne gostote. Relativna gostota naših vzorcev je v obratnem sorazmerju z vsebnostjo alkohola v vinu (večja stopnja alkohola zaradi svoje specifične teže zniža relativno gostoto vina). Padec stopnje alkohola pri vseh treh vzorcih je posledica reakcije etanola z organskimi kislinami pri tvorbi estrov ter pri tvorbi acetatov skupaj z aldehidi.

Čas zorenja ima statistično zelo visoko značilen vpliv na spremembe stopnje alkohola pri vzorcih vina v poskusu, medtem ko je vpliv tehnologije malo manj izrazit (Preglednica 2 in 3).

#### **4.6 REZULTATI DOLOČANJA SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN**

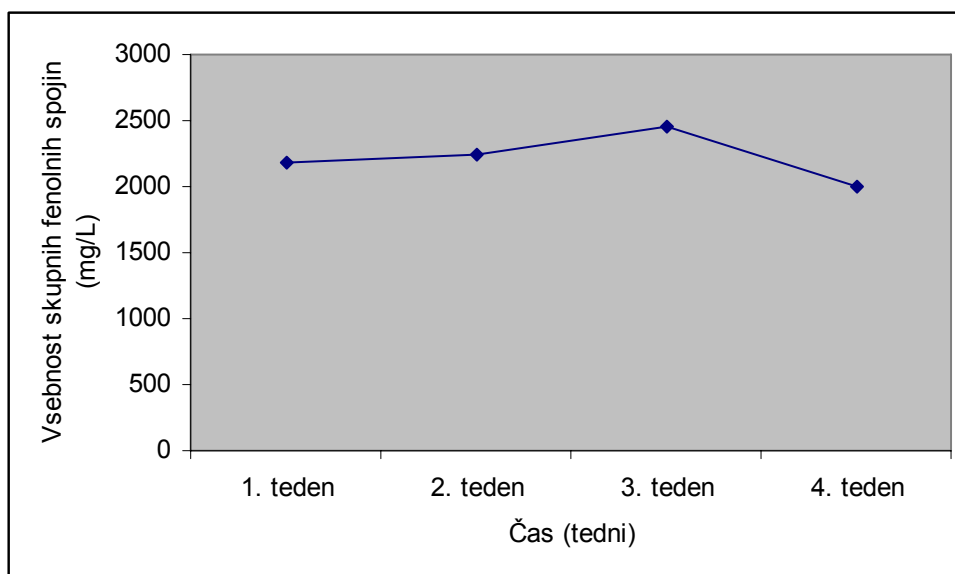
Skupne fenolne spojine smo določali tedensko, in sicer s spektrofotometrično metodo po Singletonu in Rossiju. S to metodo skupne fenolne spojine izrazimo kot mg galne kisline/L vzorca vina. Vsebnost fenolnih spojin v rdečih vinih je precej večja kot pri belih sortah, zato smo tudi morali opraviti 10-kratno razredčitev analiziranih vzorcev. To smo naredili zato, da so rezultati segali v območje umeritvene krivulje.

Že na samem začetku (pri začetni meritvi → teden 0) smo opazili, da so vsebnosti skupnih fenolnih spojin relativno velike (2075 mg galne kisline/L). Glede na to, da so povprečne koncentracije fenolnih spojin v rdečih vinih okoli 1800 mg galne kisline/L, je dobljena vrednost kar velika in kaže na daljšo maceracijo grozdja.



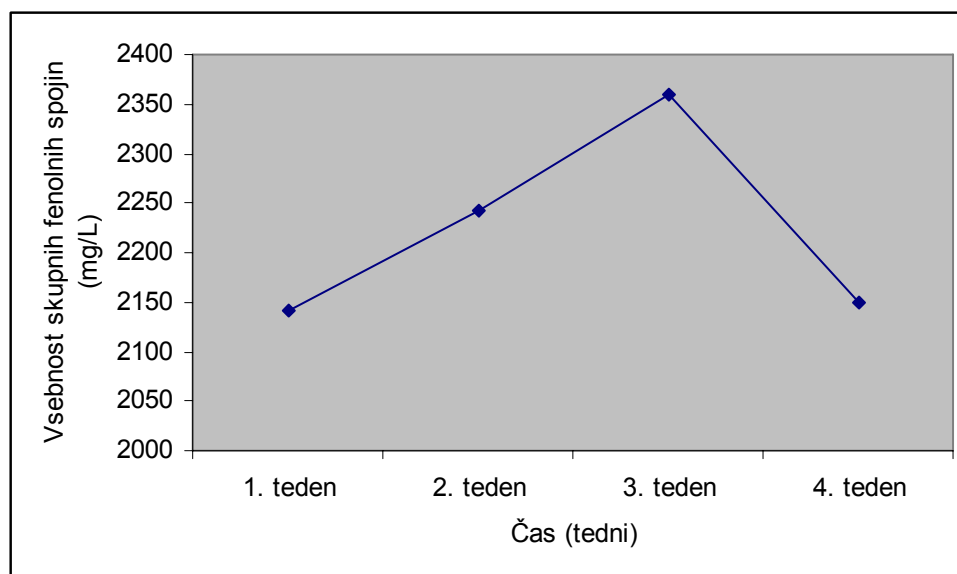
**Slika 12:** Časovno spreminjanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo zoreno v stekleni posodi (vzorec št. 1)

Po 1. tednu zorenja vzorca vina v steklu, se je vsebnost skupnih fenolnih spojin znatno povečala, in sicer na 2209 mg galne kisline/L. To je v primerjavi z osnovnim vzorcem (0) povečanje za skoraj 6,1 %. Nato se, kot je razvidno iz Slike 12, vrednost skupnih fenolov malce zmanjša, in sicer na 2183 mg/L. Po 3. tednu se je vsebnost skupnih fenolov povečala (2452 mg/L). Na koncu se vsebnost skupnih fenolnih spojin zmanjša na najmanjšo vrednost v vsem času poskusa (2116 mg/L), vendar je še zmeraj večja od začetne določene vrednosti v vinu pred poskusom. Iz Preglednice 2 je razvidno, da je vpliv časa na merjenje skupnih fenolov pri vzorcu vina, ki je bil hranjen v stekleni posodi statistično značilen ter da se povprečni določeni vrednosti fenolov na začetku in na koncu med seboj statistično značilno razlikujeta.



**Slika 13:** Časovno spreminjanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo zoreno v lesenem sodu (vzorec št. 2)

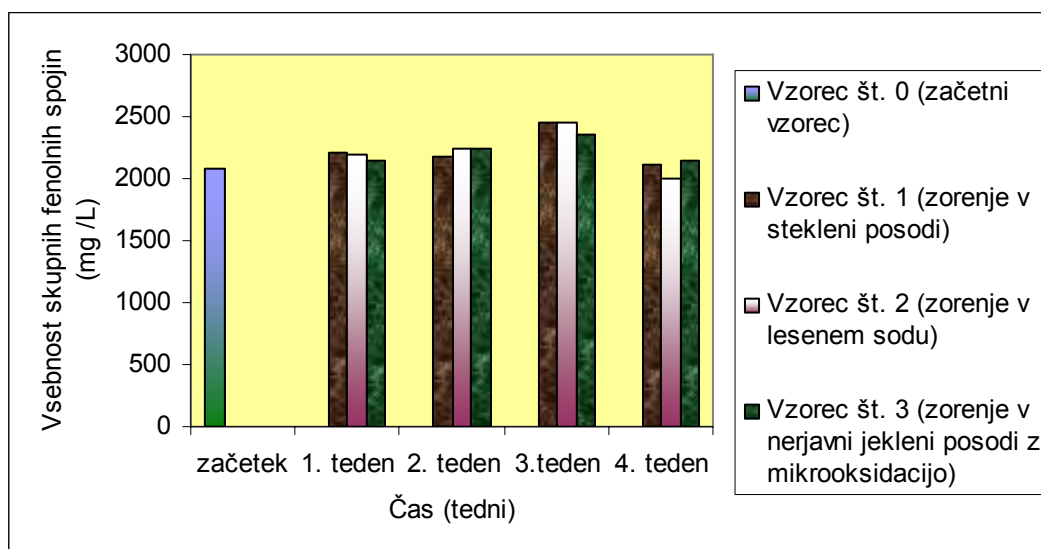
Kot je razvidno iz Slike 13, je bilo spreminjanje vsebnosti fenolnih spojin v primeru, ko smo analizirali vzorce iz lesenega sode, manjše kot pa pri vzorcu št. 1. Tu je krivulja grafa bolj položna → vsebnosti skupnih fenolnih spojin se spreminjajo časovno gledano manj kot v primeru vzorca, ki je bil hranjen v stekleni posodi. To je posledica nenehnega vdora majhnih količin kisika skozi pore lesenega sode in s tem manjših in konstantnih sprememb vsebnosti skupnih fenolnih spojin glede na čas zorenja. Po 1. tednu zorenja je vrednost skupnih fenolov znašala 2189 mg/L, nato se je po 2. tednu malo povečala (2250 mg/L). Največja je bila po 3. tednu, ko je bila 2448 mg/L, na koncu pa se je, kot je razvidno iz Slike 14, zopet zmanjšala (2006 mg/L). Končna vsebnost skupnih fenolnih spojin je manjša od osnovne (začetne) vsebnosti, kar je posledica antioksidativne sposobnosti fenolnih snovi, ki vežejo kisik. Vpliv časa na merjenje skupnih fenolnih spojin je statistično značilen, prav tako pa se povprečni vrednosti fenolnih snovi na začetku in na koncu med seboj statistično značilno razlikujeta (Preglednica 2).



**Slika 14:** Časovno spreminjanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vinu sorte modra frankinja, ki je bilo zoreno v nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo (vzorec št. 3)

Iz Slike 14 je razvidno, da je vrednost skupnih fenolov največja po 3. tednu naših meritev (2359 mg/L). Tako se je vsebnost skupnih fenolnih spojin linearno povečevala preko 1. tedna, kjer je bila vrednost 2142 mg/L ter nato preko 2. tedna, kjer smo določili 2243 mg galne kisline/L vzorca. Po 4. tednu vpihovanja majhnih količin kisika (3 mL/L vina/teden) se zmanjšajo vrednosti skupnih fenolov, ki padejo glede na 3. teden meritev kar za 8,9% (na vrednost 2149 mg/L). Manjšanje vrednosti skupnih fenolnih spojin je povezano z vezavo le-teh s kisikom zaradi njihovih antioksidativnih sposobnosti. Prav tako je zmanjšanje količine fenolov posledica vezave s proteini. Pri vzorcu vina hranjenega v nerjavnem jeklu in uporabi mikrooksidacije ima čas na merjenje fenolnih snovi statistično značilen vpliv. Povprečni vrednosti na začetku in na koncu poskusa se med seboj statistično značilno razlikujeta.





**Slika 15:** Primerjava sprememb vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo

Na sliki 15 je grafično predstavljena primerjava vrednosti skupnih fenolov v vseh treh vzorcih vina med seboj in tudi z osnovnim vzorcem. Vsebnost skupnih fenolov je samo v enem primeru manjša od prvotno določene vrednosti, in sicer v primeru vzorca št. 2 po 4. tednu zorenja (2006 mg/L). Ostale določene vrednosti presegajo začetno vsebnost masne koncentracije galne kisline. Iz Slike 15 je vidno, da so svojo največjo vrednost vsi trije vzorci dosegli po 3. tednu zorenja (2452 mg/L → vzorec št. 1, 2448 mg/L → vzorec št. 2, 2359 mg/L → vzorec št. 3). Do takrat masna koncentracija fenolnih spojin narašča, po 3. tednu zorenja pa do konca poskusa pada. Tedaj nastopi faza harmonizacije v kateri vino doseže največjo intenziteto. Kisik povzroči povečanje kondenzacijskih in polimernih reakcij, ki lahko vplivajo na zmanjšanje antioksidacijske sposobnosti fenolov in s tem na zmanjšanje vsebnosti skupnih fenolnih snovi. Traja lahko od 3 tednov pa do 6 mesecev, odvisno od vrste vina (Lesica, 2005; Dykes in Kilmartin, 2007). Najmanjše vrednosti količin skupnih fenolov dosegajo vzorci po 4. tednu zorenja pri različnih pogojih. Izjema je le vzorec št. 3, kjer je vrednost po 4. tednu malce večja kot po 1. tednu zorenja.

Povprečna vsebnost skupnih fenolnih spojin vseh vzorcev skozi čas poskusa je bila največja pri vzorcu št. 1, in sicer je bila 2240 mg galne kisline/L, kar je skoraj 7,4% povečanje vrednosti. To je posledica nekontinuirnega dotoka molekularnega kisika v vzorec vina (razen ob vzorčenju za opravljanje analiz), zaradi česar so se fenolne spojine bolj kopičile kot pri ostalih dveh vzorcih, kjer se je koncentracija fenolov zmanjšala zaradi oksidativnega učinka. Ostala dva vzorca imata popolnoma enako povprečno vrednost skupnih fenolov (2223 mg/L), ki je od prvotne večja za 6,6%. Razlikujeta se po različno velikih spremembah količin skupnih fenolov med posameznimi tedni.

Če z osnovnim vzorcem primerjamo samo končne rezultate (po 4. tednu), pridemo do drugačnih zaključkov kot če upoštevamo povprečje vrednosti skozi ves čas poskusa. Tako ugotovimo, da se najbolj poveča vsebnost skupnih fenolnih spojin pri vzorcu št. 3, in sicer

za 3,6%. Pri vzorcu št. 1 se poveča za 2,0%, medtem ko se pri vzorcu št. 2 (leseni sod) celo nekoliko zmanjša (-3,3%).

Iz Preglednice 3 je razvidno, da ima tehnologija zorenja na spremembe vrednosti skupnih fenolnih spojin statistično zelo visoko značilen vpliv. Iz tega sledi, da je na spremembe v fenolni sestavi bolj pomembna tehnologija kot pa čas zorenja.

#### **4.7 REZULTATI DOLOČANJA Hlapnih KISLIN**

Hlapne kisline smo določali le na začetku (pred nastavitvijo poskusa) in na koncu (po 4. tednih). Za določanje smo vključili metodo z destilacijo in naknadno titiranje destilata z bazo (natrijev hidroksid).

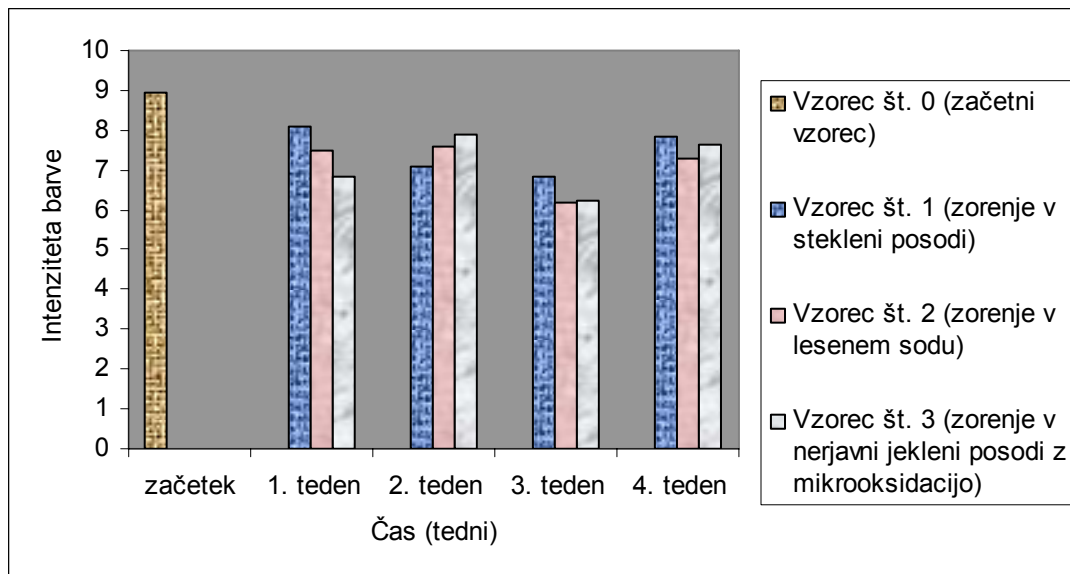
Začetna meritev koncentracije hlapnih kislin (g očetne kisline/L) je bila 0,62 g/L kar je pod maksimalno zakonsko dovoljeno količino. Koncentracija hlapnih kislin se je nato skozi poskus minimalno povečala samo v primeru vzorca št. 1, in sicer na 0,64 g/L. Pri vzorcu št. 2 se je koncentracija hlapnih kislin zmanjšala na vrednost 0,53 g/L, najbolj pa se je zmanjšala pri vzorcu št. 3, kjer je padla na 0,51 g/L (glede na prvotno meritev, kar za 17,7%).

Iz Preglednice 3 je razvidno, da zorenje z različnimi tehnologijami na vsebnost hlapnih kislin statistično zelo visoko značilno vpliva, medtem ko je vpliv časa zorenja pri vzorcu št. 2 statistično neznačilen.

#### **4.8 REZULTATI DOLOČANJA BARVE VINA**

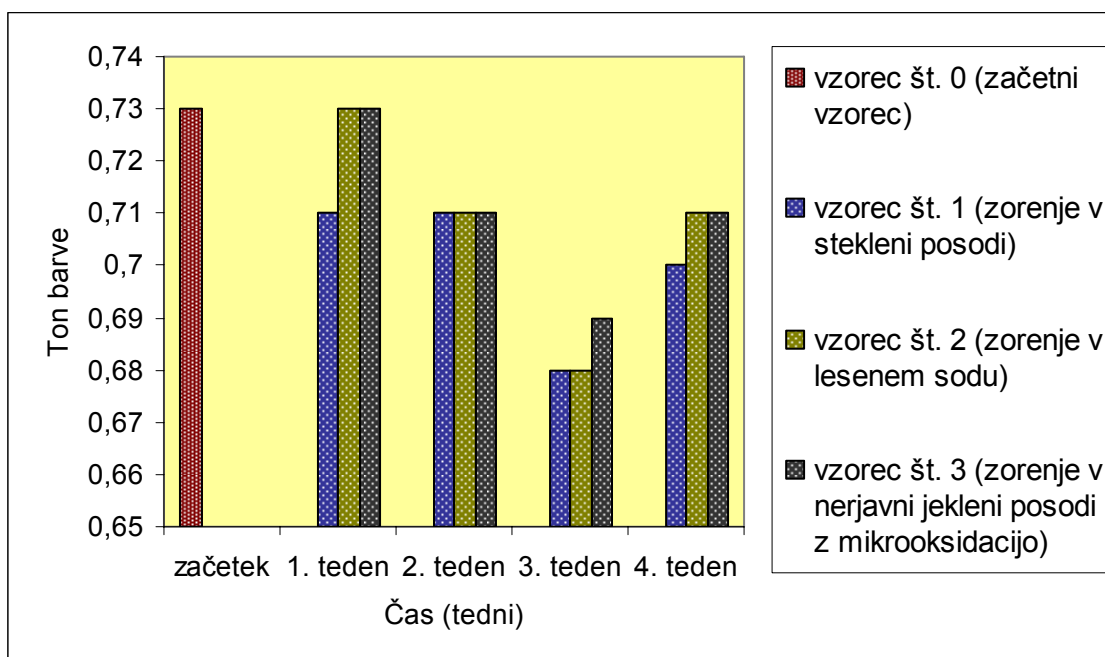
Za določanje barve vina smo uporabljali spektrofotometrično metodo. Merili smo absorbanco razredčenih vzorcev (1:10) pri treh različnih valovnih dolžinah (420 nm, 520 nm in 620 nm).

S pomočjo dobljenih absorbanco smo izračunali naslednje parametre za določanje barve vina: intenziteta barve (po enačbi 15), ton barve (po enačbi 16), delež rdeče barve (%), tj. prostih in vezanih antocianinov v obliki flavilijevega kationa (po enačbi 17) ter delež (%) rdeče barve pri posamezni valovni dolžini (po enačbah 18, 19, 20).



**Slika 16:** Primerjava spreminjanja intenzitete barve v vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo

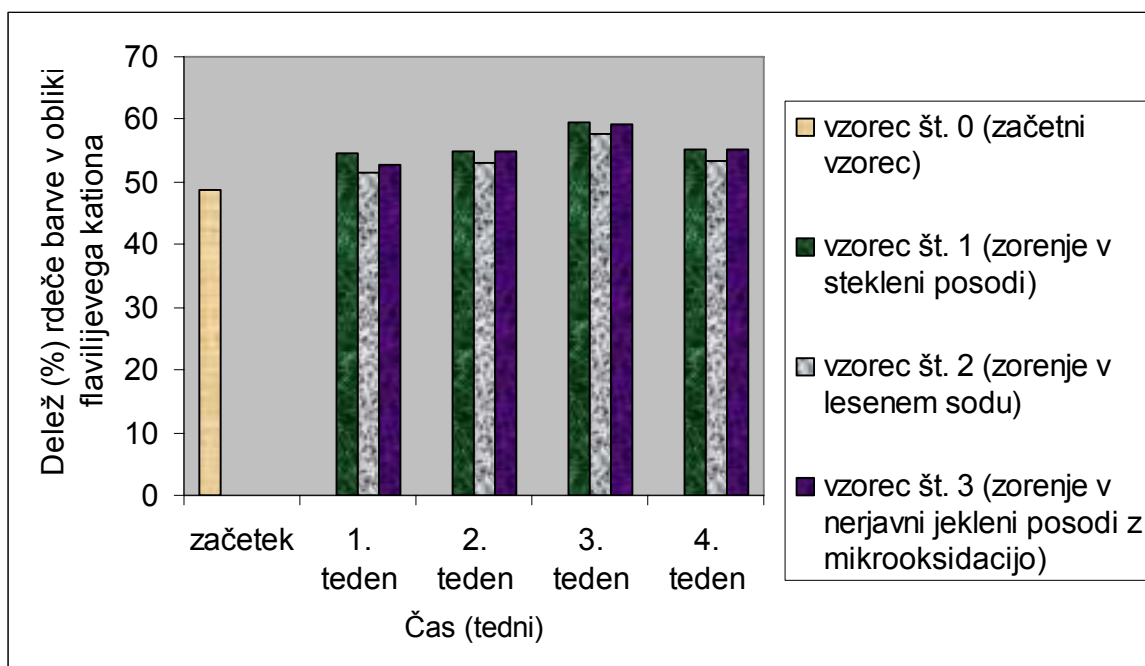
Kot je vidno iz Slike 16, je intenziteta vzorca vina sorte modra frankinja največja prav na začetku. Rezultati po tednih so zelo spremenljivi. Po 1. tednu je največja intenziteta pri vzorcu št. 1, sledi vzorec št. 2, najmanjša intenziteta barve pa je prisotna pri vzorcu št. 3. Po 2. tednu se situacija ravno obrne. Najmanjše vrednosti intenzitete barve so prisotne po 3. tednu zorenja, medtem ko se po 4. tednu intenziteta barve zopet poveča. V primerjavi z osnovnim vzorcem, se intenziteta na koncu poskusa (po 4. tednu) najbolj zmanjša pri vzorcu vina, ki je bil zoren v lesenem sodu, in sicer za 18,5%. Malo manj se vrednost zmanjša pri vzorcu, ki je bil hranjen v nerjavni posodi (14,5%), najmanj pa pri vzorcu, ki je zorel v stekleni posodi (12,3%). Intenziteta barve z zorenjem postopoma pada (Slika 16) zaradi izgube prostih antocianov, izgube polimerov s sesedanjem in vezavo s proteini ter zaradi sprememb na polimerih, ki se razbarvajo (Bavčar, 2006).



**Slika 17:** Primerjava spreminjanja tona barve v vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo

Iz Slike 17 je razvidno, da je ton barve vzorca vina sorte modra frankinja največji prav na začetku (vzorec št. 0 → 0,73). Tekom poskusa se ta vrednost ne preseže, vendar pa se v dveh primerih izenači, in sicer obakrat po 1. tednu zorenja (vzorec št. 2 in vzorec št. 3). Najmanjša vrednost tona barve je določena po 3. tednih, največja pa po 1. tednu. Vrednosti pri vseh treh vzorcih po 2. tednu so enake (0,71).

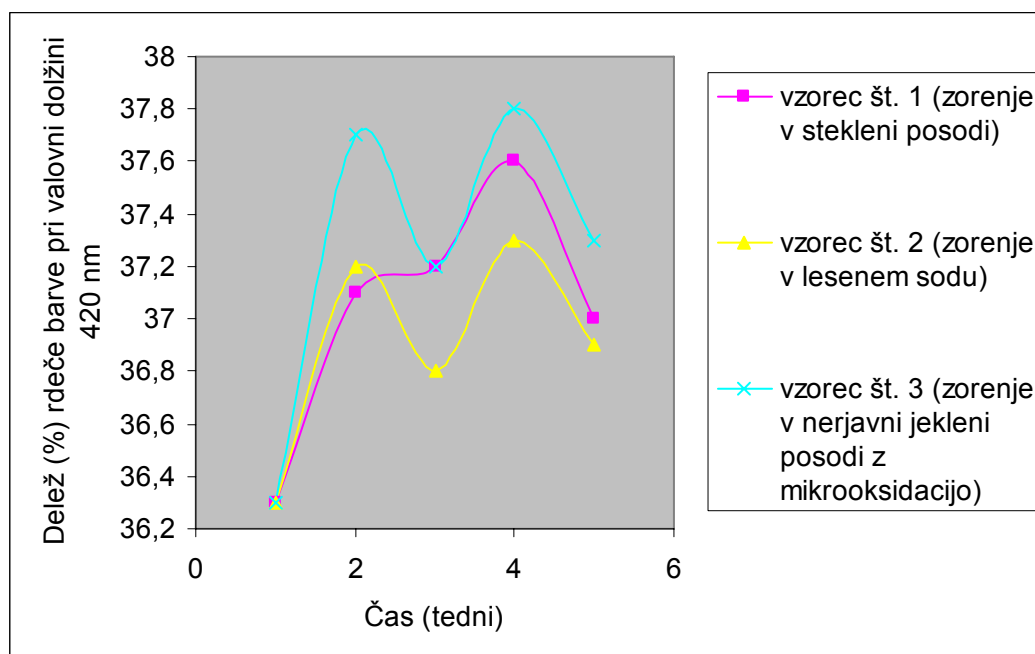
Ton barve se skozi čas najbolj intenzivno spreminja pri vzorcu, ki je bil zoren v lesenem sodu. Končni rezultat določanja tona barve se od začetnega (osnovni vzorec) najbolj zmanjša pri vzorcu št. 1, kar je vidno iz Slike 17, in sicer za 4,1%. Pri ostalih dveh, ki imata na koncu enako vrednost, je padec malo manjši (2,7%). Manjši padec pri vzorcih, ki sta bila nenehno v stiku s kisikom, je posledica tvorbe piranoantocianinov, ki imajo tipično maksimalno valovno dolžino med 480 in 510 nm (Rayne, 2007). Tako povečujejo absorbanco pri 420 nm, kar vodi v tendenco povečanja tona barve.



**Slika 18:** Primerjava spreminjanja deleža (%) rdeče barve, tj. prostih in vezanih antocianinov v obliki flavilijevega kationa, v vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo

Delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa je najmanjši pri osnovnem vzorcu (št. 0 → 48,7%). Nato se delež počasi povečuje (pri vseh vzorcih) do 3. tedna (Slika 18), na koncu pa malo pade, vendar ne pod začetno vrednost. Končni delež rdeče barve se najbolj poveča pri vzorcu, ki je bil zoren v nerjavni jekleni posodi s pomočjo mikrooksidacije, in sicer za 11,9%, kar je posledica direktne reakcije med antocianini in flavanoli, ki imajo dominanten delež rdečega pigmenta (Rayne, 2007). Malo manj se poveča pri vzorcu, ki je bil zoren v stekleni posodi (11,6%), najmanjši pa je bil pri vzorcu hranjenem v lesenem sodu (tu se je delež povečal za 9,0%).

Povprečje deležev rdeče barve vseh treh vzorcev skozi celoten poskus nam pove, da je leta največji pri vzorcu št. 1 (56,0%), sledi mu vzorec št. 3 (55,5%) ter vzorec št. 2 (54%). Največje spremembe med posameznimi tedni so prisotne pri vzorcu št. 2, malo manj pri vzorcu št. 3, medtem ko so pri vzorcu št. 1 relativno majhne.

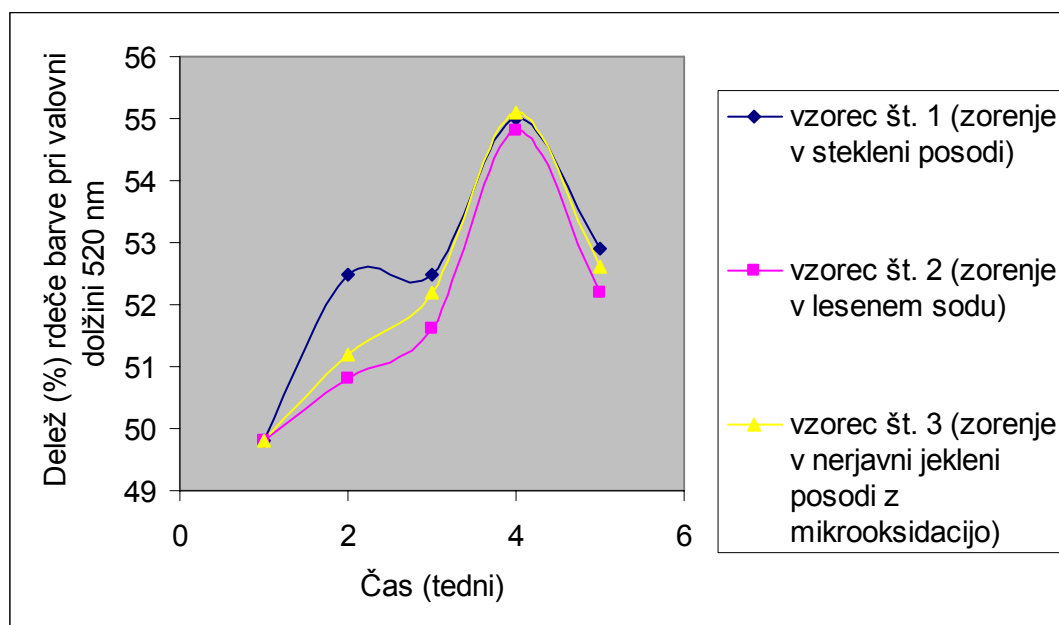


**Slika 19:** Primerjava spreminjanja deleža (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm pri vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo

Meritve pri 420 nm nam predstavljajo odtenek rumene in rjave barve, pri 520 nm odtenek rdeče ter pri 620 nm odtenek modre in vijolične barve.

Kot je razvidno iz Slike 19, vse tri krivulje izhajajo iz istega izhodišča. To je namreč delež (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm na začetku (osnovni vzorec). Ta predstavlja na začetku 36,3% in se pri vseh vzorcih po 1. tednu poveča. Nato se pri vseh treh vzorcih izmenično spreminja (po 2. tednu pade, po 3. tednu naraste, po 4. tednu zopet pade). Največje vrednosti dosega pri vzorcu št. 3, sledi mu vzorec št. 1. Najmanjše vrednosti deležev rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm pa so bile določene pri vzorcu, ki je bil zoren v lesenem sodu.

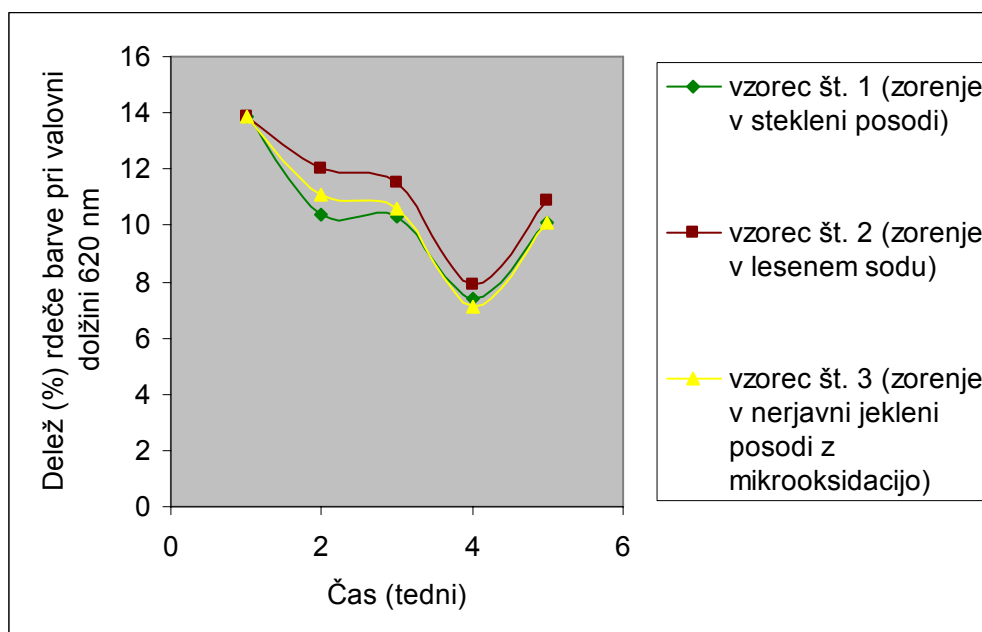
Ob koncu poskusa se je najmanj povečal delež (%) rdeče barve pri 420 nm pri vzorcu št. 2, in sicer za 1,7%. Sledi mu vzorec št. 1 (povečanje za 1,9%). Najbolj se je na koncu (po 4. tednu zorenja) poznalo povečanje deleža rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm pri vzorcu št. 3, in sicer za 2,8%. Ta se najbolj poveča pri vzorcu, ki je bil hranjen v nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo zaradi delovanja kisika in predstavlja prisotnost kinonov (Lesica, 2005).



**Slika 20:** Primerjava spreminjanja deleža (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm pri vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo

Pri valovni dolžini 520 nm rezultati med posameznimi vzorci niso tako variabilni kot pri valovni dolžini 420 nm, kar je razvidno iz Slike 20. Tu največje deleže rdeče barve zaznamo pri vzorcu, ki je bil zoren v stekleni posodi. Sledi mu vzorec št. 3, zadnji je vzorec št. 2. Tudi tu so pri vseh vzorcih in pri vseh meritvah vrednosti deležev večje od začetne pri osnovnem vzorcu, ki je bila 49,8%. Skupno vsem vzorcem je, da delež rdeče barve po 4. tednu pade v primerjavi z zorenjem po 3. tednu.

Končna vrednost deležev rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm, je v enakem vrstnem redu kot pri primerjavi vseh meritev pri vseh treh vzorcih. Na prvem mestu z največjim povečanjem končnega deleža rdeče barve je vzorec št. 1 (52,9%, kar pomeni povečanje za 6,2%). Drugo največjo vrednost smo izmerili pri vzorcu št. 3 (5,6% povečanje), medtem ko je vzorec št. 2 na tretjem mestu (4,8% povečanje). Povečanje deležev rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm je posledica nastanka kombiniranih taninsko-antocijanskih spojin preko acetaldehidnih mostičkov, ki poteka le v prisotnosti kisika (Nemanič, 2002). Pri vzorcu št. 1, ki prvotno ni imel dostopa do kisika, je do teh reakcij prišlo zaradi vdora kisika v vino ob vsakokratnem vzorčenju.



**Slika 21:** Primerjava spreminjanja deleža (%) rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm pri vzorcih vina sorte modra frankinja zorenih v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z mikrooksidacijo

Največje deleže rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm zavzema vzorec št. 2. Ta vzorec je pri deležih prejšnjih valovnih dolžin imel najmanjše vrednosti. Sledi mu vzorec št. 3, medtem ko je najmanjše vrednosti deležev rdeče barve dosegel vzorec št. 1. Vse vrednosti v času poskusa so pri tej valovni dolžini manjše kot rezultat prvotnega vzorca (13,9%). Vsem trem vzorcem (1, 2 in 3) je skupno tudi, da se jim deleži po 4. tednu zorenja malo povečajo. Ob koncu poskusa ima tako najmanjši padec deleža rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm vzorec št. 2, kar je razvidno iz Slike 21. Ostala dva vzorca sta dosegla enako vsebnost deleža rdeče barve po končanem poskusu (iz 13,9% na 10,1%). Za tvorbo modrih in vijoličnih pigmentov so odgovorne reakcije, ki vključujejo acetaldehid in imajo tipično valovno dolžino pri 528-540 nm (Rayne, 2007). Tudi te reakcije potrebujejo kisik, ki je bil prisoten pri vseh treh vzorcih pri poskusu.

Statistična obdelava podatkov pokaže, da imajo čas in različne tehnologije zorenja na fizikalnokemijske parametre določanja barve vina statistično zelo visoko značilen vpliv (Preglednica 2 in 3). Prav tako se povprečne vrednosti pri vplivu časa za različne parametre določanja barve na začetku in na koncu poskusa med seboj statistično značilno razlikujejo.

#### 4.9 REZULTATI SENZORIČNEGA DOLOČANJA KAKOVOSTI VINA

Senzorično analizo smo opravljali tedensko na Oddelku za živilstvo katedre za TPV. Ocenjevali smo bistrost, vonj, okus ter harmoničnost vin.

Po 1. tednu zorenja smo ugotovili, da je bil vzorec št. 3 najmanj bister, medtem ko je bil vzorec št. 1 najbolj bister. Prav tako je bil vzorec št. 1 svetlejši od ostalih dveh. Vzorec, ki



je bil zoren v nerjavni jekleni posodi pod pogoji mikrooksidacije, je imel najbolj zrel vonj, tanini so bili bolj uglajeni od ostalih dveh vzorcev. Prav tako smo zaznali bolj gladek sadni vonj, vendar je bil ta vzorec manj sorten v primerjavi z ostalima dvema. V vzorcu št. 1 je bilo zaznati prijetno sortno cvetico, ki je delovala sveže in je bila tudi malce trpka naokus. Pri vzorcu št. 2 je bilo čutiti vonj lesa in trpek okus, vendar manj kot pri vzorcu št. 1.

Glede bistrosti vin je po 2. tednu zorenja situacija ostala nespremenjena (najmanj bister vzorec št. 3, najbolj bister vzorec št. 1). Najbolj intenzivna cvetica je bila prisotna pri vzorcu št. 1, medtem ko je pri vzorcu št. 3 delovala malce zadržano vendar najbolj zrelo. Vzorec št. 1 je po okusu deloval sveže, trpko, prijetno, malo pregrebo. Vzorec št. 2 je bil mehkejši in je vseboval karakter soda. Najbolj zrelo je deloval vzorec št. 3, ki je bil tudi najbolj stabilen.

Po 3. tednu je najbolj bister vzorec št. 3, ki ima tudi za nianso temnejšo barvo. Pri vzorcu št. 2 je bila zaznavna lesna nota, pri vzorcu št. 3, ki je deloval najbolj zrelo pa je bila manj izražena sortna cvetica, ki je spominjala na aromo čokolade. Vzorec št. 3 je imel najbolj izražen harmoničen okus s slabšo sortnostjo in prisotno noto koščičastega sadja. Vzorec št. 1 je bil bolj svež, mlad, s poudarjeno kislino in grenko trpkim okusom. Vzorec št. 2 je bil po okusu poln, z grenkim pookusom, vendar z izstopajočo kislino.

Po 4. tednu zorenja smo opravili klasično senzorično analizo s pomočjo Bouxbaumove metode. Vzorce vin je ocenilo pet priznanih degustatorjev na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Tu se je ocenjevalo naslednje: bistrost, vonj, barva, okus in harmonija. Vsi vzorci so dobili visokokakovostno oceno.

Pri skupni povprečni oceni vzorcev je bil najslabše ocenjen vzorec št. 1 (steklena posoda). Dosegel je povprečno skupno oceno 17,4. Sledil mu je vzorec št. 2 s povprečno skupno oceno 17,5. Najboljšo povprečno skupno oceno je dosegel vzorec št. 3, in sicer 17,6. Pri vzorcu št. 3 je prišlo do največjih nihanj ocen posameznih parametrov med degustatorji. Najbolj jih je motila rahla oksidiranost, po drugi strani pa so ocenili, da je imel ta vzorec najbolj dolg in intenziven vonj ter okus. Prav tako je imel najmanj izraženo sortno cvetico.

Pri oceni bistrosti se najboljše odreže vzorec št. 3 z maksimalno oceno 2 točki. V barvi sta maksimalno število možnih točk (2) dosegla vzorec št. 2 in vzorec št. 3. V vonju, okusu in harmoniji je bil najboljši vzorec zoren v lesenem sodu.

#### **4.9.1 Dodatek taninov**

Po končani senzorični analizi vin smo opravili še en poskus. Tu smo vzeli samo vzorca št. 1 in 3. Pri tem poskusu je šlo za dodatek taninov (natančneje elagotaninov), senzorično analizo smo opravili po nekajdnevem mirovanju vin v hladilniku.

Vsak vzorec smo razdelili na tri dele: 0 (kontrolna posoda), 1 (posoda kamor smo dodali 3 g tanina "Tanin" + na 100 L), 2 (posoda kamor smo dodali 2 g "Tanin" + ter 2 g tanina "Premium prostato barrique" na 100 L). Poskus smo opravili v 5 litrskih steklenicah. Te smo označili z: 1/0, 1/1, 1/2, 3/0, 3/1 in 3/2. Vse zatehte smo predhodno raztopili v manjših

količinah vina in jih dobro premešali. Pripravke smo vlili v ustrezne steklenice, jih zopet premešali ter postavili v hladilnik za nekaj dni.

Vsa vina smo nato senzorično ocenili. Med šestimi vzorci je bil najbolje ocenjen vzorec z oznako 3/1, to je vzorec, ki je bil zoren pod pogoji mikrooksidacije v nerjavni jekleni posodi in smo mu dodali pripravek Tanin+. Odlikovalo ga je dolgotrajno zaznavanje arome, sadnost (pestrost, kompleksnost), svežina, intenzivnejši vonj. Najslabše je bil ocenjen vzorec 1/0, to je vzorec, ki je bil zoren v stekleni posodi brez dodatka. Bil je sicer na vonj sortno izražen, vendar s poudarjeno kislino in izraženo trpkostjo.

## **5 RAZPRAVA IN SKLEPI**

### **5.1 RAZPRAVA**

V diplomski nalogi smo spremljali zorenje mladega vina sorte modra frankinja pri različnih pogojih (steklena posoda, lesen sod in cisterna iz nerjavečega jekla z vpihovanjem majhnih količin kisika). Predvsem nas je zanimalo kako bo postopek mikrooksidacije vplival na kemijske parametre: pH, vsebnost prostega in skupnega žvepla, vsebnost alkohola in relativne gostote, titrabilne in hlapne kisline, pufrno kapaciteto, vsebnost skupnih fenolov ter barvnih parametrov v primerjavi z ostalimi postopki zorenja. Upoštevali smo tudi zelo pomemben vidik senzoričnih sprememb med zorenjem mladega vina pri različnih tehnologijah zorenja.

#### **5.1.1 Skupne (titrabilne kisline)**

Vsebnost skupnih (titrabilnih) kislin v vinu je bila pri vseh treh vzorcih (1, 2 in 3) največja po 1. tednu zorenja pri različnih pogojih. Največja vrednost je bila pri vzorcu, zorenem v lesenem sodu (5,80 g/L vinske kisline). Za vse vzorce je bilo značilno izmenično naraščanje in padanje masne koncentracije titrabilnih kislin skozi čas poskusa (2. teden vrednosti padejo, 3. teden naraščajo, nato zopet padejo).

#### **5.1.2 Orientacijska pufrna kapaciteta**

Orientacijska pufrna kapaciteta se je glede na začetne vrednosti pri vseh vzorcih povečala, najbolj pri vzorcu št. 2, in sicer iz 36,4 mmol/L/pH na 39,3 mmol/L/pH, kar znaša 7,4%. Povečanje pufrne kapacitete je bilo najmanjše v primeru vzorca, ki je bil podvržen mikrooksidaciji (1,9%).

#### **5.1.3 pH**

Začetna izmerjena vrednost pH je bila večja kot poznejše meritve tega parametra. Najmanj se je koncentracija oksonijevih ionov povečala pri vzorcu zorenem v lesenem sodu, in sicer za slabih 1,4%, medtem ko je bila povprečna pH vrednost pri ostalih dveh vzorcih enaka (zmanjšanje pH vrednosti za dobrih 1,9%).

#### **5.1.4 Relativna gostota in alkohol**

Spremembe vrednosti posameznih meritev pri določanju relativne gostote so bile zanemarljive. Pri nedestiliranih vzorcih je sprememba glede na začetno vrednost relativne gostote vzorca vina le 0,02% pri vzorcu, ki je bil hranjen v stekleni posodi, medtem ko sta meritvi pri ostalih dveh vzorcih glede na začetno vrednost enaki. Prav tako so bile minimalne razlike opazne pri destiliranih vzorcih. Največja sprememba je bila opazna pri vzorcu št. 1, ki se je od začetne meritve povečal za 0,03%.

Pri določanju vsebnosti alkohola smo ugotovili večje razlike med posameznimi vzorci. Največji vol.% alkohola smo določili na začetku poskusa. Najmanj se je zmanjšala stopnja alkohola pri vzorcu zorenem v lesenem sodu (za 1,2%), najbolj pa pri vzorcu, ki je bil hranjen v stekleni posodi (za skoraj 2,1%).

### 5.1.5 Skupno in prosto žveplo

Največ skupnega žvepla smo določili pri vzorcu, ki je bil zoren v stekleni posodi, sledi mu vzorec hranjen v lesenem sodu. Najmanj skupnega kot tudi prostega žveplovega dioksida pa smo določili pri vzorcu, ki je bil zoren v jekleni nerjavni posodi z mikrooksidacijo. Razpon med največjo (vzorec št. 1) ter najmanjšo vrednostjo (vzorec št. 3) je kar 9 mg SO<sub>2</sub>/L, kar predstavlja razliko med obema omenjenima vzorcema za slabih 27,3%. To je posledica predvsem nenehnega dotoka sicer majhnih koncentracij molekularnega kisika v vino (vzorec št. 3). Zaradi tega se je poraba žveplovega dioksida v primerjavi z vzorcem št. 1, kjer ni bilo nobenega dotoka kisika, znatno povečala. Vzorec št. 2 je po vrednostih skupnega kisika predstavljal vmesno vrednost, po vrednostih prostega pa se je enačil z vzorcem št. 1. To je posledica dejstva, da skozi les, ki je porozen tudi prehajajo majhne količine kisika.

### 5.1.6 Hlapne kisline

Pri meritvah koncentracije hlapnih kislin smo ugotovili, da je na začetku bila le-ta relativno velika (0,62 g očetne kisline/L) in je že bila senzorično zaznavna. Najbolj se je vrednost hlapnih kislin zmanjšala pri vzorcu št. 3 (17,7%), malo manj pri vzorcu št. 2 (14,5%), pri vzorcu št. 1 pa se je celo malo povečala, kar se je zaznalo tudi senzorično.

### 5.1.7 Fenolne spojine

Vsebnost skupnih fenolnih spojin se spreminja pri vseh treh vzorcih podobno, če upoštevamo naklone njihovih grafov skozi čas poskusa (Slike 13, 14 in 15), vendar se razlikujejo med seboj po velikosti nihanj vrednosti za skupne fenole. Vsi vzorci dosežejo največje vrednosti skupnih fenolnih spojin po 3. tednu zorenja (vzorec št. 1 → 2452 mg galne kisline/L, vzorec št. 2 → 2448 mg galne kisline/L in vzorec št. 3 → 2359 mg galne kisline/L), kar je razvidno iz Slike 16. Največja nihanja vrednosti so bila opazna pri vzorcu vina hranjenega v stekleni posodi, ki je tudi edini izmed treh vzorcev, kjer je meritev skupnih fenolov po 2. tednu manjša od tistih, ki so bili določeni po 1. tednu. Vsebnost skupnih fenolnih spojin samo v enem primeru pade pod začetno vrednost (2075 mg/L), in sicer pri vzorcu hranjenem v lesenem sodu po 4. tednu zorenja (2006 mg/L). Vse ostale določene vrednosti so nad začetno vsebnostjo skupnih fenolov.

Pri primerjavi povprečnih vrednosti skupnih fenolnih snovi pri vseh treh vzorcih skozi čas raziskave, smo ugotovili, da je največjo povprečno vrednost v 4. tednih dosegel vzorec št. 1 (2240 mg galne kisline/L, kar je v povprečju od osnovnega analiziranega vzorca večje kar za 7,4%). Vzorca št. 2 in 3 sta imela povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin enako (2223 mg galne kisline/L).

Primerjava začetne vrednosti in končnih vsebnosti skupnih fenolnih spojin (po 4. tednu zorenja), nam poda drugačen vidik kot samo primerjava povprečnih vrednosti. Najbolj se je povečala vsebnost skupnih fenolnih snovi pri vzorcu, ki je bil zoren v nerjavni posodi z mikrooksidacijo, in sicer za približno 3,6%. Pri vzorcu št. 1 je bil ta porast malo manjši (2,0%), medtem ko je bila pri vzorcu zorenem v lesenem sodu (vzorec št. 2) vrednost celo manjša (-3,3%) v primerjavi z osnovnim vzorcem vina (vzorec št. 0). To pripisujemo dejstvu, da je lesena vinska posoda porozna in tudi prepušča določene majhne količine kisika. Če bi raziskavo nadaljevali, bi tudi vsebnost skupnih fenolnih snovi v primeru vzorca 3 padla pod začetno vrednost. Zmanjševanje vsebnosti skupnih fenolov je prisotno zaradi učinka kisika na tvorbo kondenzacijskih produktov in procesa polimerizacije. Da se le-ta ne zmanjšuje tako hitro pri vzorcu št. 3, je zaradi dejstva, da nismo imeli na razpolago

dovolj visoke nerjavne posode, kajti mehurčki kisika se raztapljajo na svoji poti proti površju vina. Tako drastično zmanjšanje vsebnosti skupnih fenolnih snovi v primeru vzorca št. 1 pa pripisujemo dejstvu, da steklena posoda v kateri smo hranili ta vzorec med samim postopkom vzorčenja ni bila močno zaščitena pred vdorom zračnega kisika.

### 5.1.8 Barvni parametri

Skozi raziskavo smo ugotovili, da je bila intenziteta barve največja pri osnovnem vzorcu (Slika 17). Najmanjše spremembe med potekom poskusa so bile določene pri vzorcu št. 1, kjer ni bilo nobenega dodajanja kisika (razen vdor zračnega kisika ob vzorčenju). Intenziteta barve se je skozi čas poskusa zmanjševala pri vseh vzorcih, najbolj pa pri vzorcu hranjenem v lesenem sodu, in sicer kar za 18,5%. Upadanje intenzitete barve je značilno za vsa vina med zorenjem.

Ton (odtenek) barve je bil največji pri začetnem vzorcu (0,73). Skozi poskus se je zmanjševal in dosegel najmanjšo točko po 3. tednu (Slika 18). Na koncu se je vrednost rahlo povečala in se od začetne razlikuje za 4,1% pri vzorcu št. 1 ter za 2,7% pri ostalih dveh.

Delež (%) rdeče barve v obliki flavilijevega kationa se je najbolj povečala v vzorcu št. 3 (Slika 19), in sicer za 11,9%. Za to so najbolj odgovorni antocianini, ki so glavne sestavine vijolično-rdeče barve mladih vin. Prav metoda mikrooksidacije pospešuje bolj hitro polimerizacijo teh pigmentov z oksidativnimi procesi.

Delež (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm predstavlja rjavo-rumen odtenek barve. Na koncu poskusa se je ta delež najmanj povečal pri vzorcu št. 2 (Slika 20), in sicer za 1,7%, najbolj pa pri vzorcu št. 3, in sicer za 2,8%. To bi lahko bila posledica prekomernega vnosa količin kisika oziroma predolg čas trajanja mikrooksidacije.

Pri deležu (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm, ki predstavlja rdeč odtenek barve, smo največje povečanje glede na osnovni vzorec določili pri vzorcu št. 1 (povečanje za 6,2% → Slika 21). Najmanjše povečanje smo določili pri vzorcu št. 2, ki je bil zoren v lesenem sodu (4,8%).

Pri 620 nm (modro-vijoličen odtenek barve) je bil delež (%) rdeče barve največji pri vzorcu št. 2 (10,9%), medtem ko je pri ostalih dveh enak in je predstavljal 10,1%.

### 5.1.9 Senzorična ocena

Pri senzorični oceni se na koncu najslabše odreže vzorec št. 1, ki je dosegel skupno povprečno oceno 17,4. Sledi mu vzorec št. 2, ki je imel povprečno oceno 17,5. Največjo skupno povprečno oceno senzorične analize je dobil vzorec št. 3 (17,6 točk). Rahla oksidiranost in najmanj izražena sortna cvetica je bila negativna opisna ocena vzorca, ki je bil zoren v nerjavni jekleni posodi pod pogoji mikrooksidacije, medtem ko so bile pozitivne lastnosti dolg in intenziven vonj ter okus.

## 5.2 SKLEPI

- Uspešnost zorenja vina z mikrooksidacijo je odvisna od vrste vina in predvsem njegovih koncentracij skupnih fenolnih spojin. Na vina z manjšo fenolno vsebnostjo mikrooksidacija vpliva manj, kot na tista z večjo vsebnostjo fenolnih spojin.
- Mikrooksidacija je metoda, ki bi z dodatnimi raziskavami lahko vsaj delno nadomestila zorenje vin v lesenih posodah. Primerna je predvsem za pridelovalce, ki želijo svoja vina zoreti v nerjavnih jeklenih tankih.
- Ugotovili smo, da se je pri postopku mikrooksidacije delež rjavo-rumenega odtenka barve vina bolj povišal kot pri vinu, ki je bilo zoreno v stekleni posodi in lesenem sodu.
- S tehnologijo zorenja vina z mikrooksidacijo dosežemo bolj intenziven in dolgotrajen vonj ter okus, izgublja pa se sortna cvetica. Vino hitreje zori in deluje bolj harmonično.
- Samo s kemijskimi analizami je težko določiti konec vpihovanja majhnih količin kisika pri metodi mikrooksidacije, zato je senzorična analiza še vedno nepogrešljiv pokazatelj ustreznosti tega postopka zorenja vina.
- Glede na dobljene rezultate kemijske in senzorične analize, sklepamo da vino sorte modra frankinja dobro prenese zorenje s pomočjo mikrooksidacije.
- Ugotovili smo, da so rezultati analiz med vzorci vin iz lesene posode in iz posode iz nerjavnega jekla, ki je podvržena vpihovanju majhnih količin kisika, zelo primerljivi. Na to kažejo tako kemijski parametri kot tudi skupna povprečna ocena pri senzorični analizi, tako da bi pri optimizaciji postopka mikrooksidacije lahko celo presegli tradicionalno zorenje v lesenih posodah.
- Jeklena posoda, ki smo jo imeli pri poskusu, je bila relativno nizka. Metoda mikrooksidacije potrebuje za optimalno izvedbo relativno veliko posodo. To je zaradi dejstva, da se mehurčki kisika med dvigovanjem v tem času raztopijo in omogočijo boljšo oksidacijo taninskih snovi.
- Zorenje v lesenih vinskih posodah je v primerjavi z jeklenimi dražje, saj čiščenje lesene posode zahteva več ročnega dela, prav tako pa obstaja večja nevarnost mikrobioloških okužb.

## 6 POVZETEK

Diplomsko nalogo smo opravili z namenom, da bi primerjali zorenje vina sorte modra frankinja v treh različnih pogojih zorenja (v stekleni posodi, lesenem sodu in nerjavni jekleni posodi z uporabo mikrooksidacije) ter da bi glede na dobljene rezultate podali mnenje, katera posoda je za zorenje mladega vina najprimernejša. Raziskava je obsegala naslednje kemijske analize: merjenje pH, določanje titrabilnih kislin, vsebnost skupnih fenolnih spojin, določanje orientacijske pufrne kapacitete, vsebnost skupnega in prostega žvepla, določanje stopnje alkohola in relativne gostote, vsebnost hlapnih kislin ter določanje barve. Prav tako smo opravili še senzorično analizo v poskus zajetih vzorcev vina.

Vsebnost skupnih fenolnih spojin se po začetnem povečevanju v nadaljevanju poskusa zmanjšuje pri vseh treh vzorcih vina. Najbolj je to opazno pri vzorcu, ki je bil zoren v lesenem sodu (vzorec št. 2), kjer ta proces poteče najhitreje. Sledi mu vzorec, ki je bil hranjen v nerjavni jekleni posodi s pomočjo mikrooksidacije. To nakazuje na začetno stopnjo izgradnje strukture, kjer izgleda vino kot da se poslabšuje in gre v nasprotno smer od željene. Po 3. tednu zorenja smo opazili precejšnje zmanjšanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin pri obeh vzorcih, ki sta bila v stiku s kisikom (leseni sod in jeklena posoda). To pripisujemo začetku faze harmonizacije, ker je struktura vina že dosegla največjo intenziteto. Od tu dalje se je struktura mehčala in zato so se povečale arome in splošna aromatska kompleksnost (dolga in intenziven vonj ter okus). Prav tako kisik poveča kondenzacijske in polimerne reakcije, ki lahko vplivajo na zmanjšanje antioksidacijske sposobnosti fenolnih snovi in s tem njihovo zmanjšanje. Tudi proces avtooksidacije fenolnih spojin prispeva nekaj k skupnemu zmanjšanju količine le-teh v vinu.

Kemijske analize barve vina so pokazale, da je prišlo do relativno velikih sprememb v sestavi barve vina pri vseh treh analiziranih vzorcih (vzorec št. 1 → steklena posoda, vzorec št. 2 → leseni sod, vzorec št. 3 → jeklena posoda). V primerjavi deležev barve pri različnih valovnih dolžinah (420 nm, 520 nm in 620 nm) je razvidna kar očitna sprememba pri vsebnosti vseh treh barvil (rjavo-rumena, modro-vijolična in rdeča). Pri rjavo-rumenih in rdečih barvilih je šlo za povečanje deležev v sestavi barve vina, medtem ko je šlo pri modro-vijoličnih za njihovo zmanjšanje. Enako je pri vseh vzorcih, vendar se med seboj razlikujejo po različnih nihanjih med posameznimi tedni. Najbolj se je povečal delež rjavo-rumenih barvil pri vzorcu, ki je bil zoren v nerjavni posodi po metodi mikrooksidacije, kar kaže na to, da je bil odmerek vpihanega kisika nekoliko prevelik (3 mL O<sub>2</sub>/L/teden). Intenziteta barve se z zorenjem pri vseh treh vzorcih zmanjšuje (najbolj pri vzorcu, ki je bil zoren v lesenem sodu), kar je posledica izgube prostih antocianov. Delež (%) rdeče barve v obliki flavilijevega kationa se je najbolj povečal pri vzorcu, ki je bil hranjen v nerjavni posodi pod pogoji mikrooksidacije, medtem ko se je ton barve najbolj zmanjšal pri vzorcu vina hranjenega v stekleni posodi.

Vsebnost skupnih (titrabilnih) kislin se je najmanj povečala pri vzorcu, ki je bil zoren po metodi mikrooksidacije v nerjavni posodi. Prav tako ima ta vzorec (vzorec št. 3) opazno najmanjše povečanje orientacijske pufrne kapacitete. Pri analizi merjenja pH bistvenih razlik med posameznimi vzorci nismo zasledili. Pri merjenju stopnje alkohola je bil največji padec v vrednosti zabeležen pri vzorcu vina, ki je bil hranjen v stekleni posodi,

medtem ko je pri skupnem in prostem žveplu najmanjše vrednosti zavzel vzorec hranjen v nerjavni posodi. To je logično glede na to, da smo pri slednjem (vzorec št. 3) nenehno vpihovali kisik, ki je porabnik žvepla. Koncentracija hlapnih kislin je bila na začetku že v mejah senzorične zaznave in se je tekom poskusa celo povečala pri vzorcu, ki je bil zoren v stekleni posodi. Pri ostalih dveh vzorcih do tega pojava ni prišlo, saj se je tam ta vrednost spustila pod mejo zaznave.

S kemijsko in senzorično analizo vin smo ugotovili, da postopek mikrooksidacije bistveno vpliva na fenolno in barvno sestavo ter malenkost tudi na ostale kemijske parametre vina sorte modra frankinja ter da pravilna in optimizirana (količina kisika, čas vpihovanja, začetek mikrooksidacije,...) uporaba tega procesa lahko zelo vpliva na boljšo kakovost, harmoničnost, stabilnost in senzorično zaznavo vina.



## 7 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26-27 oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-31.
- Bavčar D. 2006. Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas: 67-103, 167-172.
- Belitz H. D., Grosch W. Food chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. Berlin, Springer-Verlag: 765-765.
- Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 10-10.
- Cano-Lopez M., Pardo-Minguez F., Schmauch G., Saucier C., Teissedre P. L., Lopez-Roca J. M., Gomez-Plaza E. 2008. Effect of micro-oxygenation on colour and anthocyanin – related compounds of wines with different phenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 14: 5932-5939.
- Cushnie T. T. P., Lamb A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343-353.
- Dykes S., Kilmartin P. 2007. Micro-oxygenation – optimizing the maturation process. *Australian&New Zealand Wine Industry Journal*, 22, 5: 31-45.
- Fell A. J., Dykes S. I., Nicolau L., Kilmartin P. A. 2007. Electrochemical microoxidation of red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58, 4: 443.
- Fric A. 2007. O Martinu, moštu, goski in vinu. Celje, Grafika: 48-49.
- Hernandez-Orte P., Lapeña A. C., Escudero A., Astrain J., Baron C., Pardo I., Polo L., Ferrer S., Cacho J., Ferreira V. 2008. Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic compounds in wines: Malolactic fermentation and ageing in wood. *LWT – Food Science and Technology*, 42: 391-401.
- Klofutar C., Šmalc A., Rudan-Tasič D. 1998. Fenoli in etri. Laboratorijske vaje iz kemije. 3. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 195-195.
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26-27 oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-20.
- Košmerl T., Kač M. 2004. Osnovne kemijske analize mošta in vina: Laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.
- Lesica M. 2005. Mikrooksidacija vina modri pinot. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 75 str.

- Llaudy M. C., Canals R., Gonzalez-Manzano S., Canals J. M., Santos-Buelga C., Zamora F. 2006. Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and colour of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4246-4250.
- Medved D. 2001. Sto resnic o vinu. Celovec, Mohorjeva založba: 144-145.
- Modra frankinja. 2009. Ljutomer, Izletniška kmetija Na koncu vasi. <http://www.turizemnakmetiji.si/Informacije.asp?Art=7> (16.jun. 2009) : 1 str.
- Nel L. 2000. The use of the micro-oxygenation technique. V: Wynboer: A technical guide for wine producers. Paarl, Wynboer  
<http://www.wynboer.co.za/recentarticles/0101technique.php><sup>3</sup> (30. jun. 2009): 4 str.
- Nemanič J. 1996. Spoznajmo vino: vina in sorte, degustacija in ocenjevanje, vino in hrana. Ljubljana, Kmečki glas: 57-58, 88-90.
- Nemanič J. 2002. Mikrooksidacija vin v sodčkih in cisternah. *Kmečki glas*, 59, 45: 8.
- Nevares I., Alano M. del. 2008. Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Analytica Chimica Acta*, 621, 1: 68-77.
- Ortega-Heras M., Rivero-Perez M. D., Perez-Magarino S., Gonzales-Huerta C., Gonzales-Sanjose M. L. 2008. Changes in the volatile composition of red wines during ageing in oak barrels due to microoxygenation treatment applied before malolactic fermentation. *European Food Research&Technology*, 226, 6: 1485-1493.
- Parish M., Wollan D., Paul R. 2000. Micro-oxygenation: a review. *Australian Grapegrower&Winemaker*, 438a: 47-50.
- Pihlar B. 2001. Osnove analizne kemije. *Zapiski predavanj*. 2. del. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 217-218.
- Pine S. H. 1987. *Organic chemistry*. New York, McGraw-Hill: 110-113.
- Pogačnik A. 2006. Veliki splošni leksikon: Priročna izdaja v dvajsetih knjigah. Ljubljana, DZS: 338-339, 1692, 2698, 3298, 3394, 4514, 4782.
- Pour-Nikfardjam M. S., Creasy G. L. 2004. Micro-oxygenation: where do we go from here? *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*, 480: 57-58.

Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za pridelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43 :5336 - 5357

Rayne S. 2007. Micro-oxygenation impacts on wine colour. *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*, 525: 75-79.

Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A. 2000. *Handbook of enology, Volume 1, The microbiology of wine and vinifications*. New York, John Wiley and Sons Ltd: 179-201.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2000. *Handbook of enology, Volume 2, The chemistry of wine and stabilization and treatments*. New York, John Wiley and Sons Ltd: 3-166.

Šikovec S. 1993. Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, Kmečki glas: 168-175, 235-236.

Šikovec S. 1996. Vino, pijača doživetja. Ljubljana, Kmečki glas: 13, 145-146.

Vodopivec M. 1993. Kako pripravimo dobro vino. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 25-26, 29-30, 64-65, 85.

Wertheim J., Oxlade C., Waterhouse J. 1987. *The Usborne illustrated dictionary of chemistry*. London, Usborne Publishing Ltd: 90-92.

Wondra M. 1997. Vpliv oksidantov na prehitro staranje stekleničenega vina. V: *Moderne tehnologije predelave in kakovost živil*. 18. Bitenčevi živilski dnevi 1997, Ljubljana, 12-13 junij 1997. Žlender B., Gašperlin L., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 211-216

## ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju doc. dr. Mojmirju Wondri za vse znanje in koristne nasvete ter informacije, za ves dragocen čas ob mojih vprašanjih in željah, ki so pripomogle k uresničitvi končne podobe diplomske naloge. Zahvaljujem se tudi recenzentu doc. dr. Rajku Vidrihu za strokovne nasvete pri pregledovanju diplomskega dela.

Zahvaljujem se Zdenki Zupančič za vse napotke, nasvete, zvijače in izkušnje pri delu v laboratoriju. Zahvala gre tudi gospodu Iztoku Gruntarju, ki mi je velikodušno posodil ključno aparaturo za eksperimentalno izvedbo diplomskega dela. Lepa hvala tudi izkušenim degustatorjem iz Kmetijskega inštituta Slovenije, ki so si utrgali delček svojega dragocenega časa za pomoč pri senzoričnih ocenah vzorcev vin. Zahvaljujem se tudi vsem, ki so tako ali drugače pripomogli pri uresničitvi te naloge pa jih nisem posebej omenil.

Zahvala gre tudi vsem sošolcem in sošolkam za takšne ali drugačne nasvete, lepe trenutke, zabave, izkušnje, dobro voljo, za tkanje prijateljskih vezi ter za lepe spomine, ki bodo ostali za vedno.

Posebej bi se zahvalil svoji družini za ves trud, odrekanje ter podporo brez katere mi ne bi uspelo zaključiti študija.