

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Luka NOVAK

**SPREMLJANJE BIOLOŠKEGA RAZKISA PRI
SORTI VINA MODRA FRANKINJA**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Luka NOVAK

**SPREMLJANJE BIOLOŠKEGA RAZKISA PRI SORTI VINA
MODRA FRANKINJA**

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

**MONITORING OF BIOLOGICAL DEACIDIFICATION OF WINE
VARIETY BLAUFRÄNKISCHE**

GRADUATION THESIS
Higher professional studies

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo je zaključek visokošolskega študija Agronomije. Laboratorijski del diplomske naloge je potekal v laboratoriju Katedre za tehnologijo, prehrano in vino, na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Mojmirja Wondro in za recenzenta doc. dr. Denisa Rusjana.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc Batič
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Mojmir Wondra
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Član: doc. dr. Denis Rusjan
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Diplomska naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisan se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddal v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Luka Novak

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Vs
- DK UDK 663.252 + 663.257: 543.6 (043.2)
- KG vino/ modra frankinja/ biološki razkis/ kemijska analiza/senzorična analiza vina
- KK AGRIS F01
- AV NOVAK, Luka
- SA WONDRÁ, Mojmir (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2010
- IN SPREMLJANJE BIOLOŠKEGA RAZKISA PRI SORTI VINA MODRA FRANKINJA
- TD Diplomsko delo (Visokošolski strokovni študij)
- OP IX, 35 str., 3 pregl., 15 sl., 18 vir.
- IJ SI
- JJ sl / en
- AI V diplomski nalogi smo spremljali potek biološkega razkisa pri sorti vina modra frankinja. Po maceraciji, stiskanju povrete drozge in zaključeni alkoholni fermentaciji smo vino razdelili na tri enake dele in vsakemu priredili obravnavanje v dveh ponovitvah: kontrola, spontan ter voden biološki razkis. Pred, med in po biološkem razkisu smo opravili osnovne kemijske analize vina. Merili smo: vrednost pH, vsebnost skupnih titrabilnih kislin, alkohola skupnega žvepla, skupnega ekstrakta skupnih fenolov, preostanka sladkorja, hlapnih kislin ter na koncu smo vino še senzorično ocenil. Pri vinu, pridelanem z vodenim biološkim razkisom smo glede na ostali dve obravnavanji zmerili najboljšo kakovost in sicer najustreznejši pH (3,50), manj skupnih (5,80 g/L) in titrabilnih kislin (5,50 g/L). Zaradi razgradnje, jabolčne v milejšo mlečno kislino, kar je prispevalo k izrazitejši sadni aromi in harmoničnosti okusa. Najboljšo oceno 17,50 je prav tako dobilo vino pridelano z vodenim biološkim razkisom, nekoliko slabšo oceno 17,25 vzorec spontanega biološkega razisa, najslabšo oceno 17,10 pa kontrolni vzorec. Z vodenim biološkim razkisom pridelamo v povprečju boljšo kakovost vina modra frankinja, s poudarjenim sadnim značajem, manj izraženim rastlinskim vonjem in kompleksnejšo aromo.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Vs
- DC UDC 663.252 + 663.257: 543.6 (043.2)
- CX wines / Blaufränkische / biological deacidification / chemical analysis / sensory analysis of wines
- CC AGRIS F01
- AU NOVAK, Luka
- AA WONDRA, Mojmir (supervisor)
- PP SI- 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2010
- TI MONITORING OF BIOLOGICAL DEACIDIFICATION OF WINE VARIETY
BLAUFRÄNKISCHE
- DT Graduation thesis (Higher professional studies)
- NO IX, 35 p., 3 tab., 15 fig., 18 ref.
- LA SI
- AL sl / en
- AB Our graduation thesis deals with the process of biological deacidification of the wine variety Blaufränkische. After maceration, the grape mash was pressed and after finished alcoholic fermentation, divided into three equal parts. Each of the three samples included two repetitions: control, spontaneous and controlled biological deacidification. Some basic chemical analysis of wine was done before, during and after biological deacidification. We measured the pH- rate, the content of titrable acids, alcohol, total sulphur, total extract and phenols, the rest of sugar and evaporative acids. After the experiment sensoric evaluation of wine was made. In wine produced with controlled biological deacidification regarding the other two treatments we measured the best quality, namely the most appropriate pH – rate (3,50), less of total (5,80 g/L), and titrable acids (5,50 g/L). Due to the degradation, malic acid in milder lactic acid, which contributed to pronounced fruit flavor and harmonious taste. The best sensoric result, 17,50, also received wine produced with controlled biological deacidification, a bit worse result 17,25 had the sample, produced by spontaneous biological deacidification. The worst result 17,10 had the control sample. With control biological deacidification we produced in average best quality wine Blaufränkische with a pronounced fruit character, less expressive plant smell and a complex aroma.

KAZALO VSEBINE

	Stran
Ključna dokumentacijska informacija.....	II
Key words documentation.....	III
Kazalo vsebine.....	IV
Kazalo preglednic.....	VI
Kazalo slik.....	VII
Kazalo prilog.....	VIII
Okrajšave in simboli.....	IX
1 UVOD	1
1.1 POVOD IN NAMEN NALOGE.....	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE.....	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 KEMIJSKA SESTAVA MOŠTA IN VINA.....	3
2.1.1 Voda	3
2.1.2 Ogljikovi hidrati	3
2.1.2.1 Monosaharidi.....	3
2.1.2.2 Disaharidi.....	4
2.1.2.3 Polisaharidi.....	4
2.1.3 Kislina	4
2.1.3.1 Vinska kislina.....	5
2.1.3.2 Jabolčna kislina.....	5
2.1.3.3 Mlečna kislina.....	5
2.1.3.4 Citronska kislina.....	5
2.1.3.5 Hlapne kisline.....	5
2.1.4 Alkohol	6
2.1.5 Fenolne snovi	6
2.1.6 Mineralne snovi	6
2.1.7 Dušikove spojine	7
2.1.8 Aromatične snovi	7
2.1.9 Aldehidi	7
2.1.10 Žveplove spojine	7
2.2 BIOLOŠKI RAZKIS.....	8
2.2.1 Mlečnokislinske bakterije (MKB)	8
2.2.2 Sprememba vonja in okusa	9
3 MATERIAL IN METODE	11
3.1 SORTA 'MODRA FRANKINJA'.....	11
3.2 POSKUSNI VINOGRAD.....	12
3.3 ZASNOVA POSKUSA.....	13
3.4 METODE DELA.....	14
3.4.1 Kemijske analize vina	15
3.4.1.1 Določanje vrednosti pH.....	15
3.4.1.2 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin.....	15
3.4.1.3 Določanje relativne gostote, skupnega ekstrata in alkohola.....	16
3.4.1.4 Določanje reducirajočih sladkorjev po Rebeleinu.....	17
3.4.1.5 Določanje žveplovega dioksida v vinu po Ripperju.....	17

3.4.1.6	Določanje hlapnih kislin.....	18
3.4.1.7	Določanje fenolnih spojin v vinu po Singletonu in Rossiju.....	18
3.4.1.8	Določanje barve vina.....	19
3.4.1.9	Določanje vsebnosti jabolčne, mlečne in vinske kisline s papirno kromatografijo.....	20
3.4.2	Obrazec za ocenjevanje pridelkov in proizvodov.....	20
3.5	STATISTIČNA OBDELAVA.....	21
4	REZULTATI.....	21
4.1	REZULTATI KEMIJSKIH ANALIZ VINA.....	21
4.1.1	Vrednost pH.....	21
4.1.2	Titribilne kisline.....	22
4.1.3	Skupne kisline.....	23
4.1.4	Prosto žveplo.....	24
4.1.5	Skupno žveplo.....	25
4.1.6	Barva vina.....	25
4.1.6.1	Ton barve.....	25
4.1.6.2	Intenziteta barve.....	26
4.1.7	Antociani.....	26
4.1.8	Skupni fenoli.....	27
4.1.9	Senzorična ocena.....	27
4.2	REZULTATI SPREMLJANJA BIOLOŠKEGA RAZKISA S PAPIRNO KROMATOGRFIJO.....	28
5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	29
5.1	RAZPRAVA.....	29
5.2	SKLEPI.....	32
6	POVZETEK.....	34
7	VIRI.....	35
	ZAHVALA	
	PRILOGA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Obravnavanja vina modra frankinja in pripisne oznake poskusa.....	14
Preglednica 2: Ton barve vina modra frankinja v odvisnosti od absorbance pri različnih valovnih dolžinah.....	25
Preglednica 3: Intenziteta barve vina modre frankinje v odvisnosti od absorbance pri različnih valovnih dolžinah.....	26

KAZALO SLIK

Slika 1:	Sorta 'Modra frankinja' (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).....	11
Slika 2:	Dolenjski vinorodni okoliš (Marjetič, 1994).....	12
Slika 3:	Dolenjski vinograd (Kerber, 1994).....	13
Slika 4:	Ročni in digitalni refraktometer (Bavčar, 2006).....	15
Slika 5:	Vinifikator, kjer je potekala maceracija drozge sorte 'Modre frankinja' (oktober 2009, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo).....	15
Slika 6:	Vrednost pH v odvisnosti od trajanja biološkega razkisa v vinu modra frankinja(g/L) glede na obravnavanje leta 2009.....	21
Slika 7:	Vsebnost titrabilnih kislin do pH = 7 (g/L) v vinu modra frankinja glede na obravnavanje leta 2009.....	22
Slika 8:	Vsebnost skupnih kislin do pH = 8,2 (g/L) v odvisnosti od trajanja biološkega razkisa v vinu modra frankinja'.....	23
Slika 9:	Vsebnost prostega žvepla v (mg/L) pred začetkom in po končanem biološkem razkisu v vinu modra frankinja.....	24
Slika 10:	Vsebnost skupnega žvepla v (mg/L) pred začetkom in po končanem biološkem razkisu v vinu modra frankinja.....	25
Slika 11:	Vsebnost antocianov pred začetkom in po končanem biološkem razkisu v vzorcu vina modra frankinja.....	26
Slika 12:	Vsebnost skupnih fenolov vinu modra frankinja glede na obravnavanje leta 2009.....	27
Slika 13:	Dosežene točke organoleptične ocene vina modra frankinja glede na obravnavanje leta 2009.....	27
Slika 14:	Kromotogram organskih kislin po drugem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu modra frankinja.....	28
Slika 15:	Kromotogram organskih kislin po tretjem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu modra frankinja.....	28

SEZNAM PRILOG

Priloga A: Umeritvena krivulja, ki prikazuje skupne fenole

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AOAC	(Uradne analitične metode združenja kemikov)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (tekočinska kromatografija visoke ločljivosti)
k	kontrola
MKB	mlečnokislinske bakterije
°Oe	Oechsle-jeve stopinje
O.I.V.	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (Mednarodna organizacija za trto in vino)
s	spontan biološki razkis
v	voden biološki razkis

1 UVOD

Obstajajo številne polemike o koristnosti biološkega razkisa v vinih. Na eni strani so zagovorniki le- tega še zlasti pri rdečih vinih, na drugi strani pa obstaja negativno mnenje predvsem pri belih vinih. Prednosti biološkega razkisa:

vina so biološko in kemijsko bolj stabilna. V steklenici ni več možnosti in bojazni pred nadaljnjim neželenim razkisom, ki dostikrat povzroči motnost vina;

posebno pri rdečih vinih pozitivno vpliva na boljšo kakovost, ki se kaže v polnosti, prijetnosti, blagosti in boljšega značaja. To pa ne velja za bela vina, zlasti ne za sorte z bolj izraženo kislino;

z razgraditvijo snovi, ki vežejo žveplo, se zmanjšuje skupna osebnost žvepla v vinu in tudi potreba po žveplanju. Harmoničnost vina je lahko dosežena brez dodatka kemičnih sredstev za razkisanje. Pomanjkljivosti biološkega razkisa:

biološki razkis je težko ustaviti; traja lahko celo nekaj mesecev, ob tem pa se lahko razvije delovanje očetnokislinskih bakterij;

pri večji vsebnosti ostanka sladkorja, nad 4 g/L ali pri pH vrednosti nad 3,4, lahko poleg mlečne kisline nastanejo številne neželene spojine kot so: biogeni amini iz aminokislin, očetna kislina iz sladkorja, večja količina estrov, diacetil, manit itn;

te snovi prizadanejo vonj in okus do zaznavne napake. Pri rdečem vinu je lahko prizadeta barva, ki se kaže v obliki manjše intenzitete in tona barve;

razkis je primeren le za nekatera vina bogatejša na alkoholu. Pomembno je, da potek biološkega razkisa spremljamo in kontroliramo (Vodovnik in Vodovnik-Plevnik, 2003).

'Modra frankinja' daje odlična rdeča vina, če grozdje doseže sladkorno stopnjo nad 85 °Oe. Jagodna kožica ima bogato fenolno sestavo (barvne in taninske snovi) in s strokovno vodeno maceracijo grozdja lahko pridelamo odlično mlado vino za takojšno porabo, oziroma krepka, intenzivno obarvana rdeča vina za daljše zorenje. Biološki razkis je zanimiv predvsem z vidika boljše kakovosti in sortne značilnosti vina.

1.1 POVOD IN NAMEN NALOGE

Vinogradniki in vinarji v vinorodnem okolišu Dolenjska opažajo vse pogostejšo prisotnost biološkega razkisa pri vinu modra frankinja, predvsem v letih z manj primernim vremenom. Zato smo v okviru diplomske naloge pri vinu modra frankinja sprožili in celo vodili biološki razkis ter ugotavljali vpliv le-tega na kakovost vina, katero smo opisali z merjenjem vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, skupnega in prostega žvepla, antocianov ter skupnih fenolov. Zmerili smo tudi vrednost pH ter izrazili ton in intenziteto barve vina. Po koncu opravljenih kemijskih analiz je bila izražena ocena kakovosti. Zanimal nas je tudi vpliv biološkega razkisa na senzorične lastnosti, predvsem harmoničnost vina.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Pričakujemo razlike pri fizikalno-kemijskih in senzoričnih parametrih med vzorci vina s spontanim biološkim razkisolom, vodenim biološkim razkisolom in kontrolo. Predvidevamo tudi, da bo spontan in voden biološki razkis v začetni fazi stekel pri 25 °C, nato pa se bo nadaljeval pri 17 °C. S tem bi ustvarili razmere, ki so največkrat prisotni v vinskih kletih.

2 PREGLED OBJAV

2.1 KEMIJSKA SESTAVA MOŠTA IN VINA

V grozdnem soku poznamo že nad 320 različnih sestavin, ki jih lahko razdelimo v naslednje skupine: voda, ogljikovi hidrati, kisline, mineralne snovi, dušične spojine, čreslovinaste snovi, barvne snovi, olja, maščobe, encimi, buketne in aromatične snovi, vitamini (Šikovec, 1985).

2.1.1 Voda

Voda je najbolj zastopana spojina v vinu, saj jo vino vsebuje 75 do 85 %. Zaradi 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 Ogljikovi hidrati

V fotosintezi se tvorijo v zelenih listih trte iz ogljikovega dioksida, ki ga dobivajo iz zraka in vode, katero trta dobi prek koreninskega sistema. Pojav imenujemo asimilacija ogljika do katere pride zaradi delovanja svetlobe in klorofila. Tvori se sladkor in sprosti kisik. Sladkor potuje iz listov v grozd, kjer se kopiči do polne zrelosti. V zrelem grozdju sta enako zastopana sadni (fruktoza) in grozdni sladkor (glukoza).

V veliko skupino ogljikovih hidratov prištevamo sladkorje in pektinske snovi. Sladkorje prisotne v vinu delimo v tri velike skupine (Šikovec, 1985):

monosaharidi,
disaharidi,
polisaharidi.

2.1.2.1 Monosaharidi

Heksoze so najpomembnejši in tudi količinsko najbolj zastopani ogljikovi hidrati, tako v moštu kot pozneje v vinu. Pomembni heksozi sta glukoza in fruktoza. Skupna koncentracija glukoze in fruktoze v zrelem grozdju je med 150 in 300 g/L. Na njuno koncentracijo vpliva večje število dejavnikov, kot so sorta, stopnja zrelosti grozdja, klima, tla, agrotehnični ukrepi in prisotnost plesni. Razmerje med glukozo in fruktozo se spreminja glede na dozorevanje grozdja. Njun ostanek skupaj s pentozami v vinu po alkoholni fermentaciji imenujemo reducirajoči sladkorji. Koncentracija reducirajočih sladkorjev je odločilna za senzorične lastnosti vina, za zaznavo sladkega okusa pa so pomembni tudi vplivi ostalih spojin, kot so etanol, kisline in fenoli (Bavčar, 2006).

Pentoze, ki so ogljikovi hidrati s petimi ogljikovimi atomi je v moštu in vinu mnogo manj. Glavne pentoze v vinu so arabinoza, ksiloza in ramnoza. Največjo koncentracijo v vinu

dosega arabinoza in sicer v belih vinih od 0,2 do 0,8 g/L, pri rdečih vinih pa od 0,4 do 1,5 g/L. V vinih pridelanih iz grozdja in okuženega s plesnijo (*Botrytis cinerea*), se koncentracija arabinoze podvoji v primerjavi z vinom iz grozdja brez prisotne plesni (Bavčar, 2006).

2.1.2.2 Disaharidi

Najpomembnejši disaharidni sladkor v tehnologiji vina je saharoza (trsní ali pesni sladkor). Saharóza je optično aktiven diglikozid, sestavljen iz glukoze in fruktoze. Čeprav saharóze same po sebi kvasovke ne uporabljajo direktno, pa privzemajo produkte njene hidrolize, glukozo in fruktozo, ki jih kvasovke pridobijo s pomočjo encima invertaze. Ta sposobnost kvasovk nam omogoča, da za povečanje koncentracije sladkorja v moštu uporabimo kar saharózo. Mošt žlahtne evropske vinske trte vsebuje v povprečju 2 do 5 g/L saharóze (Bavčar, 2006).

2.1.2.3 Polisaharidi

Polisaharidi imajo v grozdju dve pomembni funkciji, strukturno (celuloza, pektin) in energetsko (škrob). Celuloza in hemiceluloza sta sestavini celičnih sten grozdnih jagod in se zelo slabo ekstrahirata v mošt. Celuloza tako zaostane v tropinah, hemiceluloza pa se tudi v primeru ekstrakcije v mošt pozneje izloča med fermentacijo. Enako strukturno vlogo ima tudi pektin. Pektin v moštu se obarja ali pa encimsko razgradi. Z uporabo pektolitičnih encimov pride ob razgradnji pektina do obsežnejše sprostitve metanola v mošt in vino. Pomembni so tudi drugi polimeri in kratko verižni oligomeri, kot so na primer glukani. Ti nastanejo kot posledica okužbe s plesnijo (*Botrytis cinerea*) na grozdní jagodi (Bavčar, 2006).

2.1.3 Kisline

Kisline so zelo pomembna sestavina vina. Koliko kislin bo kakšno vino vsebovalo, je večinoma odvisno od geografskega porekla, sorte, letnika, časa trgatve, načina predelave, kletarjenja itn. Ustrezna vsebnost kislin je zelo pomembna za hranjenje vina, saj so vina z malo kisline bolj nagnjena k napakam in boleznim. Kisline razdelimo na: organske in anorganske kisline, hlapne in nehlapne kisline, proste in vezane kisline. V vinu so prisotne vse navedene kisline. Zelo pomembne so njihove soli, ki so prav tako sestavine vina. Najpomembnejše organske kisline, ki se nahajajo v vinu so vinska kislina, jabolčna kislina, mlečna kislina, citronska kislina, očetna kislina. Najpomembnejše anorganske kisline pa so fosforjeva, žveplova, kremenčeva in borova kislina; prisotne so v obliki nevtralnih soli (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.3.1 Vinska kislina

Je zelo pomembna sestavina vina, ker je ustrezna vsebnost kislin pomembna za hranjenje vina, saj so vina z izrazito majhno vsebnostjo kisline bolj nagnjena napakam in boleznim. Kislina nastaja v grozdnih jagodah, deloma pa tudi v listih vinske trte, medtem, ko je največja koncentracija vinske kisline v osrednji coni jagode. Vino vsebuje od 1,0-13,0 g/L vinske kisline, kar predstavlja 20-70 % celotne koncentracije skupnih kislin. Kislina se izloča kot kalijev tartrat v obliki vinskega kamna (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.3.2 Jabolčna kislina

Kot proizvod nepopolne oksidacije sladkorja v listju, prehaja v grozno jagodo, kjer se delno oksidira do vode in ogljikovega dioksida. Njena vsebnost v vinu zelo niha in je odvisna od letnika (v slabših letnikih prevladuje jabolčna kislina- vino je neharmonično). V vinu je jabolčna kislina neobstoja in se pretvarja v mlečno kislino pot vplivom raznih mikroorganizmov (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.3.3 Mlečna kislina

Je produkt biološkega razkisa, ki je zelo pomemben mikrobiološki proces, pri katerem mlečnokislinske bakterije razgradijo jabolčno kislino v milejšo mlečno kislino. V moštu iz zdravega grozdja mlečna kislina praviloma ni prisotna. Majhna vsebnost kisline pa je v rdečem vinu celo zaželena saj je vino bolj mehko in polnega okusa. Pri neustreznih razmerah (pH manjši od 3,1 in temperatura nižja od 17 °C) lahko biološki razkis poteka v napačni smeri in pride do nastanka nezaželenih hlapnih snovi, ki vodijo v bolezen vina, imenovano mlečni cik (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.3.4 Citronska kislina

Je sestavina mošta in vina, prisotna je v manjših količinah. V moštu jo najdemo do 0,7 g/L, vendar pa ni obstojna v vinu, saj jo mlečnokislinske bakterije razgradijo. Produkt metabolizma citronske kisline pa je tudi očetna kislina oziroma njen ester acetat (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.3.5 Hlapne kisline

So pokazatelj zdravstvenega stanja vina in so prisotne v vsakem vinu, vendar v manjših koncentracijah. Pri hlapnih kislinah mislimo predvsem na očetno kislino poleg nje pa med hlapne kisline prištevamo še mravljično, masleno in propionsko kislino. Prekoračitev mejnih vrednosti kaže na očetni cik, ki je najnevarnejša bolezen vina (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.4 Alkohol

V vinu je etanol glavni alkohol, ki je glavni proizvod alkoholnega vrenja. Po končanem alkoholnem vrenju je od nastalih alkoholov največ etanola, višji alkoholi pa so le v manjših količinah. Pri vinu se večinoma omejujemo na etanol, ki ga imenujemo kar alkohol. Alkohol je dober konzervans vina. Z alkoholom bogatejša vina so obstojnejša kot z alkoholom šibkejša vina. Z zorenjem (staranjem) vina se količina alkohola zmanjšuje. Del alkohola hlapi, del se oksidira v aldehide, del pa esterificira. Pravilnik o označevanju vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina (Ur.l. RS št. 40/2001) predpisuje, da mora vino vsebovati najmanj 8,5 vol. % alkohola, razen vina cviček, ki mora vsebovati najmanj 7,5 vol. % in največ 10,0 vol.% skupnega alkohola (Vodovnik T. Vodovnik A., 1999).

Po vsebnosti alkohola razdelimo vina v:

lahka: 60 do 80 g/L (7,5 do 10 vol %),

srednje močna: 80 do 100 g/L (10 do 12,5 vol. %),

močna: nad 100g/L (več kot 12,5 vol. %).

Vino daje moč, preko izgorevanja alkohola v organizmu, kjer se sprošča energija. Z vinom zaužiti alkohol v zmernih količinah pripomore k dobremu telesnemu in duševnemu počutju. Umirja, sprošča, poživlja in pozitivno spreminja sestavo maščob v krvi, seveda ob pomoči še drugih sestavin vina (Vodovnik T. Vodovnik A., 1999).

2.1.5 Fenolne snovi

Sestavljajo veliko skupino spojin v vinu. Delimo jih na štiri glavne skupine:

neflavoidne fenole

flavoidne fenole

taninske fenole

netaninske fenole.

Polifenolne snovi igrajo pomembno vlogo pri stabilizaciji rdečih vin, negativno pa s svojo prisotnostjo vplivajo na kakovost belih vin. V povprečju je 38 % fenolnih spojin v pečkih, 36 % v kožici, 20 % v peclju in 6 % v jagodnem mesu. Fenolne snovi, ki so zmeraj v moštu ali vinu dajejo grenak- trpek okus. Sposobnost fenolov je, da sprožijo koagulacijo beljakovin in s tem spontano bistrenja vina (Šikovec, 1993).

2.1.6 Mineralne snovi

Vino vsebuje več mineralnih snovi kot mineralna voda. Vinska trta absorbira te snovi iz tal, trta pa jih sprejema in razporeja v posamezne rastlinske dele. Med alkoholnim vrenjem vina se nekaj mineralnih snovi izloči zaradi vezave na kisline in prehoda iz topne v netopno obliko (vinski kamen). V vinu so manjše koncentracije mineralnih snovi kot v moštu. Količina mineralnih snovi je odvisna od geografskega porekla, sorte, letnika, vrste

tal, obremenitve in oskrbe trte ter stopnje zrelosti. Mineralne snovi pomembno vplivajo k polnosti vina in posledično večjo senzorično oceno (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.7 Dušikove spojine

Razdelimo jih na:

- organske spojine: aminokisliline, polipeptidi, beljakovine, amidi in amini
- anorganske spojine: amonijak in nitrat v koncentraciji do 200 mg/L.

Med alkoholnim vrenjem nastanejo velike spremembe. Vrednost amonijevega dušika se hitro zmanjša, saj ga kvasovke porabijo za razmnoževanje in razvoj lastnih celic. Beljakovine v vinu lahko sprožijo beljakovinsko motnost zato jih je potrebno odstraniti z enološkimi sredstvi. V vinu so med 28 raziskanimi aminokislilinami s fiziološkega vidika pomembni levcin, izolevcin, lizin, metionin, fenilalanin in triptofan. Vsebnost dušikovih spojin se zmanjša tudi med biološkim razkisom, ker jih mlečnokislinske bakterije porabijo za svojo celično izgradnjo (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.8 Aromatične snovi

Aromatiko vina oblikujejo, sestavljajo spojine, ki jih vonjamo in okušamo. Vino vsebuje aromatične spojine z več sto različnimi spojinami, ki igrajo odločilno vlogo v čutni zaznavi značilnosti sorte in kakovosti vina. Obstojnost čiste sortno značilne vinske cvetice in arome je pri vinu bistvenega pomena. Najpomembnejše aromatične snovi v vinu so poleg aldehydov, estrov in višjih alkoholov še hlapne kisline, žveplove spojine, terpenske spojine, fenolne spojine, dušikove spojine (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.9 Aldehidi

Največji delež aldehydov nastane v začetni fazi alkoholne fermentacije. V vinu je najbolj prisoten acetaldehyd, ki se tvori v kvasovkah. Lahko pa nastane tudi po končani alkoholni fermentaciji s kemično in mikrobiološko oksidacijo etanola. Kadar pride v vinu do večjih koncentracij acetaldehyda je to zaradi slabe predelave grozdja, slabše zaščite vina pred oksidacijo in slabše kakovosti grozdja. Večje koncentracije nastajajo tudi pri višjih temperaturah fermentacije. Acetaldehyd je visoko hlapna spojina z značilno 'sherry' aromo. Ima zelo pomembno vlogo pri razvijanju barve vina zaradi tvorbe polimernih pigmentov skupaj z antocianini in tanini (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.1.10 Žveplove spojine

Nastajajo med alkoholno fermentacijo in so drugotnega pomena za cvetico vina, ker nastajajo v majhnih koncentracijah. Imajo negativen vpliv na kakovost vina. Najpomembnejša žveplova spojina je vodikov sulfid, kateri lahko v večjih koncentracijah povzroča vonj po gnilih jajcih (Vodovnik T. in Vodovnik A., 1999).

2.2 BIOLOŠKI RAZKIS

Biološki ali mlečnokislinski razkis ali jabolčno mlečnokislinska fermentacija je za alkoholno fermentacijo drugi najbolj znan mikrobiološki proces v vinu. Glavni namen biološkega razkisa je zmanjšanje koncentracije kislin in značilna sprememba vonja in okusa (Bavčar, 2006).

Biološki razkis je primeren za:

rdeča vina z večjo koncentracijo skupnih kislin oziroma večjo koncentracijo jabolčne kisline iz hladnejših pridelovalnih območij,

ekstraktna, alkoholno bogata vina, namenjena daljšemu zorenju, staranju kjer so takšne spremembe vonja in okusa zaželene (kompleksnost arome)

bela vina, namenjena daljšemu zorenju in staranju in ga povezujemo s postopki daljše maceracije bele drozge ter ležanjem vina na kvasovkah. Splošno v belih vinih poteka biološki razkis zaradi tvorbe novih aromatičnih snovi, bistveno manj pa zaradi njegovega vpliva na zmanjšanje kislosti,

bela vina, ki jih pripravimo z namenom mešanja v zvrsti ali poenotenje letnikov.

Biološki razkis ni zaželen v vinih z manj kislinami (toplejša pridelovalna območja), v vinih z večjim ostankom reducirajočih sladkorjev in v belih svežih, sadnih vinih. V takšnih primerih biološki razkis deluje negativno na vina saj poslabša njihovo kakovost (Bavčar, 2006).

2.2.1 Mlečnokislinske bakterije (MKB)

Proces MKB vodijo mlečnokislinske bakterije rodov *Oenococcus* (*Leuconostoc*), *Pediococcus* in *Lactobacillus*, med katerimi je najbolj pomembna *Oenococcus oeni* (*Leuconostoc oenus*). Mlečnokislinske bakterije ločimo na homofermentativne, ki tvorijo mlečno kislino in heterofermentativne, ki tvorijo mlečno kislino, etanol in ogljikov dioksid. V vinu rastejo obe vrste bakterij vendar so pomembnejše homofermentativne (Bavčar, 2006).

Pomembne lastnosti mlečnokislinskih bakterij so:

- prisotne so tako na grozdju kot na vinarski opremi;
- njihovo število se zmanjša med alkoholno fermentacijo iz 10000 na 1 celico/ml zaradi občutljivosti na žveplov dioksid, kisline in etanola ter zopet naraste po koncu fermentacije,
- časovno poteka biološki razkis od nekaj dni do nekaj mesecev zaradi pomladanskega segrevanja kleti,
- uspešno rastejo tudi v kislih medijih, na primer *Oenococcus oeni* raste, če je pH vina nad 3,0,

- glavna reakcija v vinu je sprememba jabolčne kisline z dekarboksilacijo v piruvično, le-te pa z redukcijo v mlečno kislino,
- stehiometrično iz 1,0 g jabolčne kisline nastane 0,67 g mlečne kisline in 0,33 g ogljikovega dioksida, v praksi je izkoristek le približno 80%,
- posledično manjša kislost in večji pH izboljša razmere za rast drugih bakterij,
- kot vir energije minimalno uporabljajo tudi sladkorje, kot sta glukoza in fruktoza, kar vodi v nastanek manitola in očetne kisline,
- kot vir energije je pomembnejša citronska kislina, kar vodi v nastanek acetoina in diacetila,
- za uspešno rast potrebujejo kompleksno mešanico spojin (vitamini, aminokisline, purin, pirimidin),
- rastejo v prisotnosti ali odsotnosti kisika (Bavčar, 2006).

Posledici biološkega razkisa sta zmanjšanje koncentracije skupnih kislin in posledično povečanje pH. Povprečno se koncentracija skupnih kislin zmanjša za 1,0 do 3,0 g/L, pH pa naraste za 0,1 do 0,3. To je koristno za vina z veliko vsebnostjo kislin in majhnim pH, v nasprotnem primeru pa lahko povzroči tudi nezaželene spremembe. Ker MKB uporabljajo le jabolčno kislino, je ob velikih koncentracijah vinske kisline sprememba kislosti in pH manjša. Posledica spremembe pH je tudi delna izguba barve rdečih vin zaradi sprememb na antocianih in včasih sprememba tona barve v bolj modro vijolične odtenke (Bavčar, 2006).

2.2.2 Sprememba vonja in okusa

MKB tvorijo aromatične spojine, ki vinu opazno spremenijo karakter. V kolikor je ta sprememba zaželena, smo vinu dodali kompleksnost in dvignili kakovost. Zaradi razlik med delovanjem različnih MKB, vpliva temperature in pH, pa so končne spremembe včasih nepredvidljive. To še posebej velja, če biološki razkis poteka spontano, torej brez dodatka MKB. *Oenococcus oeni* se uporablja kot najbolj zanesljiv mikroorganizem v smislu minimalne tvorbe nezaželenih spojin. Na biološki razkis zelo vpliva tudi pH vina, ki mora biti vsaj 3,0. Kadar je pH pod 3,5 razkis vodijo *Oenococcus oeni*, pri večjem pH-ju pa sodelujejo tudi bakterije *Pediococcus* in *Lactobacillus*. Manjši pH upočasni potek procesa zaradi inhibitornega vpliva in povečane občutljivosti bakterij na alkohol, žveplov dioksid in na količino toksičnih maščobnih kislin. Večji pH povzroča večjo koncentracijo očetne kisline in manj nastalega diacetila. Pomembno vlogo pri biološkem razkisu igra tudi temperatura. Če so temperature pri biološkem razkisu nad 20 °C potem poteka pospešeno. Jabolčna kislina se najbolj uspešno porablja pri temperaturi med 20 in 25 °C. Rast MKB se upočasni pri temperaturi vina pod 15 °C, bakterije pa kljub temu preživijo v vinu nekaj mesecev in biološki razkis se lahko nadaljuje v toplejših pomladanskih mesecih (Bavčar, 2006).

Biološki razkis povzroči:

- tvorbo novih aromatičnih spojin;

- odstranjevanje obstoječih aromatičnih spojin zaradi metabolizma ali absorpcije na celično steno;
- metabolizem in spreminjanje obstoječih aromatičnih spojin v nove spojine z večjim vplivom na naše senzorične zaznave.

Zelo pomembno vlogo pri MKB ima žveplov dioksid, ki vpliva na zaustavitev rasti bakterij. Predvsem prosta molekularna oblika žveplovega dioksida deluje najbolj baktericidno. Vrednost pH odločilno vpliva na razpoložljive oblike žveplovega dioksida saj je ta parameter zelo pomemben za učinkovitost dodanega žveplovega dioksida. Zelo pomemben je tudi vpliv temperature zraka na občutljivost bakterij na žveplov dioksid. Prosti žveplov dioksid nad 25 mg/L po navadi prepreči rast MKB, pri skupnem žveplovem dioksidu pa je ta količina od 50 do 100 mg/L (Bavčar, 2006).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 SORTA 'MODRA FRANKINJA'

'Modra frankinja' spada po poreklu v skupino sort črnomskega bazena - *Proles pontica*. Vršiček mladike je rdečkast, gladek in svetlozelen, list pa velik in skoraj cel ali malo narezan in okroglast. Z gornje strani je list mehurjast, temno zelen in jeseni pordeči. Grozd je srednje velik do velik, valjaste oblike in precej nabit. Grozni pecelj je precej kratek in zelenkaste barve; jagoda je srednje velika, temno modra, precej oprášena in okroglaste oblike. Jagodna kožica je precej debela, temno rdečkasta, skoraj je črtkasta (Hrček in Korošec-Koruza, 1996). Ta sorta za rdeče vino se bolj ali manj zadovolji z vsemi legami, le prenizke ji ne ustrezajo. Tudi za tla ni občutljiva, ne sadimo je na težka tla s preveliko vlažnostjo, največ vina te vrste je v posavju, pojavlja se tudi na Goričkem in v Lendavskih gorica. Frankinja je sorazmerno občutljiva za deževno in hladnejše vreme ob cvetenju, kajti nagnjena je k osipanju. Ker razvije velik in dokaj nežen list, je ob začetka rastne dobe občutljiva na peronosporo (*Plasmopara viticola*). Za to sorto ustrezajo vse gojitvene oblike. Bolj ji ugajajo tiste, ki omogočajo tudi nekoliko krajšo rez. Ker je bujna sorta, jo ponavadi režejo na dolge šparone. Tej robustni sorti lahko uredimo tudi do 1,30 m visoko deblo. Če hočemo bolj kakovostno, dobro obarvano grozdje, jo režemo krajše in jo ne smemo preveč obremeniti. 'Modra frankinja' ima med vsemi našimi sortami največji list. Preveliko izhlapevanje vode skozi listje (transpiracijo) in zasenčenje ublažimo z vršičkanjem. Nekateri priporočajo vršičkanje pred cvetenjem, da bi tako preprečili osipanje. Vršičkanje in pletev zmanjšujeta nevarnost gnitja grozdja, ki je pri rdečih sortah nevarnejše (razkroj barvila) kot pri belih. To sorto močno gnojimo s hlevskim gnojem, z dušikom gnojimo previdno, saj je sorta robustna in je nagnjena k osipanju in gnitju. Zelo ji ugaja kalij. Sodi med naše bolj kakovostne sorte, ki dozorevajo srednje pozno na dobrih legah celo srednje zgodaj (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).



Slika 1 Sorta 'Modra frankinja' (Hrček in Korošec-Koruza, 1996)

'Modra frankinja' daje odlična rdeča vina, če grozdje doseže sladkorno stopnjo nad 85 °Oe. Jagodna kožica ima bogato fenolno sestavo (barvne in taninske snovi) in s strokovno vodeno maceracijo grozdja lahko pridelamo odlično mlado vino za takojšno porabo, oziroma krepka, intenzivno obarvana rdeča vina za daljše zorenje. Zdi se, da ta sorta ni postala dovolj svetovno odmevna, mogoče tudi zato, ker je nimajo Francozi. Sorta je osnova za PTP Metliška črnina, zastopana je tudi v PTP Cviček, 'rdečem bizeljčanu', 'virštanjčanu', 'konjičanu'. V Sloveniji je na trgu premalo zastopana kot sortno vino, da bi bila bolj uveljavljena in znana. Videz vina je intenzivne do globoke rubinaste rdeče barve, ki dolgo ohrani mladosten videz in šele po nekaj letih zorenja v steklenici opazimo spreminjanje videza - pojavijo se opečnati prameni. Vonj je sortno značilen blag, topel, v mladosti ima sadni značaj (robidnica, črna češnja, murva), v zrelosti (po zorenju v sodih) diši po praženi kavi, čokoladi, gozdni podrasti, začimbah (po črnem popru). Okus: na trgu srečamo bolj in manj obarvana oziroma bogata vina. V dobrih letnikih sorta prijetno preseneti s podobo in sestavo ter spominja celo na značaj sredozemskih vin. Bogata je s taninskimi snovmi, toda tudi s kislinami, zato je za doseg optimalnega razmerja med tanini in kislinami priporočljivo spodbuditi po končani alkoholni fermentaciji tudi jabolčno in mlečno kislino. Rezultati takega kletarjenja se obrestujejo in modra frankinja se šele takrat lahko pokaže v svojem pravem sijaju. 'Modra frankinja' potrebuje za celovit razvoj zorenje v velikem sodu. Vina dolge maceracije, dovolj bogata z ekstraktom in tanini, so se dokazala tudi v barikih. Izkušnje kažejo, da je odlična modra frankinja po treh letih zorenja vina še vedno v vzponu. Idealna zrelost in značaj arhivskega vina se pokažeta približno po štirih do petih letih mirovanja v steklenici - odvisno od letnika (Nemanič, 1996).

3.2 POSKUSNI VINOGRAD



Slika 2 Dolenjski vinorodni okoliš (Marjetič, 1994)



Slika 3 Dolenjski vinograd (Kerber, 1994)

Povprečni dolenjski vinograd je velik 0,23 ha. Sorte vinske trte, ki se smejo saditi v dolenjskem vinorodnem okolišu (Pravilnik o sortah, ki se smejo saditi..., 1977). Rdeče sorte ki uspevajo na dolenjskem so: 'Modra frankinja', 'Žametna črnina', 'Modri pinot', 'Portugalka', 'Šentlovrenka', 'Gamay', 'Zweigelt', od belih sort pa 'Laški rizling', 'Renski rizling', 'Beli pinot', 'Chardonnay', 'Zeleni silvanec', 'Sauvignon', 'Kraljevina' ('Rdeča kraljevina'), 'Ranina', 'Rumeni plavec', 'Žlahtnina' in 'Kerner'. Cviček je najznamenitejše dolenjsko vino, ki je lahko, izrazito sadno rdečkasto vino, z izraženo prijetno kislostjo, majhno vsebnostjo alkohola, od 7,5 do 10 vol.%. Cviček je pojem slovenskega nacionalnega vina in spada v slovensko zakladnico Rdeče sorte ki uspevajo na dolenjskem so 'Modra frankinja', 'Žametna črnina', 'Modri pinot', 'Portugalka', 'Šentlovrenka', 'Gamay', 'Zweigelt', od belih sort pa 'Laški rizling', 'Renski rizling', 'Beli pinot', 'Chardonnay', 'Zeleni silvanec', 'Sauvignon', 'Kraljevina' ('Rdeča kraljevina'), 'Ranina', 'Rumeni plavec', 'Žlahtnina' in 'Kerner'. (Marjetič, 1994) Za vinorodni okoliš Dolenjska je značilen cviček, ki je zaščiten z geografskim poreklom in ima oznako (PTP), priznana tradicionalno poimenovanje (Pravilnik o vinu cviček...,2000)

3.3 ZASNOVA POSKUSA

Poskus biološkega razkisa smo izvedli na grozdju sorte 'Modra frankinja', ki je bilo pridelano v vinorodnem okolišu Dolenjska. Poskus smo izvedli na Biotehniški fakulteti na Oddelku za živilstvo v tehnološkem laboratoriju. Grozdje sorte 'Modra frankinja' smo najprej specljali in zdrozgali na pecljalniku in drozgalniku znamke AMOS 1. Nato smo drozgi dodali kvasovke CM za rdeča vina v količini 20 g/hL in hrano za kvasovke OPTI-RED in drozgo segreli do temperature 25 °C. Sledilo je sedem dnevno alkoholno vrenje - maceracija pri 25 °C v vinifikatorju. Po končanem alkoholnem vrenju v vinifikatorju je sledilo stiskanje drozge na pnevmatični stiskalnici firme WILLNUS. Nato smo mlado vino glede na zasnovu poskusov razdelili v 10 L posode z vrelnimi vehami, kjer je poteklo še tiho alkoholno vrenje. V prvi posodi smo imeli spontan biološki razkis v dveh ponovitvah 1b in 1c, ki smo ga žveplali z 2,5 g K₂S₂O₅ na hL vina. V posodi številka 2 smo imeli

voden biološki razkis v dveh ponovitvah 2b in 2c, v katerega smo dali bakterije *Oenococcus oeni* firme LALLEMAND. Vzorce vodenega biološkega razkisa smo predhodno žveplali z 2,5g $K_2S_2O_5$ na hL. V posodi številka 3 smo imeli kontrolo z dvema ponovitvama 3b in 3c, katere niso bile izpostavljene biološkemu razkisu. Vzorce kontrole smo žveplali z 10 g $K_2S_2O_5$ na hL. Vzorce spontanega in vodenega biološkega razkisa smo imeli v hladilnici na temperaturi 17 °C, vzorec kontrole pa smo hranili pri 7 °C. Pri poskusu nas je zanimal predvsem vpliv temperature na potek biološkega razkisa in vpliv bakterij na senzorično kakovost vina. Naredili smo osnovne kemijske analize mladega vina. Biološki razkis smo spremljali tedensko s kemijskimi analizami oziroma meritvami vrednost pH in titrabilnih kislin ter s papirno kromatografijo vsebnost mlečne, jabolčne in vinske kisline. Po 21 dneh, ko je spontan in voden biološki razkis praktično potekel smo opravili še zaključne kemijske analize vina.

Preglednica 1: Obravnavanja vina modra frankinja in pripisane oznake poskusa

Oznaka	Obravnavanje
s	spontan biološki razkis
v	voden biološki razkis
k	Kontrola

3.4 METODE DE LA

Analize smo opravili na Oddelku za živilstvo, Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Kemijske analize smo opravili v mladem vinu pred začetkom biološkega razkisa, med postopkom biološkega razkisa in po končanem biološkem razkisu. V mladem vinu pred začetkom biološkega razkisa smo opravili naslednje analize:

- vrednost pH,
- vsebnost skupnih (titrabilnih) kislin,
- vsebnost alkohola,
- vsebnost skupnega in prostega žvepla,
- vsebnost skupnih fenolov,
- analize barvnih parametrov,
- vsebnost hlapnih kislin,
- preostanek sladkorja.

Biološki razkis smo spremljali tedensko z analizami vrednosti pH, skupnih titrabilnih kislin in z papirno kromatografijo kjer smo spremljali vsebnost (mlečne, jabolčne in vinske kisline). Po končanem biološkem razkisu smo v vzorcih opravili naslednje analize:

- vrednost pH,
- vsebnost skupnih (titrabilnih) kislin,
- vsebnost alkohola,
- vsebnost hlapnih kislin,

- vsebnost skupnih fenolov,
- vsebnost skupnega in prostega žvepla,
- analize barvnih parametrov.



Slika 4 Ročni in digitalni refraktometer (Bavčar, 2006).



Slika 5 Vinifikator, kjer je potekala maceracija drozge modre frankinje (oktober 2009, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo)

3.4.1 Kemijske analize vina

3.4.1.1 Določanje vrednosti pH

Merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni v vzorec vina. Referenčna elektroda ima stalen potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Najbolj pogosto uporabljamo kombinirano stekleno elektrodo (merilna in referenčna elektroda v enem kosu); čutilo pa hranimo v destilirani vodi. Uporabljamo pH meter s skalo v pH enotah. Točnost meritve aparata mora biti najmanj 0,05 pH enot. Pri tem moramo paziti na stalen nivo elektrolita v elektrodi in na čistost čutila (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.2 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin

Metoda temelji na potenciometrični titraciji skupnih kislin z močno 0,1 M Na OH do končne točke pH 7,0 kot jo definira Mednarodni urad za trto in vino (O.I.V.) oziroma do končne točke pH 8,2 kot jo definira AOAC (The Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists). Uporabili smo pH znamke Mettler Toledo

DL 50 graphix, na katerem smo izvedli dvotočkovno titracijo, in sicer za pH 7,0 in pH 8,2 (Košmerl in Kač, 2007).

Masno koncentracijo skupnih titrabilnih kislin, izraženo v g vinske kisline/L izračunamo po naslednji formuli:

$$TK(g/L) = \frac{a \cdot c \cdot M}{v \cdot 2} \quad \dots(1)$$

a... poraba titranta

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

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

v... volumen vzorca (25 mL)

2... molsko razmerje kemijske reakcije med NaOH in vinsko kislino.

3.4.1.3 Določanje relativne gostote, skupnega ekstrakta in alkohola

Relativna gostota je razmerje med gostoto mošta ali vina pri 20 °C in gostoto vode pri isti temperaturi, če ne je obvezna temperaturna korekcija.

Skupni suhi ekstrakt vina sestavljajo po definiciji O.I.V. pri 100 °C nehlapne komponente vina (sladkorji, kisline, organske soli). Ekstrakt brez sladkorja je po definiciji razlika med (skupnim) ekstraktom in reducirajočimi sladkorji. Alkohol v vinu je etanol, ki nastane kot glavni produkt alkoholne fermentacije s kvasovkami iz glukoze in fruktoze v moštu.

Vse navedene meritve smo opravili na aparaturi znamke Mettler Toledo DE 45 Density meter, kjer smo odčitali relativno gostoto vzorca in alkoholnega destilata ter vsebnost alkohola.

Relativno gostoto skupnega ekstrakta izračunamo po AOAC s pomočjo Tabariejevega obrazca:

$$d_{SE} = d_V - d_A + 1,0000 \quad \dots(2)$$

d_V ... relativna gostota vzorca vina

d_A ... relativna gostota alkoholnega destilata

Na podlagi znane relativne gostote skupnega ekstrakta vina (d_{SE}) odčitamo masno koncentracijo skupnega ekstrakta v vinu (g skupnega ekstrakta/L vina) (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.4 Določanje reducirajočih sladkorjev po Rebeleinu

Prevladujoča sladkorja v grozdju, moštu in vinu sta glukoza in fruktoza, manj je saharoze in ostalih sladkorjev. Vsebnost sladkorja v dozorevajočem grozdju je pomemben dejavnik pri določanju časa trgatve in kakovosti pridelka. Popolnoma suha vina vsebujejo približno 1 g/L reducirajočih sladkorjev. Oksidacija je odvisna od uporabljenega reagenta in od razmer oksidacije. S segrevanjem do vrenja poteče v reakcijski zmesi oksidacija reducirajočih sladkorjev v kisline, dvovalentni bakrovi ioni iz reakcijske zmesi pa se reducirajo do bakrovega (I) oksida. Iz raztopine se izloči oborina ne topljenega bakrovega (I) oksida (Cu_2O). Preostali Cu^{2+} ioni se v raztopini kalijevega jodida v kislem (dodatek žveplove VI kisline) reducirajo, nastali jod pa trimetrično določimo z raztopino natrijevega tiosulfata s škrobovnicco kot indikatorjem (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.5 Določanje žveplovega dioksida v vinu po Ripperju

V vinarstvu uporabljamo žveplo kot 5-6 % vodno raztopino SO_2 ali kot kalijev metabisulfid zaradi antioksidativnega in antimikrobnega delovanja. Med alkoholno fermentacijo se del SO_2 oksidira v sulfat (SO_4^{2-} (IV)) zaradi oksidativnega delovanja peroksida. Določanje prostega in skupnega žveplovega dioksida po Ripperjevi metodi temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda. Za določitev koncentracije prostega SO_2 vzorec vina najprej nakisamo z dodatkom žveplove kisline, dodamo indikator in titriramo s standardizirano raztopino joda. Jod oksidira žveplovego kisline (IV) v žveplovego (VI) kisline in v končni točki titracije pribitna količina joda obarva raztopino modro. Za določitev koncentracije skupnega SO_2 pa vzorcu vina najprej dodamo 1 M raztopino NaOH, da dosežemo hidrolizo vezanega SO_2 in drugih bisulfitnih kompleksov. Sledi dodatek ostalih reagentov in jodometrična titracija, kot pri določanju prostega SO_2 .

Koncentracijo prostega SO_2 izračunamo po naslednji formuli:

$$C_{\text{SO}_2}(\text{mg/l}) = \frac{a \cdot c \cdot M \cdot 1000}{v \cdot n} \quad \dots(3)$$

a – volumen standardizirane raztopine joda (ml)

c – koncentracija joda (0,01 M)

M – molska masa SO_2 (64 g/mol)

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

v – volumen vzorca (25 mL)

Koncentracijo skupnega SO_2 (mg/L) izračunamo na enak način kot koncentracijo prostega SO_2 (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.6 Določanje hlapnih kislin

Hlapne kisline v vinu so predvsem mravljična, očetna in butanojska kislina. Te določamo titrimetrično v destilatu vina, poteka tako, da v destilat ne preidejo mlečna, jantarna ali sorbinska kislina, niti CO₂ ali žvepova (IV) kislina. Mlada vina vsebujejo manj hlapnih kislin kot stara. Manjše količine hlapnih kislin (do 0,3 g/L očetne kisline) nastajajo kot stranski produkt med čisto alkoholno fermentacijo vina s kvasovkami. Napaka in bolezen vina sta lahko senzorično v vonju zaznavna že pri koncentraciji okoli 0,6-0,9 g očetne kisline na liter vina. Po destilaciji vzorca z vodno paro sledi titracija destilata s standardizirano vodno raztopino NaOH. Rezultat izrazimo kot očetno kislino (g/L).

Koncentracijo hlapnih kislin, izraženo kot masno koncentracijo očetne kisline (g/L), izračunamo po naslednji formuli (Košmerl in Kač, 2007):

$$HK(g/L) = a \cdot c \cdot M \cdot \left(\frac{50}{1000} \right) \quad \dots(4)$$

HK – koncentracija hlapnih kislin, izražena kot očetna kislina (g/L)

a – poraba titranta (mL)

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

50 – razredčitveni faktor

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

3.4.1.7 Določanje fenolnih spojin v vinu po Singletonu in Rossiju

Fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo UV spektra in vidnega spektra. Zato lahko odčitamo vrednost absorbance pri primerni valovni dolžini uporabimo za oceno koncentracije skupnih fenolov, skupnih antocianov, obarvanih antocianov, deleža antocianinov v obarvani obliki, skupnih hidroksicimetnih kislin in ekvivalenta kavne kisline. Za določanje koncentracije skupnih fenolnih snovi dodamo v vino Folin-Ciocalteujev reagent, ki v alkalni raztopini (dodatek natrijevega karbonata) oksidira fenolne snovi. Reagent Folin-Ciocalteu je vodna raztopina natrijevega volframata (VI), natrijevega molibdata (VI) in litijevega sulfata (VI); slednji prepreči obarjanje Folin-Ciocalteuvega reagenta. Zelo pomemben pa je tudi dodatek natrijevega karbonata za alkalnost reakcijske zmesi. Redukcija volframa (VI) in molibdata (VI) poteče le v prisotnosti fenolatnega aniona. Raztopina, ki vsebuje reducirani obliki volframata (VI) in/ali molibdata (VI), je modro obarvana, raztopina nereducirane oblike pa je rumene barve. Absorbanco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm. Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin odčitamo iz umeritvene krivulje in rezultat izrazimo kot mg galne kisline/L. Galno kislino uporabimo kot standardno referenčno spojino za določanje skupnih fenolnih spojin (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.8 Določanje barve vina

V praksi obarvanost belih vin merimo direktno (brez razredčitve) s spektrofotometrom; merimo absorbanco vzorca pri valovni dolžini 420 nm. V širšem spektru svetlobe od 400-440 nm lahko izmerimo tudi odtenke rjave barve belih vin. Z merjenjem absorbanco pri valovnih dolžinah 420 nm, 520 nm, in 620 nm pa določamo barvo rdečih vin, ki jih moramo predhodno ustrezno razredčiti; običajno v razmerju 1:10. Vsota absorbanco predstavlja intenziteto barve, medtem, ko razmerje absorbanco pri 420 nm in 520 nm pomeni odtenek barve. Razredčitev prilagodimo barvi rdečega vina (rdečkasta vina lahko npr. razredčujemo tudi v manjšem razmerju, 1:2 ali 1:4). Za redčenje uporabimo pufrno raztopino, katere pH je čim bolj enak pH analiziranega vzorca vina (Košmerl in Kač, 2007).

Izračun osnovnih barvnih parametrov:

intenziteta barve (bela vina);

$$I = A_{420} \quad \dots(5)$$

intenziteta barve (rdeča vina);

$$I = \sum (A_{420} + A_{520} + A_{620}) \quad \dots(6)$$

Pri podajanju končnega rezultata ne smemo pozabiti na razredčitev vzorca!

Ton barve:

$$ton = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad \dots(7)$$

Delež (%) rdeče barve, tj. prostih in vezanih antocianinov v obliki flavilijevega kationa:

$$dA_F (\%) = \left(A_{520} - \frac{(A_{420} + A_{620})}{2} \right) \cdot \frac{1}{A_{520}} \cdot 100 \quad \dots(8)$$

Delež (%) rdeče barve pri posamezni valovni dolžini:

$$\text{pri 420 nm: } dA_{420} (\%) = \left(\frac{A_{420}}{I} \right) \cdot 100 \quad \dots(9)$$

$$\text{pri 520 nm: } dA_{520} (\%) = \left(\frac{A_{520}}{I} \right) \cdot 100 \quad \dots(10)$$

$$\text{pri 620 nm: } dA_{620} (\%) = \left(\frac{A_{620}}{I} \right) \cdot 100 \quad \dots(11)$$

3.4.1.9 Določanje vsebnosti jabolčne, mlečne in vinske kisline s papirno kromatografijo

S papirno kromatografijo smo spremljali potek jabolčne, vinske in mlečne kisline v vzorcu vina, ko je biološki razkis že praktično potekel. Za potek papirne kromatografije smo najprej morali narediti raztopino za razvijanje tako, da smo zmešali dva dela pripravljene raztopine 1-butanola in en del raztopine očetne kisline (1:1). To raztopino vlijemo v posodo za razvijanje in pustimo stati 30-45 minut. Pripravimo tudi standarde za jabolčno, mlečno in vinsko kislino. Za jabolčno in vinsko kislino zatehtamo 500 mg v 50 mL bučko in dopolnimo do oznake. Za mlečno kislino pa odpipetiramo 0,5 mL v 50 mL bučko in napolnimo do oznake. Za izvedbo poskusa papirne kromatografije potrebujemo kromatografski papir, ki ima natančno 13 cm višine. Nato s stekleno kapilaro nanašamo standarde in vzorce 2 cm od spodnjega roba in z 3 cm presledka z vedno enakim volumnom. Zato moramo preden nanašamo vzorce z ravnilom natančno izmeriti predpisane razdalje in jih označiti z navadnim svinčnikom. Standardi si sledijo v zaporedju jabolčna, vinska in mlečna kislina. Pri vsakem nanosu kapilaro izperemo, očistimo. Po končanem nanašanju vzorce posušimo z sušilnikom in kromatografski papir prenesemo v posodo za razvijanje. Razvijanje je končano, ko topilo doseže 1,5 cm do vrha zgornjega roba kromatografskega papirja. Nato kromatografski papir osušimo v digestoriju na zraku ter ga pustimo, da se razvijejo piki rumene barve na modri podlagi (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.2 Obrazec za ocenjevanje pridelkov in proizvodov

Preučevane vzorce vin smo senzorično ocenili na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Ocenjevalci so ocenjevali tri v poskus zajete vzorce vina modre frankinje. Prvi vzorec je predstavljal vino s spontanim biološkim razkisolom. Drugi vzorec z vodenim biološkim razkisolom. Tretji vzorec pa je služil kot kontrola, brez biološkega razkisa. Vzorce so bili ocenjeni po 20-točkovni Buxbaumovi metodi.

3.5 STATISTIČNA OBDELAVA

Podatke smo obdelali z operacijskim programom Microsoft Excel.

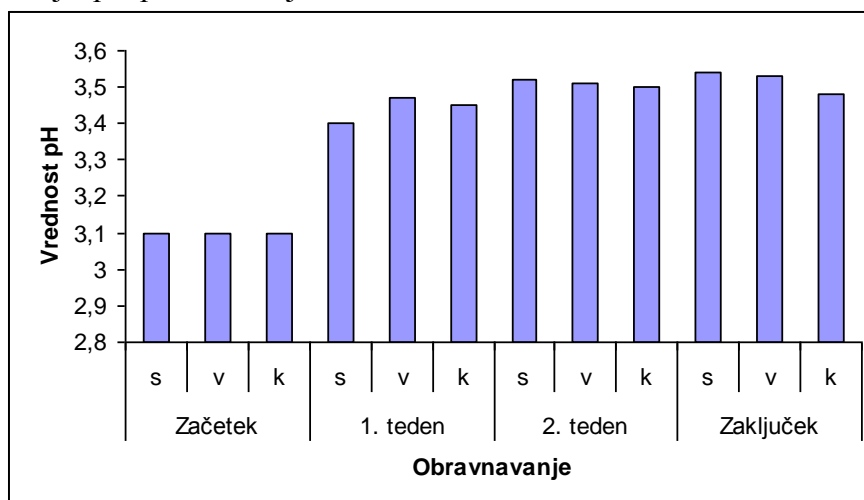
4 REZULTATI

4.1 REZULTATI KEMIJSKIH ANALIZ VINA

Mlado vino je na začetku, pred nastavitvijo poskusa, vsebovalo 32,3 mg/L skupnega žveplovega dioksida in 9,5 g/L nepovretega sladkorja.

4.1.1 Vrednost pH

Vino, ki ima večjo vrednost pH ima manj izraženo kislino kot vino z manjšim pH, saj manjši pH pomeni večjo kislost vina.

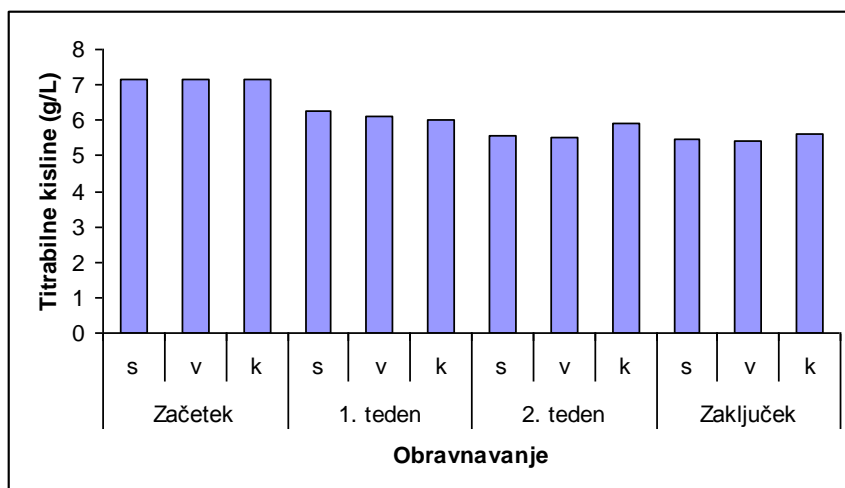


Slika 6 Vrednost pH glede na obravnavanje pri vinu modra frankinja leta 2009

Na sliki 6 je razvidno naraščanje vrednosti pH v vzorcih vina modra frankinja takoj, ko začne potekati biološki razkis. Pred začetkom biološkega razkisa so vrednosti pH v vseh vzorcih 3,10. V prvem tednu, ko je začel potekati biološki razkis, je bila vrednost pH v vzorcu vina s spontanem biološkim razkisom 3,40. Drugi vzorec je predstavljal voden biološki razkis in je imel vrednost pH 3,47. Tretji vzorec, ki je služil kot kontrola je imel vrednost pH 3,45. Drugi teden biološkega razkisa so vrednosti pH v spontanem in vodenem biološkem razkisu povečale za 0,10. V vzorcu, ki je služil kot kontrola je v primerjavi z prvim tednom pH povečale za 0,10. Ob zaključku biološkega razkisa so vrednosti pH pri spontanem in vodenem biološkem razkisu malenkost narasle. Pri vzorcu, ki je služil kot kontrola, pa je pH ostal praktično nespremenjen.

4.1.2 Titrabilne kisline

Pred začetkom poskusa je bila vsebnost titrabilnih kislin 7,0 g/L.

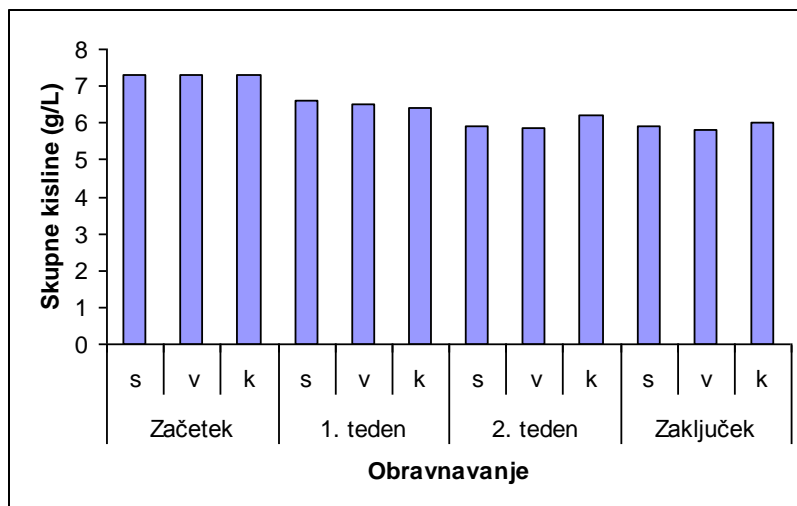


Slika 7 Vsebnost titrabilnih kislin (g/L) v vinu modra frankinja glede na obravnavanje leta 2009

Na sliki 7 je razvidno, kako so se vsebnosti titrabilnih kislin zmanjšale in se na koncu poskusa ustalile pri približno 5,50 g/L. Po koncu prvega tedna se je vsebnost titrabilnih kislin pri spontanem biološkem razkisu v primerjavi z začetkom biološkega razkisa zmanjšala za 0,80 g/L. V vzorcu z vodenim biološkim razkisu se je vsebnost titrabilnih kislin zmanjšala za 0,90 g/L. Vzorcju kontrole se je vsebnost titrabilnih kislin zmanjšala za 1,0 g/L. Ob koncu drugega tedna se je vsebnost titrabilnih kislin pri spontanem biološkem razkisu v primerjavi s prvim tednom biološkega razkisa zmanjšala za 0,80 g/L, pri vodenemu biološkemu razkisu pa za 0,70 g/L. Vzorcju, ki je služil kot kontrola se vsebnost titrabilnih kislin ni spremenila. Po končanem biološkem razkisu je vsebnost titrabilnih kislin pri spontanem in vodenem biološkem razkisu ostala enaka, oziroma se je pri obeh vzorcih zmanjšala za 1,60 g/L od začetne vrednosti. Vzorcju, ki je predstavljal kontrolo pa se je vsebnost titrabilnih kislin zmanjšala za 1,50 g/L od začetne vrednosti.

4.1.3 Skupne kisline

Na sliki 8 je razvidno zmanjšanje vsebnosti skupnih kislin merjenih do pH 8,2 skozi celoten poskus.

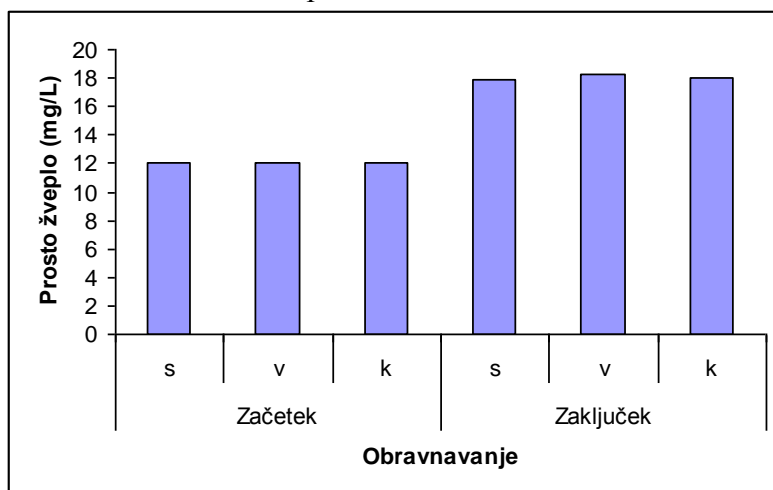


Slika 8 Vsebnost skupnih kislin v odvisnosti od trajanja biološkega razkisa v vinu modra frankinja

Pred začetkom poskusa so bile vsebnosti skupnih kislin merjenih do pH 8,2 v vinu 7,30 g/L. Po koncu prvega tedna biološkega razkisa se je vsebnost skupnih kislin pri spontanem biološkem razkisu zmanjšala za 0,70 g/L. Pri vodenem biološkem razkisu pa je vsebnost skupnih kislin zmanjšala za 0,80 g/L. Vzorcju, ki je predstavljal kontrolo pa se je vsebnost skupnih kislin zmanjšala za 0,70 g/L. Ob koncu drugega tedna biološkega razkisa se je vsebnost skupnih kislin pri spontanem biološkem razkisu v primerjavi z preteklim tednom zmanjšala za 0,50 g/L. Pri vodenem biološkem razkisu pa se je vsebnost skupnih kislin v primerjavi z preteklim tednom zmanjšala za 0,70 g/L. V vzorcju, ki je predstavljal kontrolo, se je vsebnost skupnih kislin v primerjavi z preteklim tednom zmanjšala za 0,20 g/L. Po končanem biološkem razkisu sta vzorca spontanega in vodenega biološkega razkisa imela enako vsebnost skupnih kislin, v primerjavi s preteklim tednom. Vzorcju kontrole pa se je vsebnost skupnih kislin zmanjšala za 0,10 g/L v primerjavi s preteklim tednom. Vzorec spontanega biološkega razkisa je imel po zaključku razkisa vrednost skupnih kislin 6,10 g/L, vzorec vodenega biološkega razkisa 5,80 g/L in kontrolni vzorec 6,30 g/L.

4.1.4 Prosto žveplo

Začetna vsebnost prostega žvepla je bila v vseh vzorcih vina modra frankinja enaka zato, ker vzorce še nismo žveplali.

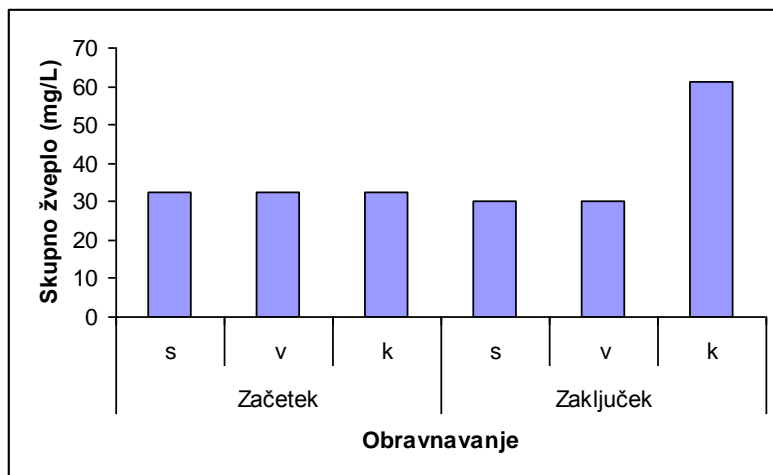


Slika 9 Vsebnost prostega žvepla v (mg/L) pred začetkom in po končanem biološkem razkisu v vzorcu vina modra frankinja

Na sliki. 9 je prikazana vsebnost prostega žvepla pred nastavitvijo poskusa v mladem vinu, ki je bila 12 mg/L. Po končanem poskusu se je vsebnost prostega žvepla ustalila pri 18 mg/L pri vseh proučevanih vzorcih. To pomeni, da se je vsebnost prostega žvepla v vseh vzorcih vina modra frankinja povečala za 6 mg/L. Do povečanja vsebnosti prostega žvepla v vzorcih je prišlo zaradi žveplanja vzorcev.

4.1.5 Skupno žveplo

Na sliki 10 je razvidna vsebnost skupnega žvepla pred začetkom spontanega in vodenega biološkega razkisa, ki je v vseh vzorcih enaka in sicer 32 mg/L.



Slika 10 Vsebnost skupnega žvepla v (mg/L) pred začetkom in po končanem biološkem razkisu v vzorcu vina modra frankinja

Po končanem biološkem razkisu se vsebnost skupnega žvepla malenkost zmanjša, in sicer na 30 mg/L. Večja vsebnost skupnega žvepla 60 mg/L je bila izmerjena pri vzorcu vina, ki je služil kot kontrola. Do tako velikega odstopanja med vzorcema z biološkim razkiso in kontrolo je prišlo, zaradi žveplanja kontrole z 10 g $K_2S_2O_5$ na hL, da smo preprečili biološki razkis.

4.1.6 Barva vina

4.1.6.1 Ton barve

Lepši odtenek barve pomeni večjo transparentnost vina (Bavčar, 2006).

Preglednica 2: Ton barve vina modra frankinja v odvisnosti od absorbance pri različnih valovnih dolžinah

		Absorbance pri različnih valovnih dolžinah (nm)			Ton barve
		620	520	420	
Biološki razkis	s	0,082	0,356	0,260	0,730
	v	0,092	0,380	0,283	0,744
	k	0,079	0,349	0,245	0,702

Največjo absorbanco tona barve smo izmerili pri vzorcu vodenega biološkega razkisa katere vrednost je bila 0,744. Nekoliko manjšo vsebnost tona barve je bila pri vzorcu spontanega biološkega razkisa 0,730. Najmanjšo vsebnost tona barve pa je imel kontrolni vzorec 0,702.

4.1.6.2 Intenziteta barve

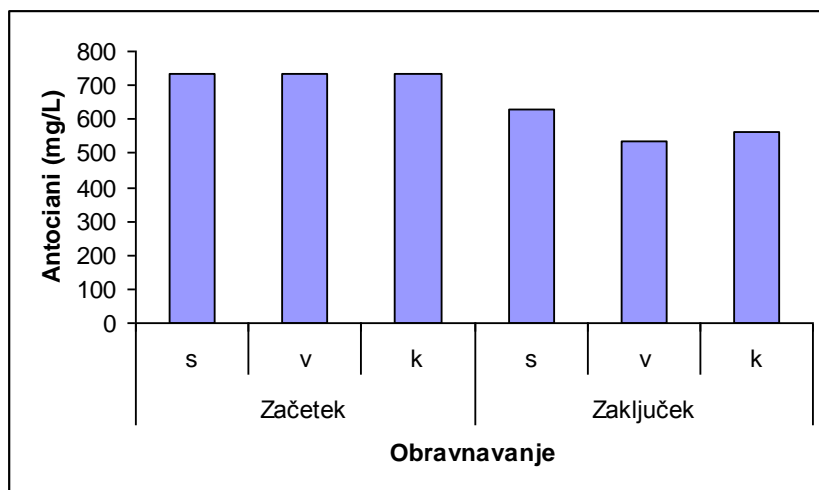
Povprečno največjo intenziteto barve vina modre frankinje smo izračunali pri vzorcu vina z vodenim biološkim razkiso v vrednosti 7,55 nekoliko manjšo intenziteto barve pa pri vzorcu spontanega biološkega razkisa 6,98, najmanjšo intenziteto barve pa je predstavljal kontrolni vzorec, in sicer 6,73.

Preglednica 3: Intenziteta barve vina modra frankinja v odvisnosti od absorbance pri različnih valovnih dolžinah

		Absorbance pri različnih valovnih dolžinah (nm)			Intenziteta barve
		620	520	420	
Biološki razkis	s	0,082	0,356	0,260	6,98
	v	0,092	0,380	0,283	7,55
	k	0,079	0,349	0,245	6,73

4.1.7 Antociani

Vsebnost fenolnih spojin v grozdju in vinu je odvisna od številnih dejavnikov, med katerimi je sorta najpomembnejša (Rusjan in sod., 2007). Med pomembnejšimi fenolnimi snovmi pri rdečih sortah so antociani, ki dajejo grozdju in vinu rdečo barvo (Adams, 2006).



Slika 11 Vsebnost antocianov (mg/L) pred začetkom in po končanem biološkem razkisu v vzorcu vina modra frankinja

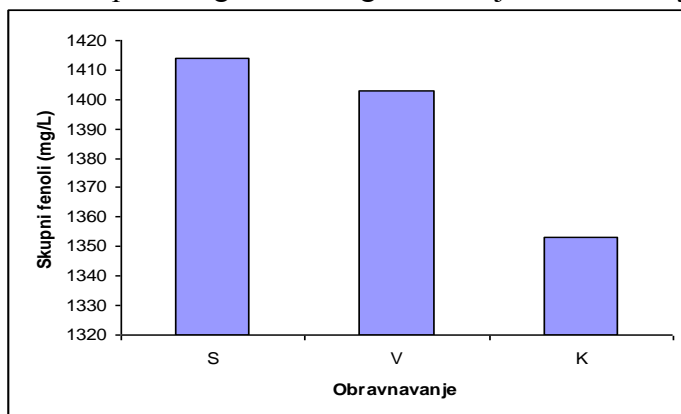
Na sliki 11 je razvidno, da je bila vsebnost antocianov pred začetkom biološkega razkisa 700 mg/L pri vseh proučevanih vzorcih.

Po končanem biološkem razkisu je prišlo do zmanjšanja vsebnosti antocianov, in sicer pri spontanem biološkem razkisu je bila vsebnost antocianov 640 mg/L, pri vzorcu z vodenim

biološkim razkisom pa 510 mg/L. Vzorec, ki je predstavljal kontrolo je imel ob koncu poskusa vsebnost antocianov 540 mg/L.

4.1.8 Skupni fenoli

Vzorec spontanega biološkega razkisa je vseboval največjo koncentracijo skupnih fenolov.

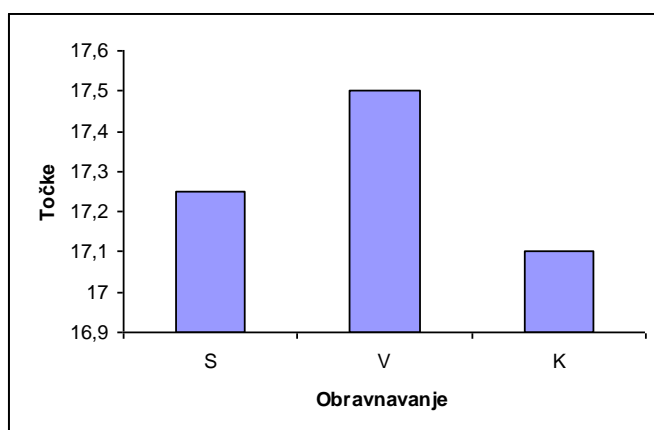


Slika 12 Vsebnost skupnih fenolov (mg/L) vinu modra frankinja glede na obravnavanje leta 2009

Vsebnost je bila 1414 mg/L. Vzorec pridelan z vodenim biološkim razkisom je imel nekoliko manjšo vsebnost fenolov, 1403 mg/L. Najmanjšo vsebnost je imel vzorec kontrole, le 1353 mg/L.

4.1.9 Senzorična ocena

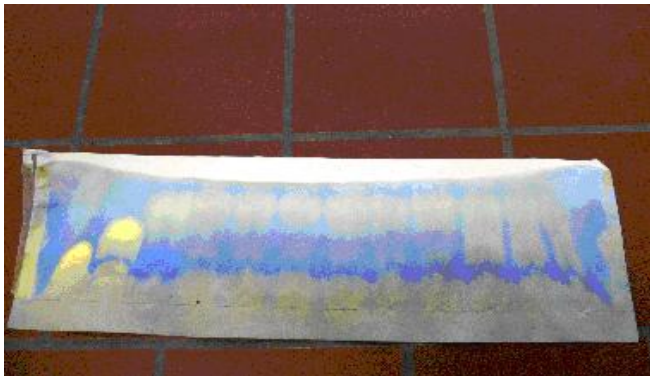
Ocenjevanje vzorcev smo izvedli na Kmetijskem inštitutu Slovenije po 20-točkovni Buxbaumovi metodi.



Slika 13 Dosežene točke organoleptične ocene vina modra frankinja glede na obravnavanje leta 2009

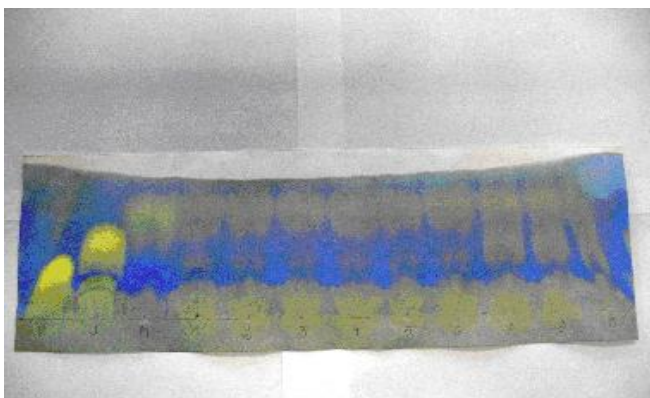
Najbolje je bil ocenjen vzorec vodenega biološkega razkisa z oceno 17,50. Nekoliko slabše je bil ocenjen vzorec spontanega biološkega razkisa in sicer 17,25, najslabšo oceno je dobil kontrolni vzorec 17,10.

4.2 REZULTATI SPREMLJANJA BIOLOŠKEGA RAZKISA S PAPIRNO KROMATOGRFIJO



Slika 14 Kromatogram organskih kislin po drugem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu modra frankinja.

Slika 14 prikazuje rezultate po drugem tednu spremljanja biološkega razkisa v vzorcih vin. Prvi trije piki so standardne organske kisline, in sicer vinska, jabolčna in mlečna kislina, nato pa si sledijo vzorci vina modre frankinje v naslednjem vrstnem redu mesta 4, 5 in 6 so ponovitve spontanega biološkega razkisa. Mesta 7, 8 in 9 so ponovitve vodenega biološkega razkisa, medtem ko na zadnjih treh mestih (10, 11 in 12) so vina kontrole. Na kromatografskem papirju se lepo vidi kako narašča vsebnost mlečne kisline in, kako se hkrati zmanjšuje vsebnost jabolčne kisline pri vzorcih vina spontanega in vodenega biološkega razkisa. Pri vzorcu kontrole so opazni piki jabolčne kisline ob koncu poskusa, kar pomeni, da biološki razkis ni potekel.



Slika 15 Kromatogram organskih kislin po tretjem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu modra frankinja

Slika 15 prikazuje rezultate po tretjem tednu spremljanja biološkega razkisa v vzorcih vina modra frankinja. Zaporedje vzorcev je enako kot na sliki 14. Na sliki 15 je razvidna pretvorba jabolčne v mlečno kislino, pri vzorcu spontanega in vzorcu vodenega biološkega razkisa. Samo pri vzorcu vina, ki je služil kot kontrola se jabolčna kislina ni pretvorila v mlečno, ampak je ostala enaka, kot na začetku poskusa.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Za biološki razkis smo se odločili, da bi ugotovili, če ima sploh kakšen vpliv na kakovost vina modra frankinja. Zato smo vino razdelili na tri različne vzorce, ki smo jih kemijsko analizirali in prišli do končnih ugotovitev. Ugotovili smo, da biološki razkis vpliva na boljšo kakovost vina kot vina, ki niso biološko razkisana.

Vrednost pH se med potekom biološkega razkisa povečuje. Pred začetkom poskusa je bila pH vrednost v vseh vzorcih 3,10. Po končanem prvem tednu, ko smo na vzorcih vina modra frankinja izvedli biološki razkis, pa je prišlo do občutnega povečanja pH. Vzorec s spontanim biološkim razkisom je imel pH 3,40, kar pomeni, da se je pH v času trajanja biološkega razkisa povečal za 0,30. Pri drugem vzorcu vina modra frankinja po vodenem biološkem razkisu se je v primerjavi z začetnim pH le-ta povečal za 0,37. Pri kontrolnem vinu se je pH povečal za 0,35. Po končanem biološkem razkisu se je pH ustalil pri 3,50 pri vseh proučevanih vzorcih vina. Pri vzorcih vina, pridelanih s spontanim in vodenim biološkim razkisom se je pH povečal zaradi pretvorbe jabolčne v mlečno kislino, pri vzorcu kontrole pa zaradi izločanja vinskega kamna, ki je bilo pospešeno pri hranjenju tega vzorca pri 7 °C. Končni rezultati so primerljivi s podatki, ki jih navaja Ambrožič (2006) pri spremljanju hlapnih komponent vina modra frankinja.

Pred nastavitvijo poskusa je bila koncentracija titrabilnih kislin v vinu modra frankinja 7,0 g/L. Po končanem prvem tednu biološkega razkisa je prišlo do zmanjšanja koncentracije pri spontanem in vodenem biološkem razkisu, kot tudi pri kontroli, in sicer za 0,9 g/L. Po končanem drugem tednu biološkega razkisa se je koncentracija titrabilnih kislin pri vseh vzorcih vina v primerjavi s preteklim tednom zmanjšala še za 0,20 g/L. Pri vzorcih vina pridelanih s spontanim in vodenim biološkim razkisom je prišlo do zmanjšanja titrabilnih kislin zaradi pretvorbe jabolčne v milejšo mlečno kislino, pri vzorcu kontrole pa zaradi pretvorbe vinske kisline v tartrate (Košmerl in Kač, 2007). Končni rezultati koncentracije titrabilnih kislin letnika 2009 so primerljivi s podatki, ki jih navaja Šuklje (2009) pri vinu modra frankinja pridelanega iz redčenega grozdja.

Po končanem prvem tednu biološkega razkisa se je vsebnost koncentracije titrabilnih kislin zmanjšala v povprečju za 0,70 g/L pri spontanem in vodenem biološkem razkisu. Pri vzorcu, ki je služil kot kontrola pa se je vsebnost koncentracije skupnih kislin zmanjšala celo za 0,90 g/L. Po končanem drugem tednu biološkega razkisa se je vsebnost koncentracije skupnih kislin v vzorcu vina v katerem smo opravili spontan in voden biološki razkis zmanjšala še za 0,40 g/L. V vzorcu, ki je služil kot kontrola se je vsebnost koncentracije skupnih kislin zmanjšala še za 0,25 g/L. Po končanem biološkem razkisu sta imela enake vsebnosti koncentracije skupnih kislin tako spontan kot voden biološki razkis, in sicer 5,90 g/L. Vzorec kontrole je imel koncentracijo skupni kislin 6,0 g/L. Tudi tukaj so

končni rezultati primerljivi s podatki, ki jih navaja Šuklje (2009) pri vinu modra frankinja pridelanega iz redčenega grozdja.

Pred začetkom poskusa je bila koncentracija hlapnih kislin v vseh treh vzorcih vina modra frankinja 0,40 g/L. Po končanem biološkem razkisu, pa se je koncentracija hlapnih kislin v vseh treh vzorcih nekoliko povečala, za 0,26 g/L, in je predstavljala končno vsebnost 0,66 g/L pri vseh vzorcih. To so majhne vrednosti hlapnih kislin, ki so pod pragom senzorične zaznave (Košmerl in Kač, 2003).

Pred začetkom biološkega razkisa je bila koncentracija prostega žvepla v vinu modra frankinja 12 mg/L. Po zaključku poskusa so vsi vzorci vina modra frankinja vsebovali 18 mg/L prostega žvepla. Do delnega povečanja prostega žvepla je v vzorcih s spontanin in vodenim biološkim razkiso prišlo zaradi delne razgradnje pretvornikov žvepla, s strani mlečnokislinskih bakterij (Košmerl in Kač, 2003). Vzorec kontrole je bil pred poskusom dožveplan.

Pred začetkom biološkega razkisa je bila koncentracija skupnega žvepla v vseh vzorcih 32 mg/L. Po končanem biološkem razkisu je prišlo do velikih odstopanj med vzorci vina modra frankinja. Vzorca, ki sta bila izpostavljena biološkemu razkisu sta imela končno koncentracijo skupnega žvepla 30 mg/L. To pomeni, da je v času biološkega razkisa prišlo do minimalne izgube skupnega žvepla v procesu zorenja vina. V vzorcu, ki je služil kot kontrola je bila končna koncentracija skupnega žvepla kar 2-krat večja kot v vzorcih, pridelanih s spontanin in vodenim biološkim razkiso. Vzorec kontrole je bil pred poskusom dožveplan z 10 g $K_2S_2O_5$ na hL, da smo preprečili biološki razkis, zato je tudi imel 2-krat večjo vsebnost skupnega žvepla kot preostala vzorca, na katerih smo izvedli biološki razkis. V začetku je poskusaje koncentracija skupnega žvepla v vinu precej velika, kar ni bilo dobro. Do nekoliko večje vsebnosti začetne koncentracije žvepla je prišlo zaradi nekoliko poznejšega tretiranja škropiva na osnovi žvepla, kar se je kasneje tudi odrazilo na vzorcih vina. Kasneje pa se je vsebnost skupnega žvepla zmanjševala in je ob prvem pretoku vina dosegla optimalno raven, ki je med 16-24 mg/L. Do zmanjševanja skupnega žvepla v vinu prihaja zaradi mikrobioloških in biokemijskih procesov, ki se odvijajo v času zorenja vina (Košmerl in Kač, 2003).

Vsem vzorcem vina modra frankinja smo izračunali ton barve preko izmerjenih absorbanc s spektrofotometrom pri določenih valovnih dolžinah. Najboljši rezultat se je pokazal pri vinu vodenega biološkega razkisa, saj je imel večji ton barve v primerjavi z ostalima vzorcema. Vzorec vodenega biološkega razkisa je imel končni ton barve 0,74, vino spontanega biološkega razkisa 0,73, medtem ko vino kontrole 0,70. Večji ton pomeni lepši, transparentnejši odtenek barve (Bavčar, 2006). Glede na izračunane tone barv vina lahko rečemo, da je imel najlepši ton barve vzorec vina modre frankinje pridelan z vodenim biološkim razkiso, za odtenek slabši je bil vzorec spontanega biološkega razkisa, najslabši ton barve pa smo izračunali pri kontrolnem vinu. Tudi tukaj so končni rezultati

primerljivi s podatki, ki jih navaja Šuklje (2009) pri vinu modra frankinja pridelanega iz redčenega grozdja.

Intenziteta barve pomeni vsoto absorbance merjene pri 420 nm, 520 nm, 620 nm. Vino spontanega biološkega razkisa je imelo končno intenziteto 6,98, vzorec vodenega biološkega razkisa 7,55, medtem ko je vino kontrole imelo najmanjšo intenziteto 6,73. Na videz smo ocenili, da so bili vsa vinav poskusu dovolj intenzivno obarvani. Rezultati intenzitete barve so primerljivi s podatki, ki jih navaja (Šuklje, 2009) pri vinu modra frankinja pridelanega iz redčenega grozdja. Slabša intenziteta je lahko posledica lege, sadilnega materiala, klona, letnika in ampelotehnike (Vršič in Lešnik, 2001).

Vsebnost antocianov v grozdju in vinu vpliva na barvo, predvsem rdečo, katera je pri vinu zaželeno intenzivna, z veliko vrednostjo tona barve (Adams, 2006; Kennedy in sod., 2006; Nemanič, 1996). Pred začetkom poskusa je vino vsebovalo 734 mg/L antocianov. Po končanem poskusu so se vsebnosti antocianov pri vseh vzorcih zmanjšale. V vzorcu spontanega biološkega razkisa se je zmanjšala vsebnost antocianov za 104 mg/L in je na koncu bila 630 mg/L. V vzorcu vodenega biološkega razkisa se je vsebnost antocianov zmanjšala za 200 mg/L na 534 mg/L. V vzorcu kontrole, pa se je vsebnost antocianov zmanjšala za 172 mg/L na 562 mg/L. Končni rezultati koncentracije antocianov letnika 2009, ki jih navaja Šuklje (2009) pri vinu 'modra frankinja' so nekoliko večji v primerjavi z našimi. Zmanjšanje koncentracije antocianov je posledica adsorpcije na mikroorganizme oziroma sesedanje nestabilne frakcije antocianov med zorenjem vina (Vršič in Lešnik, 2001).

Koncentracija fenolov vzorca kontrole je bila 1353 mg/L. Nekoliko večjo koncentracijo fenolov je imel vzorec vodenega biološkega razkisa, saj je vseboval 1403 mg/L. Vzorec spontanega biološkega razkisa je imel največjo koncentracijo fenolov, in sicer 1414 mg/L. Iz dobljenih rezultatov lahko trdimo, da je na večje koncentracije skupnih fenolov vplival biološki razkis.

Vsi trije v poskus zajeti vzorci vina so dobili visoko senzorično oceno kakovosti. Najboljšo oceno je dobilo vino, pridelano z vodenim biološkim razkiso 17,50 točke. Vino spontanega biološkega razkisa je dobilo 17,25, medtem ko vino kontrole 17,10 točk.

Zanimivo je predvsem to, da so uradni pokuševalci dali za bistrost in barvo vina največje možno število točk. Do velikega odstopanja ocenjevalcev pride pri parametrih ocenjevanja vzorcev vina modra frankinja kot so vonj, okus in harmonija. Najslabše ocenjeno je bilo vino kontrole, saj je dobil največji odbitek. Pri točkovanju vonja so ocenjevalci dali v povprečju 3,1 točke od možnih 4. To pomeni, da je bil odbitek 0,9 točke. Okus vina omenjenega vzorca so ovrednotili v povprečju s petimi točkami od možnih 6-tih točk. Odbitka je bilo za eno točko. Tudi pri zadnjem parametru ocenjevanja harmoniji vina, so ovrednotili s povprečjem petih točk od možnih šestih točk. Tudi tukaj je bil odbitek ene točke.

Preostala dva vzorca, na katerih smo izvedli biološki razkis sta bila nekoliko bolj ocenjena v primerjavi z vinom kontrole. Povprečna ocena vonja pri vzorcu spontanega biološkega razkisa je bila 3,3 točke. Odbitka je bilo za 0,7 točke. Povprečna ocena okusa je bila 5 točk. Odbitka je bilo za eno točko, enako kot pri kontrolnem vzorcu. Povprečna ocena harmonije vina je bila 5. Tudi v tem primeru je povprečna ocena identična kontrolnem vzorcu.

Povprečna ocena vonja vina iz vodenega biološkega razkisa je bila enaka kot pri vzorcu spontanega biološkega razkisa. Povprečna ocena okusa pa je bila 5,2 točke, kar pomeni, da je bilo odbitka 0,8 točke. V primerjavi s preostalima vzorcema je dobil 0,2 točke več za okus. Harmonijo vino pa so v povprečju ocenili s 5,1 točke. Tudi pri zadnjem parametru ocenjevanja vzorca vina je imel vzorec vodenega biološkega razkisa v primerjavi z že prej omenjenima vzorcema za malenkost boljše povprečno oceno, in sicer za 0,1 točko. Ta vzorec vina modra frankinja je predstavljal najbolj kakovostno vino po omenjenih parametrih ocenjevanja. Imel je najbolj izraženo barvo, bistrost, vonj, okus, harmonijo in sadno cvetico.

5.2 SKLEPI

Za potek biološkega razkisa smo izbrali nekoliko nižjo temperaturo zraka 17 °C za razliko od optimalne 25 °C, kar se je izkazalo za pravilno izvedbo vodenega in spontanega biološkega razkisa. Biološki razkis pri nižji temperaturi je tudi v praksi lažje izvedljiv, saj je višjo temperaturo zraka v jesenskem času v kleti težje doseči, zato je potrebno vino večkrat ogrevati.

Z vodenim biološkim razkisom smo dosegli primernejšo pH vrednost vina, ter vsebnost titrabilnih in skupnih kislin v primerjavi s spontanim biološkim razkisom oziroma kontrolo.

Največjo intenziteto in ton barve ter vsebnost antocianov smo dobili v vzorcih vina pridelanih z vodenim biološkim razkisom, nekoliko manjše vrednosti pri vinu s spontanim, najslabše rezultate pa je dosegel kontrolni vzorec, vino ki je zorelo pri 7 °C in brez biološkega razkisa.

Največje zmanjšanje skupnih fenolov je bilo izmerjeno v vzorcu kontrole, nato v vzorcu z vodenim biološkim razkisom, najmanjše v vzorcu vina s spontanim biološkim razkisom. Večja vsebnost skupnih fenolov lahko sicer vpliva na bolj trpek okus, vendar pri optimalni koncentraciji in fenolni zrelosti v grozdju ti prispevajo k polnejšemu okusu.

Najboljšo senzorično oceno je doseglo vino pridelano z vodenim biološkim razkisom, nato s spontanim, najslabše pa vino pridelano brez biološkega razkisa, ki je služilo kot kontrola.

Vendar so bili vsi preučevani vzorci vina 'modra frankinja' ocenjeni z visoko kakovostno oceno.

Vsekakor bi bilo potrebno poskuse razširiti na vina, pridelana v različnih tehnoloških zrelostih grozdja; proučiti njihove biološke razkise pri različnih temperaturah, in z različnimi mlečnokislinskimi bakterijami ter ugotovili še nekatere parametre (organske kisline, višje alkohole in estre), kar je presegalo okvire diplomske naloge.

6 POVZETEK

Vinogradniki se v vinorodnem okolišu Dolenjska vse pogosteje odločajo za biološki razkis vina modra frankinja predvsem v slabših letnikih, ko je vino bolj kislo, slabše dozorelo, gnilo ali ga je morebiti napadla ob koncu zorenja toča. Za ta poskus smo se odločili zaradi boljše kakovosti vina, ki smo jo želeli doseči z biološkim razkisom. V poskus leta 2009 smo vključili grozdje sorte 'Modra frankinja' pridelanega v vinorodnem okolišu Dolenjska. Po pecljanju in drozganju smo drozgo macerirali v vinifikatorju na Katedri za tehnologijo, prehrano in vino, Oddelka za živilstvo. Po stiskanju in zaključnem alkoholnem vrenju smo mlado vino razdelili na tri enake dele. V enem delu mladega vina smo opravili spontan biološki razkis, v drugem voden biološki razkis z dodatkom mlečnokislinskih bakterij, tretji pa nam je služil za kontrolo. Poskus je bil opravljen v treh ponovitvah. Spontan in voden biološki razkis smo spremljali s papirno kromatografijo. Po zaključnem poskusu smo opravili nekatere kemijske analize, in sicer merili smo pH vrednost, vsebnost titrabilnih in skupnih kislin, vsebnost alkohola, hlapnih kislin, antoncianov, in skupnih fenolov. Vina smo tudi senzorično ocenili. Ugotovili smo, da tako voden kot spontan biološki razkis vplivata na boljšo kemijsko sestavo in senzorično oceno vina v primerjavi s kontrolo. Ti vzorci so vsebovali ustrežnejši pH, manj skupnih in titrabilnih kislin zaradi razgradnje jabolčne v milejšo mlečno kislino, kar je prispevalo k izrazitejši sadni aromi in harmoničnosti okusa. Tako je bil vzorec pridelan z vodenim biološkim razkisom najboljše senzorično ocenjen, vzorec pridelan s spontanim nekoliko slabše, vzorec kontrole pa je dosegel najslabšo oceno, vendar se je še vedno uvrščal v razred kakovostnih vin. Na osnovi diplomske naloge priporočamo vinogradnikom, da se pogosteje odločajo za biološki razkis predvsem rdečih vin, saj bodo ob pravilnem postopku dobili kakovostnejše in bolj sortno značilno vino.

7 VIRI

- Adams D. O. 2006. Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 3: 249 - 256
- Ambrožič M. 2006. Vpliv biološkega razkisa na nastanek hlapnih komponent vina. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 68 str.
- Bavčar D. 2006. Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas: 286 str.
- Hrček L., Korošec-Koruza Z. 1996. Sorte in podlage vinske trte. Ptuj, Slovenska vinska akademija VERITAS: 96-98
- Košmerl T., Kač M., 2003. Osnovne kemijske analize mošta in vina: za predmet Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 87 str.
- Košmerl T. 2007. Senzorične lastnosti mošta in vina. Laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 60 str.
- Košmerl T., Kač M., 2007. Osnovne kemijske analize mošta in vina. Laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.
- Marjetič D. 1994. Dolenjski vinorodni okoliš. V: Vodnik po slovenskih vinorodnih okoliših. Prunk J. (ur.). Ljubljana, Založba grad: 94 - 109
- Nemanič J. 1996. Spoznajmo vino: Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 178 str.
- Pravilnik o vinu z oznako priznanega tradicionalnega poimenovanja – cviček. Ur.l. RS, št. 3/2000
- Pravilnik o rajonizaciji vinogradniškega območja SR Slovenija o sortah vinske trte, ki se smejo saditi. Ur.l. SRS št. 18/1977
- Rusjan D., Strlič M., Košmerl T., Prosen H. 2007. Aromatski potencial od grozdja do vina. V: Strokovni posvet za vinarje, Ptuj, junij 2007. Zbornik referatov. Ptuj, ZRS – znanstvenoraziskovalno središče Bistra: 40 – 45
- Šikovec S. 1985. Sodobno kletarjenje. Ljubljana, Kmečki glas: 279 str.
- Šikovec S. 1993. Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, Kmečki glas: 284 str.
- Šuklje K. 2009. Vpliv sortne ampelotehnike na količino in kakovost grozdja žlahtne vinske trte (*Vitis Vinifera* L.) sorte 'Modra frankinja'. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 41 str.
- Vodovnik A., Vodovnik Plevnik T. 2003. Od mošta do kozarca. Maribor, Kmetijsko Gozdarski Zavod: 206 str.
- Vodovnik T., Vodovnik A. 1999. Nasveti za vinarje. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 265 str.
- Vršič S., Lešnik M. 2001. Vinogradništvo. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 368 str.

ZAHVALA

Najlepše se zahvaljujem doc. dr. Mojmiru Wondri za čas, ki si ga je vzel za pregledovanje mojega diplomskega dela, za vse strokovne nasvete in potrpežljivost. Zahvala velja tudi doc. dr. Denisu Rusjanu za strokoven pregled diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi Zdenki Zupančič za pomoč v laboratoriju in njeno prijaznost.

Posebna zahvala velja staršema in sestri za vso moralno podporo, znanje in razumevanje v času študija.

PRILOGA A

Umeritvena krivulja, ki prikazuje skupne fenole

