

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Katja DRAGOVAN

VPLIV ZORENJA IN DODATKA ANTIOKSIDANTOV NA KAKOVOST
BELOKRANJSKIH RDEČIH VIN

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

INFLUENCE OF MATURATION AND ADDITION OF ANTIOXIDANTS
ON QUALITY OF RED WINES FROM WINEGROWING DISTRICT
BELA KRAJINA

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v laboratoriju za vinarstvo na Katedri za tehnologije, prehrano in vino na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. dr. Tatjano Košmerl in za recenzenta doc. dr. Blaža Cigića.

Mentorica: prof. dr. Tatjana KOŠMERL

Recenzent: doc. dr. Blaž CIGIĆ

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik komisije:

Član komisije:

Član komisije:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Katja Dragovan

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 663. 251/. 253: 577.1 (043) = 163.6
KG	vino / rdeče vino / metliška črnina / portugalka / modra frankinja / enološka sredstva / antioksidativni potencial / fenolne spojine / tanini / flavonoidi / antociani / barva vina/
AV	DRAGOVAN, Katja
SA	KOŠMERL, Tatjana (mentorica) / CIGIĆ Blaž (recenzent)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2010
IN	VPLIV ZORENJA IN DODATKA ANTIOKSIDANTOV NA KAKOVOST BELOKRANJSKIH RDEČIH VIN
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XV, 75 str., 7 pregl., 29 sl., 34 pril., 44 vir.
IJ	sl
Jl	sl/en
AL	Namen naloge je bil ugotoviti vpliv zorenja in dodatka antioksidantov ter hrane za kvasovke in enološkega tanina na kakovost rdečih vin. Za izvedbo poskusa smo izbrali zvrst metliška črnina ter sorti portugalka in modra frankinja letnik 2007 iz belokranjskega vinorodnega okoliša, v katerih smo po enomesečnem zorenju vina določali antioksidativni potencial (AOP) s stabilnim prostim radikalom DPPH'. V mlada rdeča vina smo dodali izbrana enološka sredstva (SO ₂ , kalijev kazeinat, preparat enoloških taninov in hrano za kvasovke za rdeča vina) ter ugotavljali razliko v AOP po zorenju vina v primerjavi z osnovnim vzorcem brez dodatka. Poleg AOP smo v vinu s spektrofotometričnimi metodami določili vsebnost skupnih fenolov, taninov, flavonoidov, antocianov ter barvnih parametrov (intenziteto in ton barve) pri valovnih dolžinah 420, 520 in 620 nm. Ugotovili smo, da so vsebnosti skupnih in posameznih fenolnih spojin sortna lastnost. Potrdili smo, da imajo vina z večjo vsebnostjo skupnih fenolnih spojin večji AOP. Največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin in AOP je imela modra frankinja, sledita mu metliška črnina in portugalka. Pri določanju vrednosti AOP, skupnih fenolnih spojin, taninov in flavonoidov smo ugotovili, da se je kot najboljši enološki dodatek v vinu izkazal enološki tanin, sledi mu kazeinat, SO ₂ in hrana za kvasovke, medtem ko se je pri vsebnosti antocianov in določanju barvnih parametrov kot najboljši enološki dodatek v vinu izkazal SO ₂ , kateremu sledi enološki tanin, hrana za kvasovke in kazeinat.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 663. 251/. 253: 755.1 (043) = 163.6
- CX wines / red wines / Metliška Črnina / Portugalka / Modra Frankinja / enological agents / antioxidant potential / phenols / tannins / flavonoids / anthocyanins / colour of wine/
- AU DRAGOVAN, Katja
- AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor) / CIGIČ, Blaž (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2010
- TI INFLUENCE OF MATURATION AND ADDITION OF ANTIOXIDANTS ON QUALITY OF RED WINES FROM WINEGROWING DISTRICT BELA KRAJINA
- DT Graduation thesis (University studies)
- NO XV, 75 p., 7 tab., 29 fig., 38 ann., 42 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The purpose of thesis was to determine the effect of maturation and antioxidants addition and yeast food and tannins on the quality of the red wines. For the experiment we have chosen blend Metliška Črnina and varieties Portugalka and Modra Frankinja of vintage 2007 from the winegrowing district of Bela krajina. We have determined the antioxidant potential (AOP) with stable free radical DPPH' after one month of wine maturation. We added selected antioxidant enological agents (SO₂, potassium caseinate, preparation of enological tannins and yeast food for red wines) into young red wines and established the difference in the AOP between matured wines and the basic wines without added antioxidants (control). In addition to AOP, contents of total phenols, tannins, flavonoids, anthocyanins and colour parameters (intensity and hue) at individual wavelengths (420, 520 and 620 nm) were determined by spectrophotometric methods. Content of total and individual phenols were found to be mainly varietal characteristic. We confirmed that wines with higher content of total phenols have also significantly increased AOP. According to our results Modra Frankinja have the highest content of total phenols and AOP, followed by Metliška Črnina and Portugalka. The highest values of AOP, total phenols, tannins and flavonoides we found in the wines into which enological tannins were added, followed by caseinate, SO₂ and yeast food. When we determined the value of anthocyanins and colour parameters the efficiency of added enological agents decreased in the order SO₂, tannins, yeast food and caseinate.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XIII
1 UVOD	1
1.1 CILJ DELA	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ANTIOKSIDANTI	3
2.1.1 Prosti radikali	5
2.1.2 Oksidativni stres in prooksidanti	5
2.1.3 Določanje antioksidativnega potenciala z DPPH• radikalom	6
2.2 FENOLNE SPOJINE	8
2.2.1 Flavonoidni fenoli	9
2.2.1.1 Flavan-3-oli	10
2.2.1.2 Antociani	11
2.2.1.3 Proantocianidini	13
2.2.1.4 Flavonoli	14
2.2.2 Neflavonoidni fenoli	15
2.2.2.1 Hidroksicimetne kisline	15
2.2.2.2 Hidroksibenzojske kisline	16
2.2.2.3 Stilbeni	17
2.3 TANINI	18
2.4 BARVA RDEČIH VINSKIH SORT	19
2.5 DODATKI PRI PREDELAVI GROZDJA	20
2.5.1 Encimi	20
2.5.2 Žveplov dioksid (SO₂)	21
2.5.3 Enološki tanini	22
2.5.4 Askorbinska kislina	23
3 MATERIAL IN METODE	24
3.1 NAČRT DELA	24
3.2 MATERIAL	25
3.2.1 Enološka sredstva	25
3.2.2 Laboratorijska oprema	26
3.2.3 Reagenti	26
3.3 METODE DELA	28
3.3.1 Antioksidativni potencial	28
3.3.2 Določanje koncentracije skupnih fenolov	28
3.3.3 Določanje koncentracije netaninov in taninov	28

3.3.4 Določanje koncentracije ne flavonoidov in flavonoidov	29
3.3.5 Določanje koncentracije antocianov	29
3.3.6 Določanje barvnih parametrov	29
3.3.7 Določanje koncentracije hlapnih kislin	30
3.3.8 Določanje koncentracije prostega SO ₂ po Ripperju.....	30
3.3.9 Določanje koncentracije skupnega SO ₂ po Ripperju	31
4 REZULTATI.....	32
4.1 REZULTATI DOLOČANJA ANTIOKSIDACIJSKEGA POTENCIALA (AOP)	32
4.2 REZULTATI DOLOČANJA MASNIH KONCENTRACIJ SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN (SKUPNI FENOLOV).....	33
4.3 REZULTATI DOLOČANJA MASNIH KONCENTRACIJ TANINSKIH FENOLOV (TANINOV)	34
4.4 REZULTATI DOLOČANJA MASNIH KONCENTRACIJ FLAVONOIDNIH FENOLOV (FLAVONOIDOV)	35
4.5 REZULTATI DOLOČANJA MASNIH KONCENTRACIJ ANTOCIANOV.....	36
4.6 REZULTATI DOLOČANJA INTENZITETE BARVE	37
4.7 REZULTATI DOLOČANJA TONA BARVE	38
4.8 REZULTATI DOLOČANJA DELEŽA (%) RDEČE BARVE PROSTIH IN VEZANIH ANTOCIANOV V OBLIKI FLAVILJEVEGA KATIONA	39
4.9 REZULTATI DELEŽA (%) RDEČE BARVE PRI VALOVNI DOLŽINI 420 nm	40
4.10 REZULTATI DELEŽA (%) RDEČE BARVE PRI VALOVNI DOLŽINI 520 nm	41
4.11 REZULTATI DELEŽA (%) RDEČE BARVE PRI VALOVNI DOLŽINI 620 nm	42
4.12 REZULTATI DOLOČANJA Hlapnih kislin (g/L)	43
4.13 REZULTATI DOLOČANJA PROSTEGA SO ₂ (mg/L).....	44
4.14 REZULTATI DOLOČANJA SKUPNEGA SO ₂ (mg/L)	45
5 RAZPRAVA IN SKLEPI.....	46
5.1 RAZPRAVA.....	46
5.2 SKLEPI.....	51
6 POVZETEK.....	52
7 VIRI	54
ZAHVALA	58
PRILOGE.....	59

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1	Porazdelitev fenolnih spojin (%) v grozdni jagodi (Košmerl in Kač, 2004)	9
Preglednica 2	Antociani v vinu (Vanzo in Vrhovšek, 2005)	12
Preglednica 3	Flavonoli v vinu (Vrhovšek, 2000)	14
Preglednica 4	Estri hidroksicimetnih kislin v vinu (Vrhovšek, 2000)	15
Preglednica 5	Hidroksicimetne kisline v vinu (Vrhovšek, 2000)	16
Preglednica 6	Opis uporabljenih enoloških sredstev v vzorcih vina	25

KAZALO SLIK

Slika 1	Redukcija DPPH [*] v DPPH ₂ (Lo Scalzo, 2008)	7
Slika 2	Osnovna strukturna formula flavonoidov (Abram, 2000)	9
Slika 3	Strukturna formula katehina (Vrhovšek, 2000)	11
Slika 4	Strukturna formula epikatehina (Vrhovšek, 2000)	11
Slika 5	Strukturna formula antocianinov v rdečem grozdju in vinu (Vanzo in Vrhovšek, 2005)	11
Slika 6	Strukturne formule proantocianidinov B ₁ , B ₂ , B ₃ in B ₄ (dimeri katehina) (Vrhovšek, 2000)	13
Slika 7	Strukturna formula flavonolov (Vrhovšek, 2000)	14
Slika 8	Strukturna formula estra hidroksicimetnih kislin v vinu (Vrhovšek, 2000)	15
Slika 9	Strukturna formula hidroksicimetnih kislin v vinu (Vrhovšek, 2000)	16
Slika 10	Strukturne formule galne, vanilijeve in siringinske kisline (Vrhovšek, 2000)	16
Slika 11	Strukturna formula <i>cis</i> -resveratrola in <i>cis</i> -glukozid resveratrola (Vrhovšek, 2000)	17
Slika 12	Strukturna formula <i>trans</i> -resveratrola in <i>trans</i> -glukozid resveratrola (Vrhovšek, 2000)	17
Slika 13	Strukturna formula hidrolizabilnega tanina (Jackson, 2000)	18
Slika 14	Strukturna formula kondenziranega tanina (Jackson, 2000)	18
Slika 15	Strukturna formula askorbinske kisline (Hoffmann-La Roche Inc., 1992)	23
Slika 16	Povprečni antioksidativni potencial (AOP) po posameznih sortah v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	30
Slika 17	Povprečna koncentracija skupnih fenolnih spojin (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	31
Slika 18	Povprečna koncentracija taninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	32
Slika 19	Povprečna koncentracija flavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	33
Slika 20	Povprečna koncentracija antocianov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	34
Slika 21	Povprečna intenziteta barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	35
Slika 22	Povprečna vrednost tona barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	36

Slika 23	Delež (%) rdeče barve prostih in vezanih antocianov v obliki flavilijevega kationa (dA_F) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	37
Slika 24	Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	38
Slika 25	Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	39
Slika 26	Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	40
Slika 27	Povprečna koncentracija hlapnih kislin (g/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	41
Slika 28	Povprečna koncentracija prostega SO_2 (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	42
Slika 29	Povprečna koncentracija skupnega SO_2 (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	43

KAZALO PRILOG

Priloga A1	Vpliv zorenja in dodatka enoloških sredstev na AOP ter koncentracije skupnih fenolnih spojin, netaninov, taninov, neflavonoidov, flavonoidov in antocianov v vinu posameznih sort/zvrsti	56
Priloga A2	Vpliv zorenja in dodatka enoloških sredstev na barvne parametre; intenziteto in ton barve ter na delež rdeče barve (%) v obliki flavilijevega kationa oziroma pri valovni dolžini 420, 520 in 620 nm v vinu posameznih sort/zvrsti	57
Priloga A3	Vpliv zorenja in dodatka enoloških sredstev na koncentracijo hlapnih kislin (g/L) ter na koncentraciji prostega in skupnega SO ₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	58
Priloga B1	Rezultati meritev antioksidativnega potenciala (AOP), izraženega v mmol/L DPPH na liter vina v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	59
Priloga B2	Antioksidativni potencial (AOP), izražen v mmol/L DPPH na liter vina v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	59
Priloga B3	Rezultati določanja koncentracije skupnih fenolov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	60
Priloga B4	Koncentracije skupnih fenolnih spojin (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	60
Priloga B5	Rezultati določanja koncentracije netaninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	61
Priloga B6	Koncentracije netaninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	61
Priloga B7	Graf povprečnih koncentracij netaninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	61
Priloga B8	Rezultati določanja koncentracije taninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	62
Priloga B9	Koncentracije taninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	62
Priloga B10	Rezultati določanja koncentracije neflavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	63

Priloga B11	Koncentracije neflavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	63
Priloga B12	Graf povprečnih koncentracij neflavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	63
Priloga B13	Rezultati določanja koncentracije flavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	64
Priloga B14	Koncentracije flavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	64
Priloga B15	Rezultati določanja koncentracije antocianov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	65
Priloga B16	Koncentracije antocianov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	65
Priloga C1	Rezultati meritev intenzitete in tona barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	66
Priloga C2	Intenziteta barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	67
Priloga C3	Ton barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	67
Priloga C4	Rezultati vpliva zorenja in dodatka enoloških sredstev na določene deleže rdeče barve (%) v obliki flavilijevega kationa (dA_F) oziroma pri valovni dolžini 420, 520 in 620 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	68
Priloga C5	Delež (%) rdeče barve prostih in vezanih antocianov v obliki flavilijevega kationa (dA_F) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	69
Priloga C6	Delež (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	69
Priloga C7	Delež (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	70
Priloga C8	Delež (%) rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	70
Priloga D1	Rezultati določanja koncentracije hlapnih kislin (g/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po	71

Priloga D2	enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi Koncentracije hlapnih kislin (g/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	71
Priloga D3	Rezultati določanja koncentracije prostega in skupnega SO ₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja ter OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	72
Priloga D4	Koncentracije prostega SO ₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	73
Priloga D5	Koncentracije skupnega SO ₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi	73
Priloga E1	Prispevek dodatka enološkega sredstva na proučevane kemijske parametre (povprečna vrednost treh meritev ± standardni odmik)	74
Priloga E2	Prispevek dodatka enološkega sredstva na proučevane kemijske parametre (povprečna vrednost treh meritev ± standardni odmik)	75

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AOP	antioksidativni potencial
DPPH*	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
dA _F (%)	delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa
dA ₄₂₀ (%)	delež rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm
dA ₅₂₀ (%)	delež rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm
dA ₆₂₀ (%)	delež rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm
HK (mg/L)	koncentracija hlapnih kislin
OV	osnovno vino
R	razredčitev
SO ₂	žveplov dioksid
OV	osnovni vzorec
OV1	osnovni vzorec po enomesečnem zorenju
OV2	osnovni vzorec po enomesečnem zorenju z dodatkom SO ₂
OV3	osnovni vzorec po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata
OV4	osnovni vzorec po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke
OV5	osnovni vzorec po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških taninov
MČ	metliška črnina
P	portugalka
MF	modra frankinja

1 UVOD

Splošno kot zorenje obravnavamo čas, ko ima neko vino optimalno kakovost oziroma jo še pridobiva. Procesi zorenja vplivajo predvsem na spremembo barve in okusa vina. Intenzivno škrlatno rdeča mlada vina pridobivajo robinasto opečne odtenke, ki so posledica povečanja števila polimeriziranih antocianov. Počasno izhlapevanje raztopljenega ogljikovega dioksida povzroča izgubo svežine, vino postaja bolj skladno, pitno na okus oziroma harmonično, kompleksno. Splošno se z zorenjem in polimerizacijo taninov grenkoba in trpkost vina zmanjšata. Če omenjene spremembe uspešno nadomestijo izgube svežine, sadnosti in sortnosti, potem vino pridobiva na kakovosti.

Določanje antioksidativnih lastnosti v vinu in njihovo povezovanje z različnimi fenolnimi spojinami ter ohranjanje oziroma spreminjanje le-teh v času zorenja, določamo na osnovi različnih analitičnih metod. Z radikalom DPPH^{*} določamo antioksidativni potencial, s pomočjo katerega se osredotočimo na ugotavljanje razlik v povezavi s skupnimi in posameznimi fenolnimi spojinami in barvnimi parametri.

Vina z večjo vsebnostjo fenolnih spojin imajo večji antioksidativni potencial, večji varovalni učinek in ugodnejši vpliv na zdravje ljudi. Preobrat kulture pitja, so rdeča vina doživela po letu 1991 z pojavom 'francoskega paradoksa' in s tem vse večjemu zmernemu uživanju vina kot dodatka k jedem.

1.1 CILJ DELA

Cilj dela je ugotoviti vpliv enomesečnega zorenja in dodanih enoloških sredstev (žveplov dioksid, kalijev kazeinat, hrana za kvasovke za rdeča vina in preparat enoloških taninov) na ohranjanje antioksidativnih lastnosti in kakovosti mladih rdečih vin v primerjavi s kontrolo. Analizirali smo mlada rdeča vina letnik 2007 iz belokranjskega vinorodnega okoliša sorte portugalka in modra frankinja ter zvrst metliška črnina.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Pričakujemo, da bodo razlike v vsebnosti skupnih fenolnih spojin, flavonoidov, taninov in antocianov sortno pogojene glede na izbrana vina (metliška črnina, portugalka, modra frankinja). Od enomesečnega zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi predvidevamo tudi ohranjanje antioksidativnih lastnosti ter zaradi zmanjšanja vsebnosti prostih antocianov padec intenzitete barve, kar vodi k zmanjšanju absorbance pri 520 nm in povečanje pri 420 nm. Enološka sredstva, ki smo jih pri tem uporabili, pa se bistveno razlikujejo po sestavi in namenu uporabe.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ANTIOKSIDANTI

Antioksidant je snov, ki prepreči oksidacijo neke druge snovi tudi takrat, ko je koncentracija le-te precej večja od koncentracije antioksidanta (Halliwell in Gutteridge, 1989).

Razlikujejo se po kemijski strukturi kakor tudi po mehanizmu delovanja. Pogostokrat se delijo po sledečih kriterijih:

- izvor (naraven, sintetičen, endogen, eksogen)
- način delovanja (encimski, neencimski)
- kemijsko fizikalne lastnosti (polaren, nepolaren)
- struktura (polifenoli, tioli)
- mehanizem delovanja (lovilec prostih radikalov, preprečevanje tvorbe prostih radikalov)

Antioksidanti so encimi, ki katalizirajo reakcije, v katerih se prosti radikali in reaktivne kisikove spojine pretvorijo v manj reaktivne spojine ter nekatere manjše molekule, ki so lovilci prostih radikalov. Med antioksidante uvrščamo tudi kelatorje redoks aktivnih ionov. Obstaja pa tudi veliko spojin, ki niso direktni antioksidanti, ampak na posreden način povečajo učinek antioksidantov. Te spojine lahko vplivajo na regulacijo biosinteze in regeneracijo encimskih antioksidantov, nizkomolekularnih antioksidantov in proteinov, ki vežejo prooksidativne ione. Takšne spojine lahko uvrstimo med pro-antioksidante (Cigić in Rudan Tasić, 2006).

Naravni antioksidanti se pogosto nahajajo v rastlinah kot fenolne komponente (flavonoidi, fenolne kisline, alkoholi, tokoferoli), askorbinska kislina in karotenoidi, sintetični antioksidanti pa so pogosto uporabni kot aditivi v hrani, saj zavirajo oksidacijo, so poceni in široko uporabni (Shahin in sod., 2007). Predstavniki sintetičnih antioksidantov so BHA (3-terciarni butil-4-hidroksi anizol), BHT(6-diterciarni butil-p-hidroksi toulen), TBHQ (2-terciarni butil-hidrokinon) in PG (propil galat) (Ramis-Ramos, 2003).

Antioksidante v živilih delimo v tri skupine:

- primarni antioksidanti nastajajo v organizmu ali jih tvorijo mikroorganizmi. To so predvsem encimi, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, ceruloplazmin. Njihova vloga je preprečevanje tvorbe prostih radikalov. V to skupino prištevamo snovi, ki lahko reaktivne radikale spremenijo v bolj stabilne produkte in s tem prekinejo verižno reakcijo avtooksidacije. Najpogosteje antioksidant poseže v reakcijo avtooksidacije s tem, da hitro odda vodikov atom radikalumu, ki bi sicer omogočil tvorbo peroksidnih radikalov ali hidroperoksidov.



V to skupino uvrščamo fenole in njihove derivate ter različne primarne antioksidante.

- sekundarni antioksidanti nevtralizirajo novonastale proste radikale. To so snovi, ki zavirajo avtooksidacijo brez direktnega vstopanja v verižno reakcijo. Njihova značilnost je, da reagirajo s kovinskimi ioni, ki so katalizatorji oksidacije, odvzemajo kisik iz medija, razgrajujejo hidroperokside, absorbirajo UV svetlobo in deaktivirajo aktivni kisik.

Sekundarni antioksidanti lahko delujejo kot:

➤ odjemalci kisika

Spojine reagirajo s prostim kisikom in ga na ta način odstranijo iz reakcije. Prosti kisik reagira z odjemalci kisika, ki jih oksidira. Najpomembnejši odjemalci kisika so askorbinska kislina, encimi (ksantin oksidaza, superoksid dismutaza, katalaza), flavonoidi, karotenoidi, polifenoli, sulfiti.

➤ odjemalci radikalov

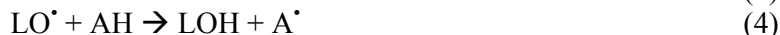
Te snovi preprečujejo prostim radikalom reagiranje pri verižnih reakcijah s tem, da preprečijo tvorbo hidroperoksida. Najpomembnejši lovilci radikalov so: flavonoidi, polifenoli, karotenoidi, tokoferoli.

➤ sinergisti

Te snovi same po sebi niso antioksidanti, vendar ob prisotnosti primarnih antioksidantov pospešujejo tvorbo kelatov. Tako se tvorijo stabilni kompleksi s kovinskimi ioni, kot sta železo in baker. Najpomembnejši sinergisti so EDTA, vinska kislina, citronska kislina in njeni estri, polifosfati in lecitin.

- terciarni antioksidanti so snovi, ki popravljajo poškodbe, ki jih povzročajo prosti radikali v strukturi celici (Raspor in sod., 2000).

Fenolni antioksidanti (AH) zaustavljajo oksidacijo lipidov, ker se njihov vodikov atom poveže z lipidnim radikalom (L[•]), lipidoksidnim radikalom (LO[•]) ali lipidperoksidnim radikalom (LOO[•]).



Učinkovitost antioksidantov je tem večja, čim manjša je jakost vezi A-H. Pri tem nastali fenoksilni radikal (A[•]) 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 (Abram, 2000).

2.1.1 Prosti radikali

Prosti radikali so atomi, ioni, molekule ali deli molekule, ki imajo v svoji strukturi vsaj en ne sparjen elektron (March, 1992; Cigić in Rudan Tasič, 2006), ki je v večini primerov tudi vzrok za njihovo kemijsko reaktivnost (Šuput in Kamarić, 2001; Cigić in Rudan Tasič, 2006). Prosti radikali in reaktivne spojine nastajajo v okolju in poškodujejo celice, s katerimi pridejo v stik ter v živih organizmih (Kreft in Pečar, 1998), vključno z nukleinskimi kislinami in geni. Nastajajo pri cepitvi kovalentne vezi ter so rezultat normalne celične presnove (dihanje) in posledica dejavnikov okolja: UV- in gama žarkov, toplote, kajenja, onesnaženega okolja. Prav tako lahko njihov nastanek povzročajo tudi nekatere snovi in zdravila (aflatoksini, alkohol, analgetiki, anestetiki, citostatiki) (Korošec, 2000).

Prosti radikali z lihim številom elektronov so zelo reaktivni, prav tako tudi tisti z sodim številom nesparjenih elektronov, ki imajo nasprotno spino (Šuput in Kamarić, 2001). Tako lahko nastajajo HO[•] (hidroksilni), HOO[•] (hidroperoksilni), O²⁻ (hiperoksidni anion), RO[•] (alkoksilni), ROO[•] (alkilperoksilni), ArO[•] (fenoksilni) in drugi radikali. Reaktivne kisikove spojine, kot so ozon (O₃), vodikov peroksid (H₂O₂), hidroperoksid (ROOH), peroksid (ROOR), so zelo povezane s staranjem in z razvojem kroničnih bolezni; diabetesa, ateroskleroze, karcinoma (Abram, 2001).

Ker so prosti radikali zelo reaktivni imajo majhno kemijsko specifičnost, zato lahko reagirajo z večino molekul v svoji bližini, kar vključuje proteine, lipide, ogljikove hidrate in DNA. Kadar radikal reagira z neradikalom, nastane nov prosti radikal, ki reagira naprej v verižni radikalni reakciji, medtem ko prvotno izgubi lastnost radikala. Možni so trije načini reakcij:

- pritegnitev protona iz neke spojine
- adicija na dvojno vez
- reakcija dveh radikalov

Novo nastale molekule lahko predstavljajo strukturno ali funkcionalno neustrezne spojine, ki so lahko vir hudih poškodb za posamezne sestavine celic kot sta genski material ali biološka membrana (Cigić in Rudan Tasič, 2006).

2.1.2 Oksidativni stres in prooksidanti

Oksidativni stres imenujemo porušitev ravnotežja med prostimi radikali in antioksidanti. Antioksidanti ga preprečujejo z lovljenjem prostih radikalov, s keliranjem kovinskih ionov, z odstranjevanjem in/ali popravilom oksidativno poškodovanih biomolekul (Korošec, 2000).

V bioloških sistemih se oksidativni stres pokaže potem, ko je bil sistem dalj časa izpostavljen oksidantom, ko je prišlo do zmanjšanja antioksidativne sposobnosti organizma ali pri obeh spremembah hkrati. Oksidativni stres je večkrat povezan ali pa vodi v nastanek reaktivnih vrst kisika oziroma reaktivnih kisikovih spojin med katerimi so prosti radikali (Abram, 2001).

Prooksidanti so vsi iniciatorji tvorbe radikalov (Cigić in Rudan Tasič, 2006). Definirani so tudi kot oksidanti, ki imajo vlogo v patoloških procesih ali kot snovi, ki tvorijo kisik vsebujoče stranske produkte metabolizma, ki lahko poškodujejo celice (Dictionary of cancer terms, 2009).

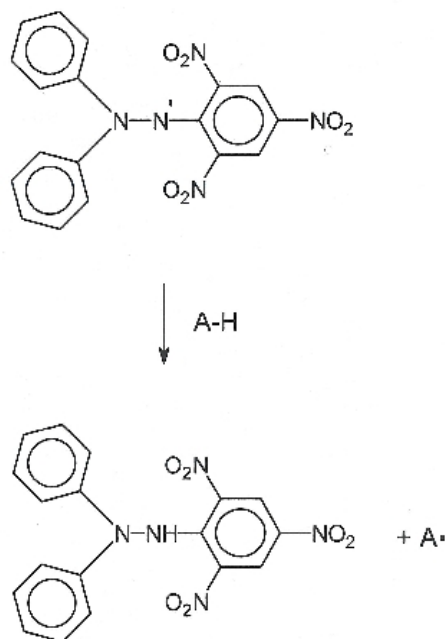
Ker so prooksidanti neke vrste iniciatorji oksidativnih poškodb, razvrščamo med prooksidante vse faktorje, ki prispevajo k povečanem oksidativnem stresu kot so prosti radikali, reaktivne kisikove in dušikove spojine ter ioni prehodnih kovin.

Kadar askorbinska kislina, tokoferoli, karotenoidi in različni polifenoli pospešijo proces oksidacije biološko pomembnih molekul govorimo o prooksidantih, zato lahko v širšem smislu med prooksidante uvrščamo snovi, ki dejansko povzročajo oksidativne poškodbe, kakor tudi vse ostale snovi in dejavnike, ki te poškodbe pospešijo (Cigić in Rudan Tasič, 2006).

2.1.3 Določanje antioksidativnega potenciala z DPPH• radikalom

Ena najstarejših indirektnih metod, za določanje antioksidativne aktivnosti, je metoda s prostim radikalom DPPH• (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metoda temelji na reakciji med DPPH• radikalom in donorji vodika (Brand-Williams in sod., 1995).

DPPH• je stabilen prosti radikal s sposobnostjo delokalizacije prostega elektrona okrog celotne molekule, kar je razlog, da molekule ne tvorijo dimer. Ko alkoholna raztopina DPPH• reagira z antioksidantom, se tvori reducirana oblika DPPH₂, kar povzroča spremembo barve iz vijoličaste v rumeno. Če molekula DPPH• reagira samo z eno molekulo antioksidanta, potem je stehiometrično razmerje 1:1. V primeru, da ima molekula antioksidanta, ki reagira z DPPH• radikalom, dve vezalni mesti (npr. askorbinska kislina, α -tokoferol), pa je teoretično razmerje med DPPH• in antioksidantom 2:1 (Molyneux, 2004).



Slika 1: Redukcija DPPH[•] v DPPH₂ (Lo Scalzo, 2008)

DPPH[•] ima velik molarni absorpcijski koeficient v vidnem delu spektra z maksimumom od 515 do 520 nm, zato lahko koncentracijo radikala DPPH[•] določimo spektrofotometrično (Locatelli in sod., 2009). Parameter s katerim lahko predstavimo rezultate DPPH metode je tako imenovana koncentracija učinkovitosti oz. vrednost EC₅₀. Definirana je kot koncentracija antioksidanta, ki je potreben za redukcijo 50 % barve radikala DPPH[•]. Slabša stran te metode je, da se z večanjem antioksidativne aktivnosti znižuje vrednost EC₅₀, kar je zlasti nerodno pri grafičnem prikazovanju rezultatov.

Enostaven način interpretacije rezultatov je, da izračunamo razmerje med množino DPPH[•], ki reagira z ustrezno množino določenega antioksidanta. Antioksidanti z večjim razmerjem DPPH[•]/antioksidant so bolj učinkoviti. V primeru rastlinskega ekstrakta, ko antioksidant nima znane dejanske sestave in molarne koncentracije, govorimo o njegovi kompleksnosti. Takrat je smiselno podati rezultate kot razmerje med množino DPPH[•], ki reagira z antioksidantom v 1 g suhe snovi.

V nekaterih primerih so rezultati predstavljeni v obliki preostale koncentracije DPPH[•] iz umeritvene krivulje. Porabljene mole DPPH[•] v vzorcu lahko enostavno izračunamo s pomočjo Beer-Lambertovega zakona.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot L \quad (8)$$

ε je molarni ekstinkcijski koeficient DPPH[•] pri 515 nm, c je koncentracija nastalega DPPH₂, L pa dolžina poti svetlobe skozi vzorec. Vrednost ε v metanolu in etanolu pri 515 nm se giblje med 11600 in 12500 L/(mol·cm).

Metoda je enako učinkovita, če DPPH^{*} raztopimo v metanolu ali etanolu. Koncentracijo DPPH^{*} izmerimo v območju med 50 in 100 μ M, tako da so vrednosti absorbance referenčne raztopine manjše od 1,0. Reakcijski čas metode naj bi bil okrog 30 minut, valovna dolžina, pri kateri merimo absorbanco, pa med 515 in 520 nm (Molyneux, 2004).

2.2 FENOLNE SPOJINE

Fenolne spojine imenujemo vse tiste spojine, ki imajo najmanj en aromatski obroč in najmanj eno ali več -OH skupin direktno vezanih na aromatski obroč. V naravi so običajne spojine z več -OH skupinami in zato se je zanje uveljavilo tudi drugo ime - polifenoli (Abram in Simčič, 1997).

Fenolne spojine so naravni antioksidanti. Velik vpliv na antioksidacijsko sposobnost ima položaj in razporeditev -OH skupin. Tako je predvsem *orto* položaj -OH skupin na B obroču tisti, ki prispeva k antioksidativni sposobnosti in vsi flavonoidi s 3',4'-dihidroksi ali 3'4'5'-trihidroksi skupinami so dobri antioksidanti. Poleg tega je pomembna tudi karbonilna skupina na mestu 4 in prosta hidroksilna skupina na mestu 3 in/ali 5 (Abram in Simčič, 1997). Z večanjem števila hidroksilnih skupin se antioksidativna učinkovitost fenolnih spojin povečuje (Košmerl in sod., 2005). Le-te prispevajo k barvi in stabilnosti vina, v večjih koncentracijah pa povzročajo trpkost in grenkobo. V prisotnosti kisika hitro oksidirajo in povzročajo porjavenje vina. (Košmerl, 2008). Njihova koncentracija se povečuje med dozorevanjem in pri nižji temperaturi (Košmerl in sod., 1996). Lahko so enostavne, ki izvirajo iz grozdja, kakor tudi zelo kompleksne (tanini), ki se ekstrahirajo iz lesene posode med procesom zorenja vina (Košmerl, 2008).

Med maceracijo pride do kontakta jagodnega soka z jagodnimi kožicami. Pri tem prehajajo iz vakuol celic jagodne kožice fenolne snovi v jagodni sok. Intenzivnost prehajanja fenolnih snovi v jagodni sok je pogojena s kemijskimi (temperaturo, koncentracijo nastajajočega alkohola in CO₂) in fizikalnimi dejavniki (mešanje drozge, čas maceracije) (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Muhar in Košmerl, 2005). Zaradi izločanja CO₂ med maceracijo se na površini drozge oblikuje kompakten klobuk jagodnih kožic, katerega je potrebno večkrat potapljat. S tem pripomoremo k hitrejši ekstrakciji barvil in fenolnih snovi (Košmerl in sod., 2001). Priporočljiva temperatura maceracije je 25°C za mlada vina, povišana 30°C omogoča ekstrakcijo taninov, ki so osnova vin namenjena za staranje. Povišana temperatura povzroča razgradnjo celic ter s tem pospeši maceracijo (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Muhar in Košmerl, 2005).

Na intenziteto barve in koncentracijo fenolnih spojin vpliva čas maceracije, največji vpliv na ekstrakcijo barve pa ima koncentracija alkohola. Ta na začetku fermentacije izloči več barvnih snovi, kasneje pa več fenolnih. Daljši postopek pomeni večjo koncentracijo ekstrahiranih fenolnih snovi in bolj trpko vino. Alkohol, ki nastaja med fermentacijo, ima na maceracijo kompleksen vpliv. Večje koncentracije lahko znižujejo intenziteto barve, saj povzročata razpad antociansko-taninskih kompleksov (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Muhar in Košmerl, 2005).

Preglednica 1: Porazdelitev fenolnih spojin (%) v grozdni jagodi (Košmerl in Kač, 2004)

Del grozdne jagode	Rdeče grozdje	Belo grozdje
jagodna kožica	33,3 %	23,2 %
grozdni sok	3,4 %	4,5 %
grozdne pečke	62,6 %	71,4 %

Dejavniki, ki vplivajo na količino fenolov v vinu (Vrhovšek, 1996):

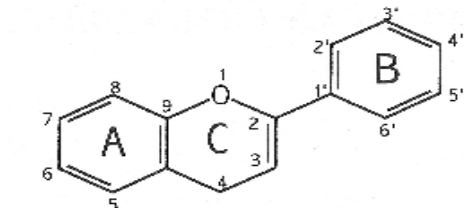
- sorta vinske trte, vinogradniško področje (vrsta tal, klimatske razmere), vinogradniški pogoji (način vzgoje), zdravstveno stanje grozdja, stopna zrelosti grozdja, letnik
- vinifikacija (razpepljevanje, drozganje, način in trajanje maceracije, alkoholno vrenje, čas žveplanja, uporaba čistilnih sredstev)
- skladiščenje in staranje vina.

Skupne fenole delimo glede na osnovo kemijsko strukturo v dve skupini (Jackson, 2000):

- flavonoidne fenoli (flavan-3-oli, antocianini, flavonoli, proantocianidini)
- neflavonoidne fenoli (hidroksicimetne kisline, hidroksibenzojske kisline, stilbeni).

2.2.1 Flavonoidni fenoli

Flavonoidi so spojine, ki imajo 15 C-atomov in osnovno strukturo (C₆-C₃-C₆), ki se imenuje flavan oziroma 2-fenilbenzopiran. So razširjena skupina vodotopnih fenolnih spojin. V naravi dobimo flavonoide običajno kot vodotopne 3-O-glikozide, kar pomeni, da so na C-3 atomu vezani različni sladkorji (glukoza, galaktoza, arabinoza, ramnoza). Sladkorji so lahko vezani tudi na C-5 ali C-7 atomu, le redki imajo sladkor vezan na obroč B. Skupine -OH na sladkorni komponenti so lahko še zaestrene z alifatsko ali aromatsko kislino. Nesladkorni del molekule imenujemo aglikon. Razdeljen je po stopnji oksidacije C₃ enote (Abram in Simčič, 1997).



Slika 2: Osnovna strukturna formula flavonoidov (Abram, 2000)

V rastlinah so flavonoidi rdeči, beli in rumeni pigmenti cvetov, sadežev, lubja in korenin (Abram, 2000). Po zaužitju vina so vir grenkega okusa in taktilne zaznave trpkosti

(astringence) v ustih. Monomerni flavonoidi so bolj grenki, s polimerizacijo pa trpkost narašča hitreje kot grenkoba (Košmerl, 2008).

Flavonoidi so antioksidanti, ki preprečujejo peroksidacijo lipidov z lovljenjem radikalov, vezavo kovinskih ionov, lovljenjem lipidnih peroksilnih radikalov in z inhibicijo encimskih sistemov, ki katalizirajo nastanek prostih radikalov (Abram, 2000).

V vinu in rastlinskih živilih preprečujejo oksidacijo lipidov in inhibirajo nekatere hidrolitične in oksidacijske encime (fosfolipazo A2, ciklooksigenaze, lipooksigenaze) (Abram in Simčič, 1997).

So tipične spojine rdečih vin in zavzemajo več kot 85 % vseh prisotnih fenolov, v belih pa manj, okrog 20 % (Jackson, 2000).

Najbolj pogosti flavonoidi so (Bavčar, 2006):

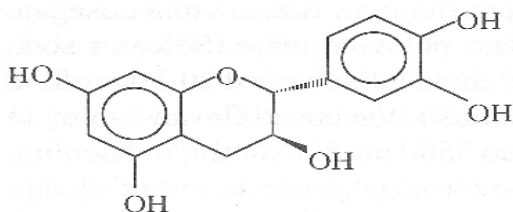
- flavan-3-oli oziroma flavanoli (katehin, epikatehin)
- antociani, to so monoglukozidi malvidina, cianidina, delfinidina, petunidina in peonidina ter njihovi pripadajoči estri, kjer je glukoza zaestrena z očetno ali p-kumarno kislino
- proantocianidini oziroma kondenzirani tanini (delfinidin, pelargonodin, cianidin)
- flavonoli, to so kvercetin, miricetin, kamferol.

Flavonoidi so zastopani v kožicah grozdnih jagod. Rdeča vina jih vsebujejo do štirikrat več kot bela. Imajo biološke učinkovine; antioksidativno in protivnetno dejavnost, zaviranje zlepljenja trombocitov, blago antimikrobno delovanje. Z rednim zmernim uživanjem vina dobi telo močne antioksidativne flavonoidne spojine, ki zmanjšujejo količino oksidiranih LDL lipoproteinov pa tudi trombotične pojave, ter tako prispevajo k izboljšanju ateroskleroze in smrti zaradi koronarne bolezni (Wondra, 1996).

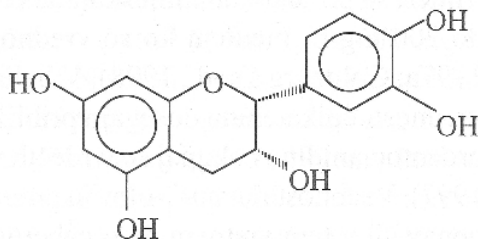
2.2.1.1 Flavan-3-oli

Monomerne in oligomerne oblike flavan-3-olov so najvažnejši fenoli v rdečih vinih. Flavan-3-ol in proantocianidini se nahajajo predvsem v trdih delih grozdne jagode (kožici, pečkah), medtem ko so njihove koncentracije v grozdnem soku zelo nizke. Zaradi tega je njihova količina vedno veliko višja v rdečih kot v belih vinih. S podaljševanjem časa maceracije se njihova koncentracija močno povečuje.

Najpomembnejša flavan-3-ola v grozdju sta monomera katehin in epikatehin (Vrhovšek, 2000).



Slika 3: Strukturna formula katehina (Vrhovšek, 2000)

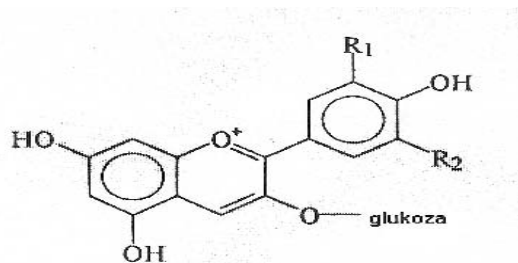


Slika 4: Strukturna formula epikatehina (Vrhovšek, 2000)

Koncentracija katehina v rdečih vinih variira med 130 do 400 mg/L, medtem ko so vrednosti epikatehina približno polovico manjše. Vsebnost flavan-3-olov in proantocianidinov je močno sortno pogojeno: cabernet sauvignon > modri pinot > merlot. Zaradi visoke antioksidativne značilnosti in visoke vsebnosti v rdečih vinih so te spojine pomembne za antioksidativne značilnosti vina (Vrhovšek, 1996).

2.2.1.2 Antociani

Antociani so skupina flavonoidnih fenolnih spojin in so odgovorni za rdečo in modro barvo, ki jo najdemo v jagodni kožici in v vinu (Vanzo in Vrhovšek, 2005). V veliki meri so prisotni tudi v listih ob koncu rastne dobe (Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Ločijo se po številu -OH skupin na aromatskem obroču B. Kisik nosi pozitiven naboj in odtod izvira tudi ionski značaj (flavilijev kation) teh spojin ter odvisnost intenzitete in odtenka rdeče barve od spreminjanja pH okolice in števila -OH skupin na obroču B (Abram in Simčič, 1997).



Slika 5: Strukturna formula antocianinov v rdečem grozdju in vinu (Vanzo in Vrhovšek, 2005)

Antociani v glavnem obstajajo v grozdju kot glukozidi, kjer je na aglikonski del (antocianidin) vezan sladkor. Glukoza antociane kemijsko stabilizira oziroma prepreči oksidacijo prostih antocianov ter poveča njihovo topnost v vodi ter omogoča nadaljnje vezave z drugimi spojinami (ocetno kislino, p-kumarno kislino in v sledovih kavno kislino) (Jackson, 2000). V grozdju in vinu žlahtne vinske trte *Vitis vinifera* se nahajajo samo monoglukozidni antocianini in njihovi aglikoni antocianidini, skupaj s p-kumarno, kavno in ocetno kislino (Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Antociani lahko vsebujejo tudi več molekul sladkorja. Večina hibridov tvori diglukozidne antociane, ki so bolj stabilni. Ta posebnost je osnova za določitev prisotnosti ne-*Vitis vinifera* sort v vinu (Bavčar, 2006). Glikozidna oblika molekule (antocianin) je veliko bolj stabilna kot njen aglikon (antocianidin) (Ribéreau-Gayon in sod., 2000), medtem ko so antioksidativne lastnosti monoglukozidov in aglikomov enake, se antocianidini razlikujejo v antioksidativnih lastnostih glede na število OH-skupin na B-obroču. Antocianidini z dvema oziroma tremi prostimi hidroksilnimi skupinami na B-obroču (delfinidin, cianin, petunidin) so zastopani v vini v manjših količinah, vendar imajo višjo antioksidativno aktivnost kot glavna predstavnika malvidin in peonin, ki imata samo eno prosto OH-skupino v B-obroču (Vrhovšek, 1996).

Preglednica 2: Antociani v vinu (Vanzo in Vrhovšek, 2005)

Ime antociana	R ₁	Funkcionalna skupina
cianidin	H	OH
peonidin	H	OCH ₃
delfinidin	OH	OH
petunidin	OH	OCH ₃
malvidin	OCH ₃	OCH ₃

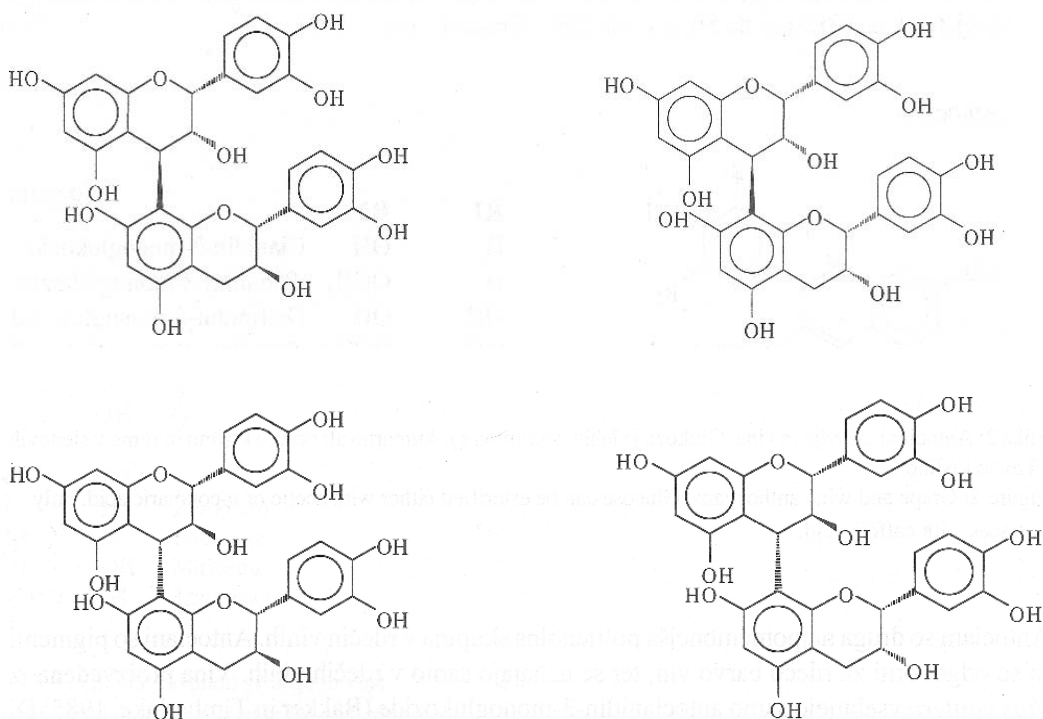
Molekule antocianov so kemijsko zelo nestabilne in podvržene razbarvanju. Rdeče barvne snovi se ob prisotnosti kisika iz zraka oksidirajo (rdeča barva prehaja v rjavo) in preidejo v koloidno obliko (usedlina rdečega vina) (Zoecklein in sod., 1999; Muhar in Košmerl, 2005). Koncentracija prostih oblik antocianov, ki so obarvane ali neobarvane, je odvisna od vrednosti pH, prisotnosti SO₂ in drugih dejavnikov. Pri nižjem pH je barva vina rubinasto rdeča, pri višjem pa prehaja v modro. Ob prisotnosti večje koncentracije SO₂ vino posvetli, vendar je intenziteta barve reverzibilna (Jackson, 2000; Muhar in Košmerl, 2005). Antociani hitro reagirajo s polimeriziranimi tanini. Na ta način dobimo stabilno rdečo barvo (Zoecklein in sod., 1999).

V odvisnosti od vrednosti pH in SO₂, se antociani v vinu nahajajo v štirih oblikah (Vrščaj Vodošek in Košmerl, 2005):

- kot rdeč flavilijev kation
- moder kalkon
- modra kinonska baza
- brezbarvna karbinol psevdobaza.

2.2.1.3 Proantocianidini

Proantocianidini so s polimerizacijo flavan-3-olov pridobljena skupina oligomernih in polimernih polifenolov (Vrhovšek in sod., 2001). Dimeri flavan-3-olov so znani kot proantocianidna skupina B (B₁, B₂, B₃, B₄), trimeri pa so proantocianidini skupine C (C₁, C₂) (Vrhovšek, 1996). Znano je, da so proantocianidini močni antioksidanti in lovilci prostih radikalov (Vrhovšek in sod., 2001).



Slika 6: Strukturne formule proantocianidinov B₁, B₂, B₃ in B₄ (dimeri katehina) (Vrhovšek, 2000)

Proantocianidini so pomembne sestavine vina, ki so odgovorne za senzorične lastnosti; predvsem grenkobo, trpkost in telo vina. Senzorične in farmakološke lastnosti so v veliki meri odvisne od njihove strukture, zlasti od stopnje polimerizacije. Nizkomolekularni proantocianidini so bolj grenki, medtem ko so visokomolekularni bolj trpki (astringentni).

Polimerizacija med antocianidini in proantocianidini je pomembna za stabilizacijo barve vina, saj so na ta način antocianidini zaščiteni pred oksidacijo in ostalimi kemijskimi spremembami. Sama polimerizacija je pomembna tudi za stabilizacijo proantocianidinov v vinu, saj so antocianidini zaradi molekule glukoze bolj topni v vinu kot proantocianidini. S stopnjo polimerizacije so povezani tudi pozitivni učinki teh spojin na človekovo telo (Vrhovšek in sod., 2001).

Proantocianidini se nahajajo v jagodni kožici rdečih sort, iz katere se ekstrahirajo med alkoholno fermentacijo. Izjema je modri Pinot, za katerega je značilno pomanjkanje

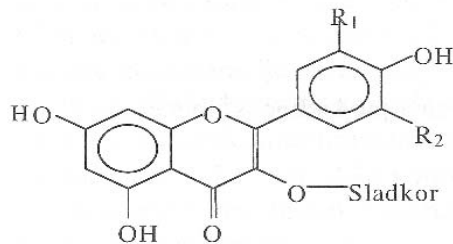
proantocianidinov v kožici, kar ima za posledico manjšo intenzivnost in slabo stabilnost barve (Košmerl in sod., 2001).

Stopnja ekstrakcije proantocianidinov je odvisna od (Vrhovšek in sod., 2001):

- vsebnosti proantocianidinov v grozdju
- časa in temperature maceracije
- programa potapljanja klobuka
- vsebnosti alkohola in SO₂.

2.2.1.4 Flavonoli

Flavonoli se nahajajo kot 3-glikozidi. Posamezne spojine se ločijo med seboj na substituentne, ki so vezani na benzenov obroč na mestu 3 in 5 (Zoecklein in sod., 1999).



Slika 7: Strukturna formula flavonolov (Vrhovšek, 2000)

Preglednica 3: Flavonoli v vinu (Vrhovšek, 2000)

Ime flavonola	Funkcionalna skupina	Funkcionalna skupina
kamferol	H	H
kvercetin	OH	H
miricetin	OH	OH
izoramnetin	OCH ₃	H

Najpomembnejša flavonola sta kvercetin-3-glukuronid in kvercetin -3-glukozid, ki se nahajata v pecljevini in jagodni kožici (Vrhovšek, 2000). Glikozidi kvercetina absorbirajo ultravijolično sevanje in posledično proizvajajo zaščito proti škodljivim UV učinkom (Jackson, 2000). Vsebnost flavonolov je sortno pogojena. Njihova koncentracija se s staranjem zmanjšuje (Vrhovšek, 2000).

2.2.2 Neflavonoidni fenoli

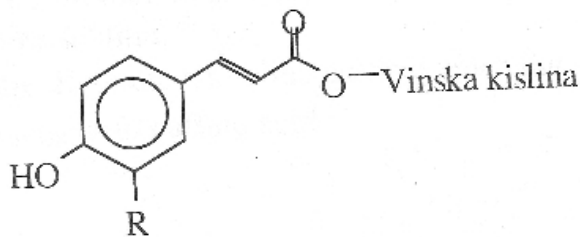
Neflavonoidi iz grozdja so derivati hidroksicimetnih in hidroksibenzojevih kislin ter stilbenov. Nahajajo se v celičnih vakuolah kože grozdne jagode iz katere se ekstrahirajo s stiskanjem. Najbolj zastopani in poznani so derivati hidroksicimetnih kislin, ki so vezani na sladkorje, alkohole ali kisline. Med njimi je največ estrov vinske kisline s kavno, *p*-kumarna in ferulno kislino, to so: kaftarna, kutarna in fertarna kislina (Jackson, 2000; Bavčar 2006).

Razdelitev neflavonoidov na naslednje podskupine (Vrhovšek, 2000):

- hidroksicimetne kisline (kaftarna, kutarna, fertarna, kavna, *p*-kumarna, ferulna)
- hidroksibenzojske kisline (galna, vanilijeva, siringinska)
- stilbeni (resveratrol).

2.2.2.1 Hidroksicimetne kisline

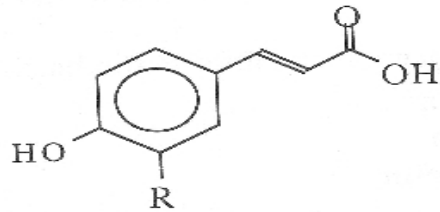
Hidroksicimetne kisline so najpomembnejša skupina neflavomoidov v rdečih in belih vinih in najpomembnejši polifenoli belih vin. Hidroksicimetne kisline so v grozdju glavni polifenoli grozdnega soka in zaradi tega glavni polifenoli belega vina pridelanega brez maceracije (Vrhovšek, 2000).



Slika 8: Strukturna formula estra hidroksicimetnih kislin v vinu (Vrhovšek, 2000)

Preglednica 4: Estri hidroksicimetnih kislin v vinu (Vrhovšek, 2000)

Ime hidroksicimetne kisline	Funkcionalna skupina
kaftarna kislina	OH
kutarna kislina	H
fertarna kislina	OCH ₃



Slika 9: Strukturna formula hidrosicimetnih kislin v vinu (Vrhovšek, 2000)

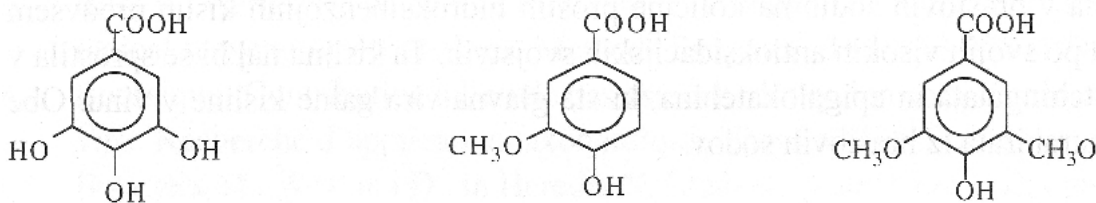
Preglednica 5: Hidrosicimetne kisline v vinu (Vrhovšek, 2000)

Ime hidrosicimetne kisline	Funkcionalna skupina
kavna kislina	OH
<i>p</i> -kumarna kislina	H
ferulna kislina	OCH ₃

Grozdje vsebuje estre prostih hidrosicimetnih kislin, saj prostih kislin v grozdju ni. Le-te se tvorijo zaradi esterazne aktivnosti med vinifikacijo, njihova koncentracija pa je odvisna tudi od tehnologije in skladiščenja vina. Vsebnosti prostih kislin so v vinu precej nižje od zaestrenih oblik (Vrhovšek, 1996).

2.2.2.2 Hidrosibenzojske kisline

Glavne proste hidrosibenzojeve kisline v rdečih vinih so galna, vanilijeva in siringinska (Vrhovšek, 2000).

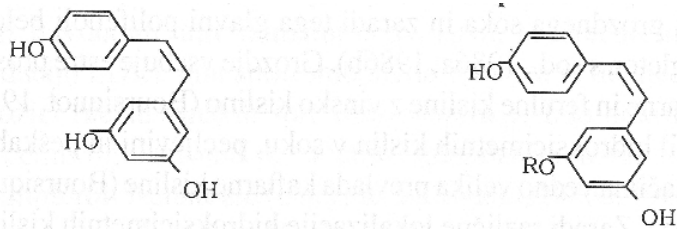


Slika 10: Strukturne formule galne, vanilijeve in siringinske kisline (Vrhovšek, 2000)

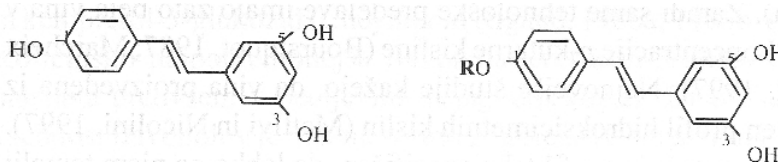
Galna kislina je glavna hidrosibenzojna kislina v rdečih vinih, vsebuje tri proste hidroksilne skupine, zaradi česar je ta kislina močan antioksidant. Ekstrahira se iz grozdnih pečk, sama ekstrakcija je razmeroma počasna in višje vrednosti lahko dosežemo z daljšim časom maceracije, medtem ko sta siringinska in vanilijeva kislina ekstrahirani iz jagodne kožice in iz celičnega soka (Vrhovšek, 2000).

2.2.2.3 Stilbeni

Glavni predstavnik stilbenov je resveratrol, ki se za razliko od vseh ostalih polifenolov v vinu poleg grozdja nahaja samo še v arašidih. Resveratrol je v grozdju predvsem v glukozidni obliki (*cis*- in *trans*-glukozid resveratrola), medtem ko se v vinu nahaja v prosti obliki (*cis*- in *trans*-resveratrol) (Vrhovšek, 2000).



Slika 11: Strukturna formula *cis*-resveratrola in *cis*-glukozid resveratrola (Vrhovšek, 2000)



Slika 12: Strukturna formula *trans*-resveratrola in *trans*-glukozid resveratrola (Vrhovšek, 2000)

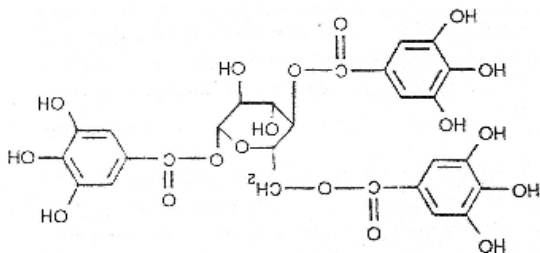
V grozdju se resveratrol nahaja predvsem v jagodni kožici, zato se njegova koncentracija med maceracijo hitro povečuje. Posledica tega je veliko večja koncentracija resveratrola v rdečih kot belih vinih.

Na koncentracijo resveratrola v vinu vpliva stopnja dozorelosti grozdja, način vinifikacije, način dozorevanja oziroma skladiščenja vina (temperatura, vlažnost), sama sinteza resveratrola pa je močno sortno pogojena (Vrhovšek, 2000).

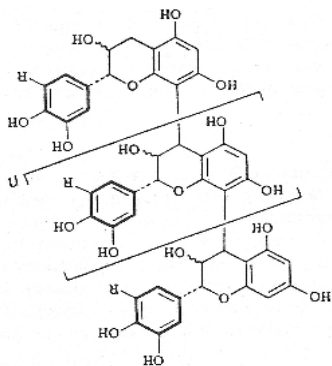
2.3 TANINI

Tanini predstavljajo polimerizirane molekule fenolnih spojin s proteini ali polisaharidi. V rdečih vinih imajo velik vpliv na okus in barvo vina. Ločimo hidrolizabilne in kondenzirane tanine (Vrščaj Vodošek in Košmerl, 2005).

- Hidrolizabilni tanini se vežejo z beljakovinami s hidrofobnimi interakcijami. Sem uvrščamo galno in elagovo kislino poznano kot galotanini ali elagotanini. Izvor hidrolizabilnih taninov predstavlja lesena posoda ali dodatek enoloških taninov (Košmerl, 2008). V grozdju niso prisotni, vendar pa so zelo pomembni pri zorenju vina (Vrščaj Vodošek in Košmerl, 2005).
- Kondenzirani tanini se povezujejo z vodikovimi vezmi (Košmerl, 2008). Poznani so kot proantocianidini, ki predstavljajo polimere flavan-3-olov ali katehinov (Vrščaj Vodošek in Košmerl, 2005). Nahajajo se v jagodni kožici in pečkih (Košmerl, 2008).



Slika 13: Strukturna formula hidrolizabilnega tanina (Jackson, 2000)



Slika 14: Strukturna formula kondenziranega tanina (Jackson, 2000)

V času zorenja grozdja se povečuje vsebnost taninov in antocianov. S stopnjevanjem zorenja grozdja se celične membrane postopoma degradirajo in omogočajo sproščanje barvil. V grozdnih pečkih se količina ekstrahibilnih taninov zmanjšuje s stopnjevanjem zorenja grozdja. Zrelo grozdje ima jagodno kožico bogato z tanini in antociani ter jagodne pečke, ki so revne s taninskimi snovmi. Ekstrakcija (izluževanje) taninov je počasnejše od izluževanja antocianov. Odvisno je od krhkosti membran celičnih sten. Bolj kot je zrelo grozdje, bolj so krhke celične stene, več taninskih snovi se lahko izluži. Ker so tanini

vezani na proteine in polisaharidne membrane, je njihova ekstrakcija brez alkohola majhna in težavna (Nemanič in sod., 1997).

Na intenzivnost okusa in zaznave vpliva količina, medtem ko oblika taninov vpliva na kakovost. Po končani alkoholni fermentaciji je stopnja polimerizacije taninov majhna, kar pomeni, da bodo le-ti agresivni na okusu. Govorimo o zelenih taninih. V prvi fazi zorenja vina so molekule še vedno premajhne, zato ostaja še vedno trd okus zaradi agresivnih oziroma trdih taninov. Z nadaljevanjem zorenja pa prihaja do večje polimerizacije, molekule so večje in tanini postajajo mehki, izgublja se grenkoba vina in povečuje polnost. Tanini postajajo mehki. Pri predolgem zorenju vina tanini postanejo preveliki in preidejo v koloidno strukturo. Za ta vina je značilno, da so vodena ali slečena.

Vsebnost taninov je v rdečih vinih večja kot v belih, kar omogoča daljšo življenjsko dobo vina oziroma kasnejši kvar. Večina rdečih vin pa zato potrebuje daljši čas zorenja (Košmerl, 2008).

2.4 BARVA RDEČIH VINSKIH SORT

Parametra, ki karakterizirata vino sta barva in astringentnost. Za mlado vino je značilna rdečo-vijolična barva, ki se s staranjem vina spremeni v opečno rjavo (Macheix in sod., 1990).

Barva rdečega vina je direktno povezana s sestavo antocianov v grozdju (Macheix in sod., 1990), ki se vežejo v obarvane komplekse med samimi antociani 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. Intenziteta barve se povečuje s povečanjem koncentracije antocianov in z višjim razmerjem koncentracij med kopigmenti in antociani. Obarvanost vina je odvisna od pH in prostega žveplovega dioksida, ki skupaj določata ravnotežje med možnimi oblikami antocianov glede na naboj oziroma ionizacijsko sevanje. V večini ionizacijskih stanj so antociani neobarvani. Nižji pH pomeni več flavilijevega kationa in zato bolj intenzivno rdečo barvo.

Med maceracijo pride do vezave antocianov s tanini. Reakcija polimerizacije se začne že med alkoholno fermentacijo in poteka, dokler niso vezani vsi razpoložljivi antociani. Reakcija je odločilna za stabilizacijo barve rdečih vin. Vezava s tanini zaščiti molekulo antocianidina pred oksidacijo, zmanjša izločanje taninov in prepreči razbarvanje zaradi višjega pH in dodatka žveplovega dioksida. Omogoča večjo obarvanost, saj je več antocianov obarvanih, če so vezani s tanini. Zaradi možnosti oksidacije prostih antocianov in večje razpoložljivosti proantocianidinov je zaželen hitra polimerizacija ter poznejša kopigmentacija z drugimi fenolnimi spojinami. V prisotnosti acetaldehida je polimerizacija še hitrejša, kar opazimo pri zračnem pretoku mladih rdečih vin. V vino na ta način vnesemo nekaj kisika, kar vodi v avtooksidacijo fenolov in tvorbo vodikovega peroksida, kateri oksidira etanol v acetaldehid. Acetaldehid pospeši polimerizacijo, saj reagira z

antocianom in nastali produkt se veže s proantocianidinom. Na ta način se v vinu poveča barvna stabilnost, hkrati pa se veže prosti acetaldehid, ki bi lahko kvaril vonj vina.

Barva se z zorenjem spreminja s povečanjem števila polimeriziranih antocianov. Med nastalimi polimeri prevladuje odtenek rjave barve, zato vino pridobiva bolj opečnate odtenke, istočasno pa intenziteta barve upada. Vzrok je izginjanje prostih antocianov, izguba polimerov s sesedanjem in vezavo s proteini ter spremembe na polimerih, ki postopoma izgubljajo barvo (Jackson, 2000; Bavčar, 2006). Posledica tega je zmanjšanje absorbanca pri 520 nm in povečanje pri 420 nm (Macheix in sod., 1990).

2.5 DODATKI PRI PREDELAVI GROZDJA

2.5.1 Encimi

Encimski preparati pomagajo in pospešijo potek naravnih procesov z okrepitevijo lastne encimske aktivnosti grozdja in kvasovk, kar omogoča boljšo kontrolo nad procesom pridelave vina (Košmerl, 2006). Uporabljajo se encimi, ki se že nahajajo v grozdju, dodajamo pa jih v drozgo in mošt.

V vinarstvu se uporabljajo predvsem:

- **pektolitični encimi**, ki hidrolizirajo pektin. Pektin je sestavljen iz galakturonske kisline, povezane z glikozidnimi vezmi, nekatere karboksilne kisline pa so zaestrene z metanolom (Bavčar, 2006). Skupaj s celulozo, hemicelulozo in ligninom predstavljajo pektinske snovi, ki so del celične stene grozdne jagode. Celici dajejo trdnost, čvrstost in obliko. Pretrganje teh struktur olajša ekstrakcijo posameznih komponent iz trdih delov grozdne jagode, kar pospeši bistrenje mošta in izboljša filtracijo vina ter omogoča hitrejšo ekstrakcijo barvnih in aromatičnih snovi iz jagodne kožice.

Pektinske snovi so s strukturnega stališča heteropolisaharidi, ki predstavljajo glavno komponento srednjih lamel in primarnih celičnih sten višjih rastlin. Odgovorni so za raztezanje celic, mehčanje rastlinskega tkiva med zorenjem in skladiščenjem ter za razpad rastlinskega materiala. Pektolitični encimi grozdja tako prispevajo k spremembam vsebnosti pektinskih snovi med dozorevanjem grozdja.

Komercialno dostopne pektolitične encime uporabljamo v vinarstvu z namenom:

- povečanja izplena grozdnega soka z razgradnjo strukturnih polisaharidov, ki ovirajo ali preprečujejo ekstrakcijo
- sproščanja barvnih snovi iz jagodne kožice
- sproščanja aromatičnih snovi iz jagodne kožice
- izboljšanja bistrenja mošta in filtrabilnosti vina

Večina komercialnih preparatov pektolitičnih encimov je pridobljena iz plesni vrste *Aspergillus niger* (Košmerl, 2006).

- **glukozidaze**, ki se uporabljajo za cepitev glikozidov. V moštu in drozgi so v tej obliki predvsem terpeni (za sorte rumeni muškat, renski rizling, traminec) in antociani v rdečem grozdju. Uspešno delujejo pri sortah, kjer imajo terpeni pomembno vlogo pri aromi vina. Delujejo tako, da hidrolizirajo glikozidno vez in vezane terpene spremenijo v hlapno prosto obliko. V rdečih vinih z dodatkom glukozidaz in posledično cepitvijo sprostimo antociane iz glikozidov, kar pomeni razbarvanje, saj niso več topni in so izpostavljeni hitri oksidaciji. V tem primeru se glukozidaze uporabljajo celo za odstranitev barve.
- **glukanaze**, ki se pojavijo predvsem v grozdju kot posledica delovanja plesni *Botrytis cinerea*. Povzročajo težave pri filtraciji in se ne vežejo na dodana čistila (Bavčar, 2006).

2.5.2 Žveplov dioksid (SO₂)

Žveplov dioksid je glavni konzervans v vinarstvu, ki se uporablja za antimikrobno in antioksidativno zaščito vina (Salaha in sod., 2008). Uporablja se 5-6 % raztopina žveplove (IV) kisline (H₂SO₃), kalijev bisulfit (K₂S₂O₅), plinski SO₂ ali žveplenica. Glavni namen dodatka žveplovega dioksida v mošt ali vino je:

- preprečevanje aktivnosti oksidacijskih encimov, predvsem polifenoloksidaz
- vezava s porabniki kot so acetaldehid, piruvat, ketoglutarat, antociani, sladkorji
- preprečevanje in zadrževanje reakcij porjavenja
- preprečevanje rasti nezaželenih mikroorganizmov, predvsem bakterij iz rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus* ter ne-*Saccharomyces* kvasovk (Bavčar, 2006)

Žveplov dioksid, raztopljen v moštu ali vinu, se obnaša kot kislina, kar se kaže v treh različnih disociacijskih oblikah, kateri delež je odvisen od pH vrednosti:

- molekularna oblika (SO₂) je glavna oblika pri pH vrednosti nižji od 1,86
- bisulfitna oblika (HSO₃⁻) je glavna oblika pri pH vrednosti med 1,86-7,18
- sulfitna oblika (SO₃²⁻) je glavna oblika pri pH vrednostih višjih od 7,18

Največ žveplovega dioksida je v moštu in vinu v obliki bisulfitnega iona, delež ostalih oblik pa je odvisen od pH vrednosti posameznega vzorca.

Molekularna oblika je pomembna zaradi antimikrobnega delovanja hkrati pa je tudi senzorično zaznavna z vonjanjem (Košmerl, 2000). V rdečih vinih naj bo zaradi razvoja oziroma polimerizacije fenolnih spojin med zorenjem med 15 in 20 mg/L prostega žveplovega dioksida, v belih do 25 mg/L. Koncentracija prostega SO₂ nad 45 mg/L zavira zorenje vina (Bavčar, 2006).

Bisulfitna oblika je s stališča kletarjenja najmanj pomembna zaradi reakcij vezave žvepla s porabniki, ki nastanejo med alkoholnim vrenjem: acetaldehidom, keto-kislinami, oksidiranimi fenolnimi spojinami, antociani in glukozo. Ti produkti so α -hidroksi sulfonati, ki vplivajo na vezano obliko SO₂. Njihova lastnost je, da so mikrobiološko in kemijsko

stabilni. Pozitiven vidik vezave žvepla je senzoričen, saj preprečuje porjavenje in tvorbe rjavih pigmentov zaradi delovanja encimov.

Sulfitna oblika deluje kot antioksidant, čeprav je prisotna v izredno majhnih koncentracijah (od 0,006 % pri pH 3,0 do 0,06 % pri pH 4,0). Reakcija sulfitnega iona s kisikom je dokaj hitra in upočasnjuje oksidacijo fenolnih spojin ob tvorbi kinonov, tvorbi acetaldehida in rjavih pigmentov (Košmerl, 2000).

2.5.3 Enološki tanini

Tržno dostopni enološki tanini se razlikujejo:

- glede na ekstrakcijsko metodo, s katero so pridobljeni
- po čistosti
- po času dodatka med vinifikacijo
- po izvoru (les, jagodne kožice, pečke)
- po stopnji ožganosti
- po stopnji oksidacije

Večina enoloških taninov je ekstrahiranih z vodo ali paro, sušenih in zmletih. Sodiijo med naravna sredstva za konzerviranje vina, ker reagirajo s kisikom in s tem ščitijo vino pred oksidacijo. Na razpolago imamo:

- encime za ekstrakcijo barvnih snovi, ki jih dodajamo v drozgo
- hrano za kvasovke za rdeča vina
- enološke tanine, ki jih dodajamo med alkoholno fermentacijo
- enološke tanine, ki jih dodajamo po alkoholni fermentaciji
- tanine, ki jih dodamo pri zaključenem zorenju vina ali tik pred stekleničenjem

Enološki tanini, ki se uporabljajo v vinarstvu so:

- galotanini proti antioksidativnemu delovanju in za obdelavo belih prečiščenih vin
- elagotanini, ki prispevajo k strukturi vina ter zmanjšanju oziroma popolni odstranitvi reduktivnih vonjev
- proantocianidini, ki so selekcionirani za specifično kakovost vina na podlagi zmanjšanja trpkosti ter za obogatitev vina s polifenoli na osnovi povečanja vsebnosti taninov
- proantocianidini in elagotanini za stabilizacijo barve, proti antioksidativnemu delovanju, za povečanje intenzivnosti in popolnosti okusa pri zorenju vina na osnovi zmanjšanja trpkosti ter za upočasnitev oksidacije in staranju vina med zorenjem v leseni posodi.

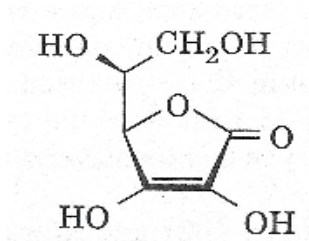
Enološke tanine uporabljamo (Košmerl, 2008):

- pred začetkom alkoholne fermentacije pri drozganju v primeru okuženega grozdja z botritisom, drugimi plesni ali gnilega grozdja. V tem primeru se izkorišča njihova lastnost preprečevanja delovanja oksidacijskih encimov
- med alkoholno fermentacijo, kjer preprečujejo oksidacijo in stabilizirajo barvo
- med zorenjem vina za stabilizacijo barve in zaščita pred oksidacijo, s čimer prispeva k izboljšanju strukture vina.

2.5.4 Askorbinska kislina

Zaradi antioksidativne lastnosti je vitamin C ali L-askorbinska kislina v živilski industriji vsestransko uporaben, predvsem kot konzervans, ki ohranja barvo, aromo in teksturo proizvodov ter izboljša obstojnost prehrabnih izdelkov. Kot antioksidacijsko sredstvo ga dodajajo pri proizvodnji piva, sadnih sokov, vina, konzerviranega sadja in zelenjave, pri prekajevanju mesnih izdelkov, v industriji moke za povečanje pecilne kvalitete in videza kruha (Bender, 1993; Rudan-Tasič, 2000).

Kemijsko je askorbinska kislina lakton 2-keto-L-gulonske kisline. Močno izražene kisle lastnosti kažeta enolni hidroksilni skupini, ki sta vezani na C-2 in C-3 atom (Rudan-Tasič, 2000).



Slika 15: Strukturna formula askorbinske kisline (Hoffmann-La Roche Inc., 1992)

V vinarstvu askorbinsko kislino uporabljajo kot antioksidant, samostojno ali v kombinaciji z SO₂. Askorbinska kislina reagira s kisikom in na ta način zmanjša encimsko aktivnost polifenoloksidaz ter s tem zadrži začetek porjavenja, ne povzroči pa inhibicije encimske aktivnosti oziroma protimikrobnega delovanja. Vpliva tudi na zmanjšanje koncentracije prostega SO₂ zaradi tvorbe vodikovega peroksida v vinu. Običajno se dodaja v koncentracijah od 50-200 mg/L (Košmerl, 2009).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 NAČRT DELA

Analizirali smo mlada rdeča vina letnika 2007 iz belokranjskega vinorodnega okoliša, vinorodne dežele Posavje. Izbrali smo sorti portugalka in modra frankinja ter zvrst metliška črnina. Vsa vina so bila pridelana v vinski kleti KZ Metlika.

V mladih rdečih vinih smo spektrofotometrično določali antioksidativni potencial, koncentracijo skupnih fenolnih spojin, neflavonoidov in netaninov ter iz razlik med skupnimi fenoli in neflavonoidi/netanini izrazili vrednost flavonoidov/taninov. V nadaljevanju smo spektrofotometrično določali tudi vsebnost antocianov ter merili barvne parametre pri valovni dolžini 420 nm, 520 nm in 620 nm s pomočjo katerih smo izračunali intenziteto in ton barve, delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa ter delež rdeče barve pri omenjenih valovnih dolžinah. Določali smo tudi koncentracijo hlapnih kislin ter vsebnost prostega in skupnega žveplovega dioksida. Analiziranemu vzorcu smo podali oznako osnovno vino (OV). Po končani analizi, smo mlada rdeča vina zaščitili z izbranimi enološkimi sredstvi (žveplov dioksid, kalijev kazeinat, hrana za kvasovke za rdeča vina in preparat enoloških taninov), jih pustili zoreti mesec dni ter ponovili prej omenjene analize. Vse analize petnajstih vzorcev pri posameznih sortah/zvrsteh smo opravili v treh ponovitvah ter po enomesečnem zorenju osnovnega vina (kontrolni vzorec) primerjali antioksidativni potencial, vsebnost fenolnih spojin in barvne parametre v primerjavi z osnovnim vinom ter na ta način ugotavljali vpliv dodanih enoloških sredstev na zorenje vina.

3.2 MATERIAL

3.2.1 Enološka sredstva

Assotan

Assotan je antioksidant s širokim spektrom delovanja, ki ščiti pred oksidacijo in ohranja karakteristike vina.

Anticasse FN

Anticasse FN predstavlja kurativni in preventivni produkt proti oksidaciji, ki se priporoča za tretiranje oksidiranih vin. V samem vinu obnovi svežino in barvo ter prepreči nadaljnjo oksidacijo.

Opti-red

Je proizvod inaktivne kvasne biomase za rdeča vina. Povečuje količino polisaharidov, ki so sposobni vezati reaktivne tanine in oskrbuje mošt z α -aminokislinami, vitamini in minerali.

Tanenol rouge

Je tanin za rose in rdeča vina, ki je zelo učinkovit pri stabilizaciji barve, večanju strukture in pospeševanju bistrenja. Rumeno rjav prah daje aromo po lesu.

Preglednica 6: Opis uporabljenih enoloških sredstev v vzorcih vina

Enološka sredstvo	Okrajšava	Sestava sredstva	Doziranje (g/hL)	Količina v vzorcu (g/hL)	Proizvajalec
Assotan	žveplo	K-metabisulfit (50%) askorbinska kislina (30 %) francoski tanin (20 %)	po potrebi	10	Esseco S.p.A., Italija
Anticasse FN	kazeinat	K-bikarbonat (50 %) K-metabisulfit (25 %) kazeinat (15 %) askorbinska kislina (10 %)	20-60	40	Esseco S.p.A., Italija
Opti-red	hrana	hrana za kvasovke za rdeča vina	30	30	Danstar Ferment AG, Švica za Lallemand Inc. Europe.
Tanenol rouge	tanin	mešanica hidrolizabilnih in kondenziranih taninov	10-20 (maceracija) 5-15 (čiščenje)	10	Esseco S.p.A., Italija

3.2.2 Laboratorijska oprema

- UV-VIS spektrofotometer za določanje skupnih fenolov, flavonoidov in neflavonoidov, taninov in netaninov, antocianov ter barvnih parametrov
- spektrofotometer za določanje antioksidativnega potenciala
- destilacijska naprava (D.E.E. Gibertini)
- generator pare (VADE, Gibertini)
- centrifuga
- mikrocentrifugirka
- pH meter
- birete (25 mL, 50 mL)
- merilne pipete (1 mL, 5 mL, 10 mL)
- polnilne pipete (1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL, 25 mL)
- merilne bučke (10 mL, 25 mL, 100 mL, 1000 mL)
- erlenmajerica s širokim vratom (250 mL)
- epruvete
- steklene kivete (10 mm)
- plastične kivete (10 mm)
- ependorfke
- filter z velikostjo por 0,45 μ m
- kapalka
- puhalka z deionizirano vodo

3.2.3 Reagenti

- osnovna raztopina galne kisline: v 100 mL merilno bučko natehramo 500 mg galne kisline, dodamo 10 mL absolutnega alkohola in razredčimo do oznake z deionizirano vodo
- Folin-Ciocalteujev reagent: pred uporabo ga razredčimo v razmerju 1:3 z deionizirano vodo
- 20 % raztopina Na₂CO₃
- HCl (1:4)
- Formaldehid : 2,16 mL formaldehida razredčimo z deionizirano vodo do končnega volumna 100 mL
- 0,4 % metilceluloza: 0,4 g metilceluloze razredčimo z deionizirano vodo do končnega volumna 100 mL
- Nasičen (NH₄)SO₄
- 0,1 % HCl v etanolu: v 500 mL bučko odpipetiramo 1,38 mL koncentrirane HCl in do oznake dopolnimo s 95 % etanolom
- 2 % raztopina HCl: v 1000 mL bučko odpipetiramo 45,23 mL koncentrirane HCl in razredčimo z deionizirano vodo do oznake

- DPPH (2,2-difenil-pikrilhidrazil): v 100 mL bučko zatehtamo 4 mg DPPH* ter dodamo 20 mL metanola. Ob merjenju absorbance dodajamo toliko metanola, da ima izmerjena absorbanca vrednosti med 1,0-1,05. S tem dobimo standardno raztopino.
- metanol
- izhodna raztopina joda: 12,9 g joda in 25 g kalijevega jodida raztopimo v 100 mL deionizirane vode; prenesemo v 1000 mL merilno bučko in z deionizirano vodo dopolnimo do oznake
- 0,01 M raztopina joda: 200 mL izhodne raztopine joda razredčimo z deionizirano vodo do končnega volumna 1000 mL
- raztopina Na₂S₂O₃ (za standardizacijo 0,01 M raztopine joda): v 100 mL merilno bučko natehtamo 300 mg natrijevega tiosulfata, ki ga raztopimo v 50 mL deionizirane vode; dodamo noževo konico natrijevega hidrogenkarbonata in dopolnimo do oznake z deionizirano vodo.
- raztopina H₂SO₄ (1+3): previdno dodamo 1 volumski del koncentrirane kisline k 3 volumskim delom deionizirane vode
- 1 % raztopina škrobovice kot indikator: 10 g škroba raztopimo s segrevanjem do vrenja v 500 mL deionizirane vode, s katero dopolnimo do oznake 1000 mL bučke.
- 0,1 M raztopina NaOH: 4,005 g NaOH natehtamo v 1000 mL merilno bučko in dopolnimo z deionizirano vodo do oznake
- 1 M raztopina NaOH: 40,05 g NaOH natehtamo v 1000 mL merilno bučko in dopolnimo z deionizirano vodo do oznake
- 1 % raztopina fenolftaleina koz indikator: 1 g fenolftaleina raztopimo v 100 mL 80 % v/v etanola
- 50 % raztopina vinske kisline
- 20 % raztopina protipenilca

3.3 METODE DELA

3.3.1 Antioksidativni potencial

Antioksidativni potencial (AOP) smo določili s stabilnim prostim radikalom DPPH^{*} (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) (Brand-Williams in sod., 1995), kateremu smo dodali metanol do adsorbance približno 1,0. Ko alkoholna raztopina DPPH^{*} reagira z antioksidantom, se tvori reducirana oblika DPPH₂ kar povzroča spremembo barve iz vijolične v rumeno ter padec absorbance pri valovni dolžini 515 nm. Bolj kot se absorbanca zmanjša, večji antioksidativni potencial ima vino. Za analizo smo razredčili 50 µL vzorca vina (R=20) ter mu dodali 1,5 mL raztopine DPPH^{*}. Referenčne raztopine smo pripravili tako, da smo zmešali 1,5 mL raztopine DPPH^{*} in 50 mL metanola. Pripravljene vzorce smo dobro premešali in po 30 minutah izmerili absorbanco pri 515 nm, kjer je absorpcijski maksimum. Izračunali smo razliko absorbanc med referenčno raztopino in vzorcem, ki je proporcionalna antioksidacijskemu potencialu vina; bolj kot se absorbanca zmanjša, večji antioksidacijski potencial ima vino. Iz poznanega molarnega ekstincijskega koeficienta DPPH^{*} (Molyneux, 2004; Košmerl in sod., 2005) in ob upoštevanju razredčitve smo izračunali AOP in ga izrazili kot množino reduciranega DPPH^{*} na liter vina (mmol/L) (Košmerl in sod., 2005).

3.3.2 Določanje koncentracije skupnih fenolov

Vsebnost fenolnih spojin smo določili spektrofotometrično pri valovni dolžini 765 nm. V 100 mL merilno bučko odpipetiramo 1 mL vzorca vina (R=10), dodamo približno 60 mL deionizirane vode, 5 mL razredčenega Folin-Ciocalteu in 15 mL 20% raztopine natrijevega karbonata. Premešamo in dopolnimo do 100 mL z deionizirano vodo ter po 2 urah izmerimo absorbanco pri 765 nm (Košmerl in Kač, 2004). Koncentracijo skupnih fenolov v vzorcu smo odčitali iz umeritvene krivulje, ki smo jo pripravili z galno kislino s koncentracijo od 0-500 mg/L (Košmerl in sod., 2005). Rezultat izrazimo kot koncentracijo galne kisline (mg/L) (Košmerl in Kač, 2004).

3.3.3 Določanje koncentracije netaninov in taninov

Vsebnost netaninov smo določili spektrofotometrično pri valovni dolžini 765 nm (Boulton in sod., 1996); 2 mL vzorca vina dodamo 1 mL raztopine metil celuloze in 2 mL nasičenega amonijevega sulfata. Dopolnimo do 10 mL z deionizirano vodo ter vse skupaj centrifugiramo 10 minut pri 4000 obratih/minuto. Supernatant analiziramo po postopku za določanje skupnih fenolov in rezultat odčitamo iz umeritvene krivulje skupnih fenolov. Koncentracijo taninov določimo iz razlike med skupnimi fenoli in netanini (Košmerl in sod., 2005). Rezultat izrazimo kot koncentracijo galne kisline (mg/L).

3.3.4 Določanje koncentracije neflavonoidov in flavonoidov

Vsebnost neflavonoidov smo določili spektrofotometrično pri valovni dolžini 765 nm (Boulton in sod., 1996). Vzorcju vina (10 mL) dodamo raztopino klorovodikove kisline (10 mL) in formaldehida (5 mL), premešamo in po 24 urah prefiltriramo. Filtratu (1 mL) dodamo Folin-Ciocalteu (5 mL) in naprej postopamo enako kot za določanje skupnih fenolov. Rezultat odčitamo iz umeritvene krivulje skupnih fenolov, koncentracijo flavonoidov pa določimo iz razlike med skupnimi fenoli in neflavonoidi (Košmerl in sod., 2005). Rezultat izrazimo kot koncentracijo galne kisline (mg/L).

3.3.5 Določanje koncentracije antocianov

Vsebnost antocianov smo določili spektrofotometrično (Boulton in sod., 1996). Za določanje antocianov smo pripravili dve epruveti po 1 mL vzorca vina. V prvo smo dodali zakisano raztopino etanola (1 mL) in vodno raztopino klorovodikove kisline (10 mL), v drugo pa zakisano raztopino etanola (1 mL) in pufer s pH 3,5 (10 mL). Epruvete smo postavili v temo in po eni uri obema raztopinama izmerimo absorbanco pri 520 nm. Vsebnost antocianov (mg/L) smo izračunali po formuli iz razlike absorbanco. (Košmerl in sod., 2005).

$$c \text{ (mg/L)} = (A_1 - A_2) \cdot 386,596 \quad (9)$$

kjer A_1 pomeni absorbanca pri dodatku HCl, A_2 absorbanca pri dodatku pufra, 386,596 pa empirični faktor.

3.3.6 Določanje barvnih parametrov

Razredčenemu vzorcju vina ($R=10$) izmerimo absorbance pri valovnih dolžinah 420, 520 in 620 nm. Osnovne barvne parametre: intenziteta barve, ton barve, delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa (dA_F) ter delež rdeče barve pri posameznih valovnih dolžinah (420 nm, 520 nm in 620 nm) izračunamo s pomočjo formul (Košmerl in Kač, 2004).

Intenziteta barve:

$$I = \Sigma (A_{420} + A_{520} + A_{620}) \quad (10)$$

Ton barve:

$$\text{ton} = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

Delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa:

$$dA_F (\%) = \left(A_{520} - \frac{(A_{420} + A_{620})}{2} \right) \times \frac{1}{A_{520}} \times 100 \quad (12)$$

Delež (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm:

$$dA_{420} (\%) = \frac{A_{420}}{I} \times 100 \quad (13)$$

Delež (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm:

$$dA_{520} (\%) = \frac{A_{520}}{I} \times 100 \quad (14)$$

Delež (%) rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm:

$$dA_{620} (\%) = \frac{A_{620}}{I} \times 100 \quad (15)$$

3.3.7 Določanje koncentracije hlapnih kislin

V destilacijsko bučko odpipetiramo 20 mL vzorca vina, dodamo 1 mL 50% raztopine vinske kisline in 2-3 kapljice protipenilca. Stene destilacijske bučke speremo z deionizirano vodo in destiliramo vzorec z vodno paro do končnega volumna destilata (150 mL). Sledi titracija destilata s standardizirano raztopino natrijevega hidroksida (0,1 M) ob dodatku fenolftaleina kot indikatorja. Prehod brezbarvne raztopine v svetlo rožnato mora biti obstojen vsaj 15-20 sekund. Odčitamo porabo titranta (mL) in izračunamo koncentracijo hlapnih kislin s pomočjo formule. Rezultat izrazimo kot masno koncentracijo očetne kisline (g/L) (Košmerl in Kač, 2004).

$$HK \text{ (g/L)} = a \cdot c \cdot M \cdot \frac{(50)}{1000} \approx a \cdot 0,3 \quad (16)$$

kjer je a poraba titranta (mL), c koncentracija NaOH, M molska masa očetne kisline (60,05 g/mol) in 50 razredčitveni faktor.

3.3.8 Določanje koncentracije prostega SO₂ po Ripperju

Metoda temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda. Vzorec vina (25 mL) po dodatku (5 mL) škrobovice kot indikatorja nakisamo z raztopino žveplove(VI) kisline (5 mL) in titriramo s standardizirano raztopino joda do modre barve, obstojne približno 20 sekund. Koncentracijo prostega SO₂ (mg/L) izračunamo s pomočjo formule. (Košmerl in Kač, 2004).

$$C_{\text{SO}_2}(\text{mg/L}) = \frac{a \cdot c_{\text{I}_2} \cdot M \cdot 1000}{n \cdot v} \approx a \cdot 25,6 \quad (17)$$

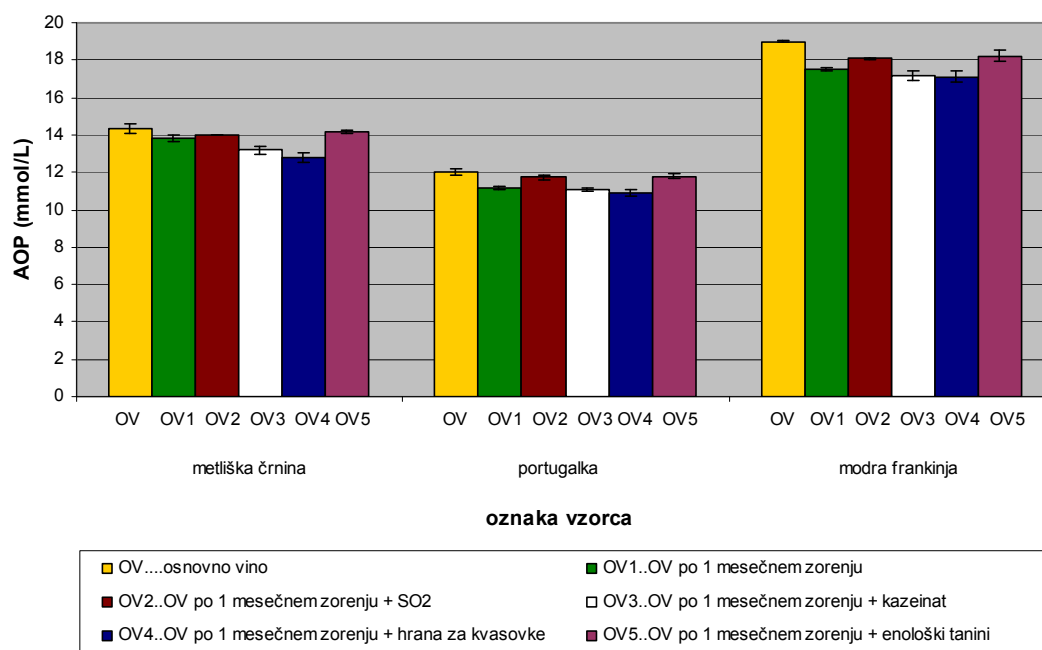
v kateri pomeni **a** volumen standardizirane raztopine joda (mL), **c** (I_2) koncentracija joda, **M** molska masa SO_2 , **n** molsko razmerje kemijske reakcije med jodom in žveplovim dioksidom ($n = 1$) in **v** volumen vzorca vina.

3.3.9 Določanje koncentracije skupnega SO_2 po Ripperju

Metoda temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda. Vzorcju vina (25 mL) najprej dodamo natrijev hidroksid (25 mL) ter počakamo 10 minut, da poteče reakcija hidrolize vezanega žveplovega dioksida. Dodamo škrobovico (5 mL) kot indikator in nakisamo z raztopino žveplove(VI) kisline (10 mL) ter titriramo s standardizirano raztopino joda do modre barve, obstojne približno 20 sekund. Koncentracijo skupnega SO_2 izračunamo na enak način kot koncentracijo prostega SO_2 .

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI DOLOČANJA ANTIOKSIDACIJSKEGA POTENCIALA (AOP)



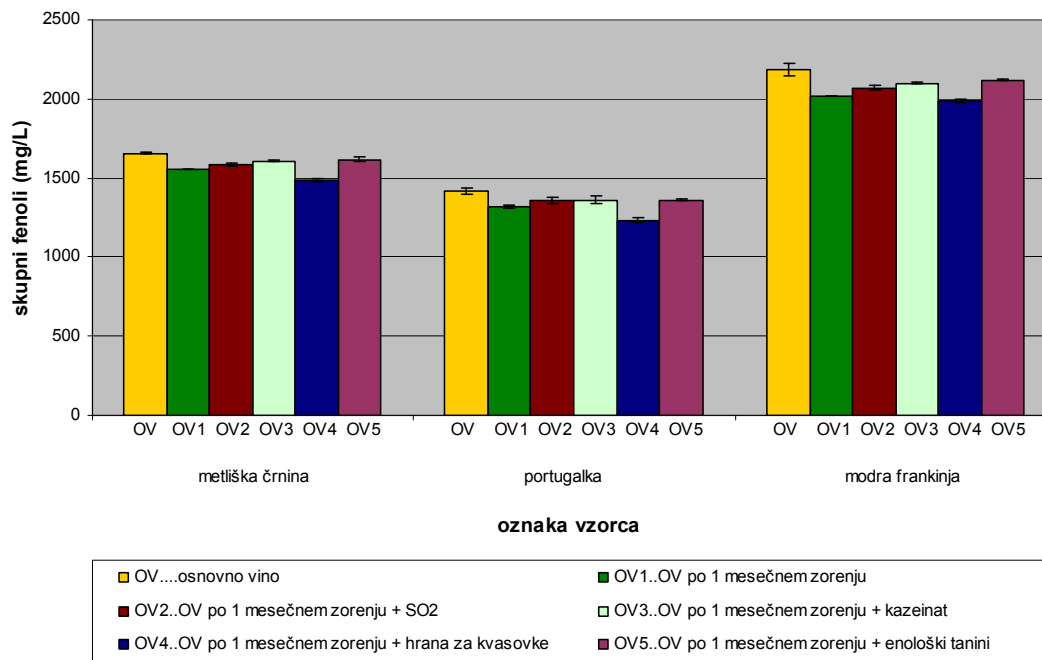
Slika 16: Povprečni antioksidativni potencial (AOP) po posameznih sortah v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 16 so prikazani povprečni antioksidativni potenciali (AOP) pri posameznih sortah/zvrsteh, izraženi v mmol/L DPPH vina. Vsak stolpec na sliki prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišji antioksidativni potencial (AOP) ima osnovno vino sorte modra frankinja (19,00 mmol/L), najnižji pa vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke (10,90 mmol/L).

Iz slike 16 je razvidno zmanjšanje AOP v vseh vzorcih vina po enomesečnem zorenju in v vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. V vzorcih, kjer sta bila dodana hrana za kvasovke in kazeinat, so vrednosti najnižje, medtem ko je dodatek enološkega tanina in SO₂ najbolj ohranil AOP pri vseh treh sortah/zvrsteh v primerjavi z osnovnim vinom. Pri tem so vrednosti ob dodatku enološkega tanina za spoznanje višje.

4.2 REZULTATI DOLOČANJA MASNIH KONCENTRACIJ SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN (SKUPNI FENOLOV)



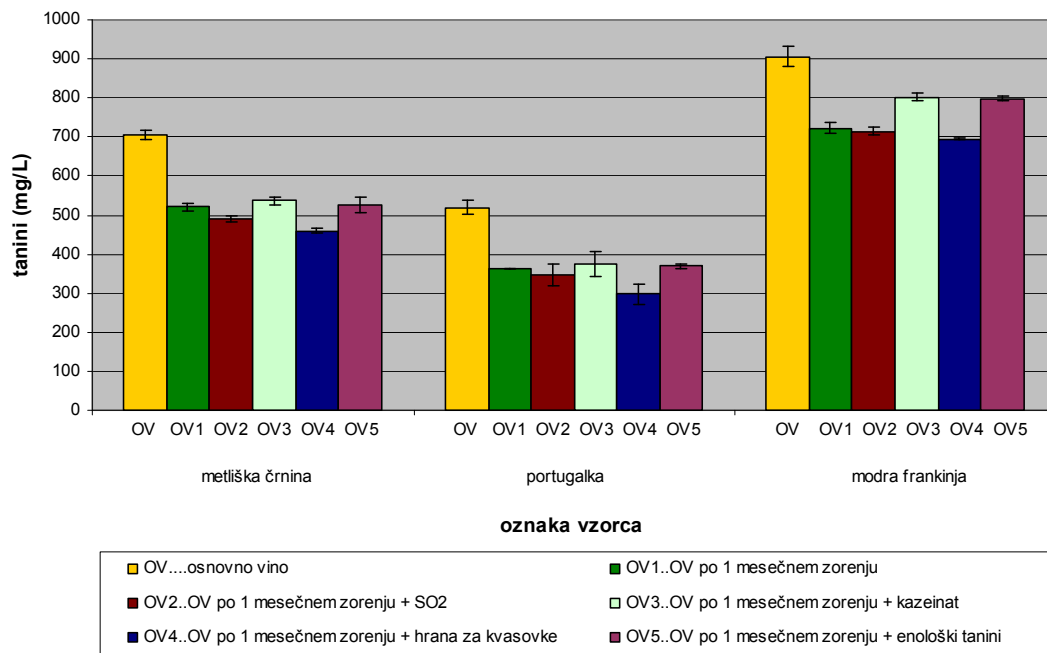
Slika 17: Povprečna koncentracija skupnih fenolnih spojin (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 17 so prikazane povprečne koncentracije skupnih fenolnih spojin pri posameznih sortah/zvrsteh, izražene v mg/L galne kisline vina. Vsak stolpec na sliki prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišjo koncentracijo skupnih fenolov ima osnovno vino sorte modra frankinja (2188 mg/L), najnižjo pa vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke (1235 mg/L).

Iz slike 17 je razvidno zmanjšanje skupnih fenolov v vseh vzorcih vina po enomesečnem zorenju in v vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Pri tem imajo vina z dodatkom hrane za kvasovke najnižje vrednosti, medtem ko je dodatek enološkega tanina najbolj ohranil koncentracijo skupnih fenolov v primerjavi z osnovnim vinom. Dodatek SO₂ in kazeinata sta ohranila višjo koncentracijo skupnih fenolov v vseh treh vinih v primerjavi z osnovnim vinom po enomesečnem zorenju. Pri tem so vrednosti ob dodatku kazeinata za spoznanje višje.

4.3 REZULTATI DOLOČANJA MASNIH KONCENTRACIJ TANINSKIH FENOLOV (TANINOV)



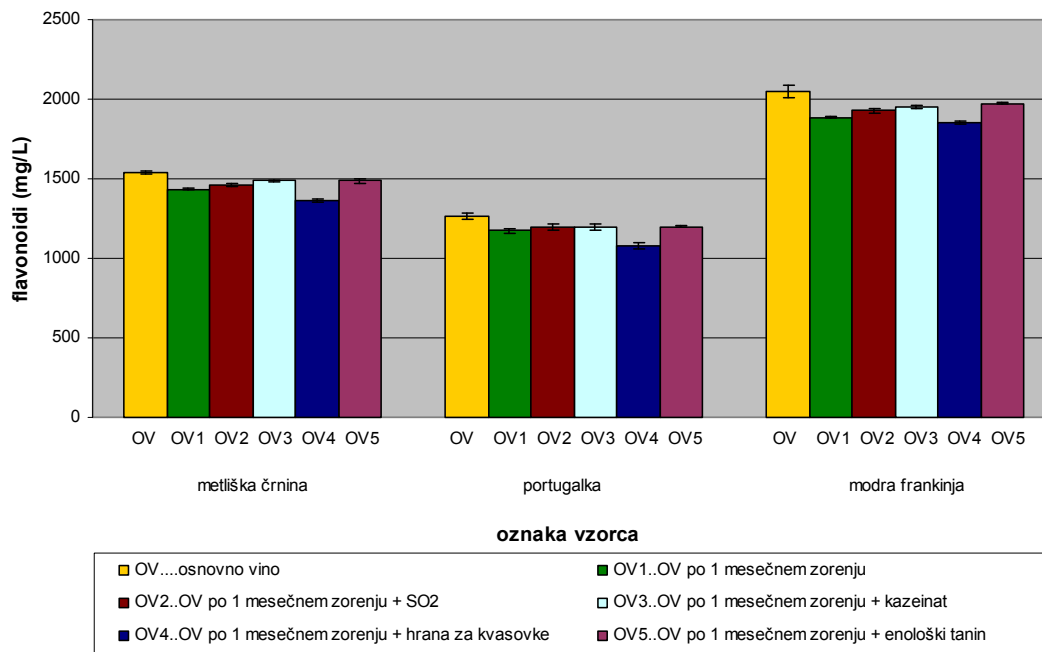
Slika 18: Povprečna koncentracija taninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 18 so prikazane povprečne koncentracije taninov pri posameznih sortah/zvrsteh, izražene v mg/L galne kisline vina. Vsak stolpec na sliki prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišjo koncentracijo taninov ima osnovno vino sorte modra frankinja (906 mg/L), najnižjo pa vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane (297 mg/L).

Iz slike 18 opazimo precejšnji padec koncentracije taninov v vseh vzorcih vina po enomesečnem zorenju in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Dodatka enološkega tanina in kazeinata sta ohranila najvišjo koncentracijo taninov, medtem ko v vinih z dodatkom SO_2 in hrane za kvasovke opazimo največji padec koncentracije taninov v primerjavi z osnovnim vinom. Pri tem so vrednosti ob dodatku hrane za kvasovke za spoznanje nižje.

4.4 REZULTATI DOLOČANJA MASNIH KONCENTRACIJ FLAVONOIDNIH FENOLOV (FLAVONOIDOV)



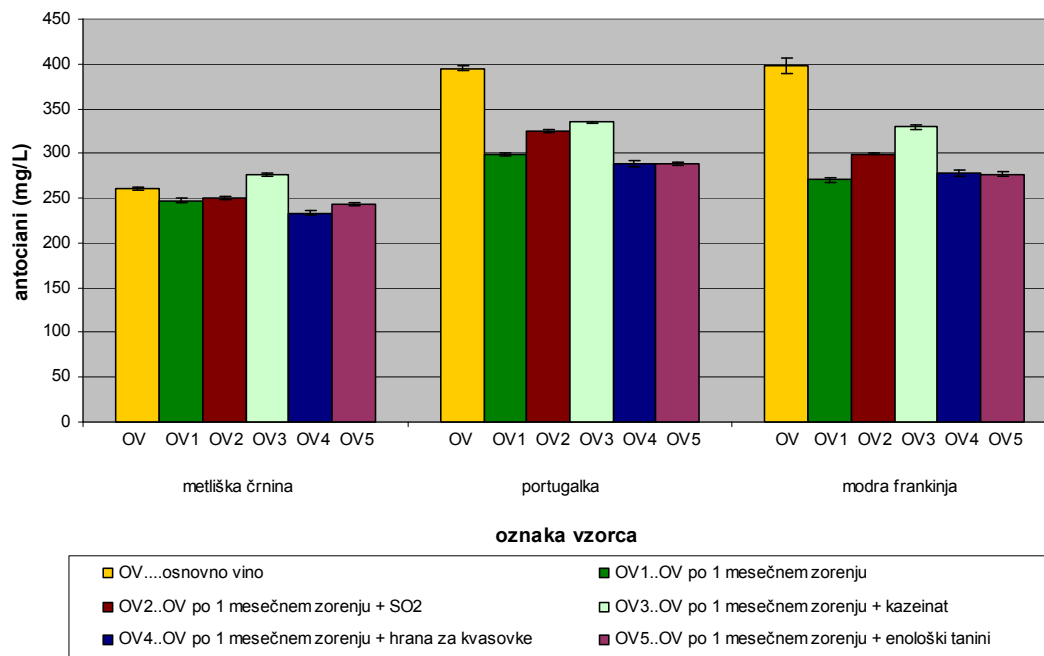
Slika 19: Povprečna koncentracija flavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 19 so prikazane povprečne koncentracije flavonoidov pri posameznih sortah/zvrsteh, izražene v mg/l galne kisline vina. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišjo koncentracijo flavonoidov ima osnovno vino sorte modra frankinja (2050 mg/L), najnižjo pa vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane (1198 mg/L).

Iz slike 19 je razvidno zmanjšanje koncentracije flavonoidov v vseh vzorcih vina po enomesečnem zorenju in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Največji padec flavonoidov opazimo pri dodatku hrane za kvasovke, medtem ko je dodatek SO₂ ohranil višjo koncentracijo flavonoidov od osnovnega vzorca po enomesečnem zorenju. Tako dodatek enološkega tanina, kot tudi dodatek kazeinata sta najbolj ohranila koncentracijo flavonoidov v primerjavi z osnovnim vinom.

4.5 REZULTATI DOLOČANJA MASNIH KONCENTRACIJ ANTOCIANOV



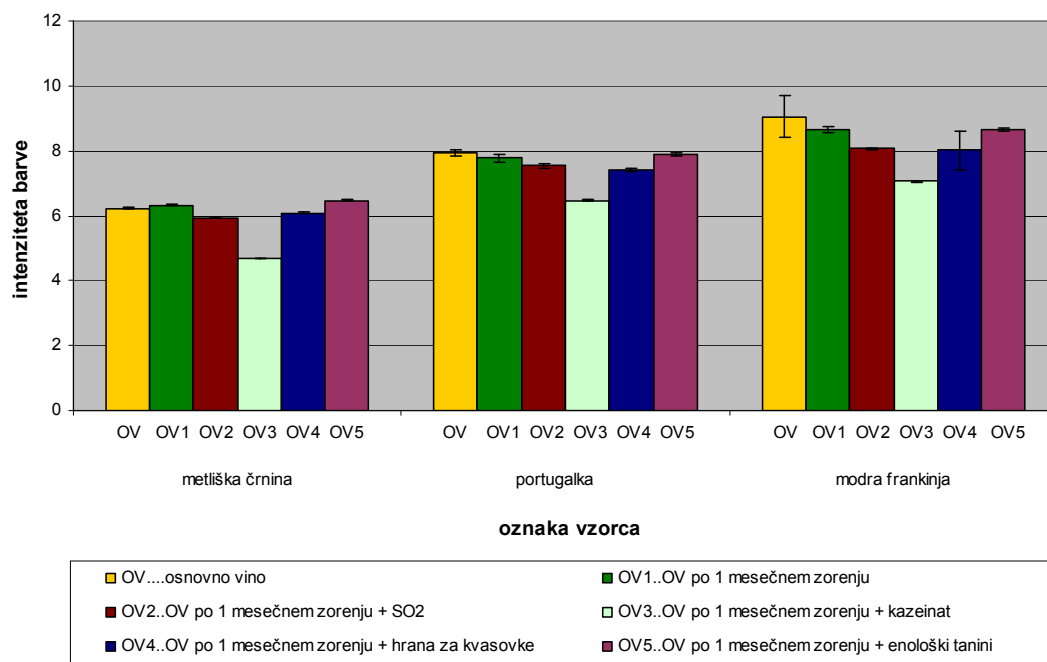
Slika 20: Povprečna koncentracija antocianov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 20 so prikazane povprečne koncentracije antocianov pri posameznih sortah/zvrsteh, izražene v mg/L vina. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišjo koncentracijo antocianov ima osnovno vino sorte modra frankinja (398 mg/L), najnižjo pa vino zvrsti metliška črnina po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane (233 mg/L).

Iz slike 20 je razvidno, da se je v vseh sortah/zvrsteh koncentracija antocianov zmanjšala v osnovnih vinih po enomesečnem zorenju v primerjavi z osnovnim vinom. Največje zmanjšanje opazimo pri sorti modra frankinja, medtem ko je zmanjšanje pri zvrsti metliška črnina minimalno. Dodatek hrane za kvasovke in enološkega tanina je najbolj znižal koncentracijo antocianov v primerjavi z osnovnim vinom pri metliški črnini in portugalki. Pri modri frankinji je le-ta najnižja pri osnovnem vinu po enomesečnem zorenju. Vrednosti ob dodatku SO₂ so bolje ohranile koncentracijo antocianov v primerjavi z osnovnim vinom po enomesečnem zorenju, dodatek kazeinata pa je najbolj ohranil koncentracijo antocianov pri modri frankinji in portugalki v primerjavi z osnovnim vinom, medtem ko je vzorec metliške črnine celo presegel vrednost osnovnega vina.

4.6 REZULTATI DOLOČANJA INTENZITETE BARVE



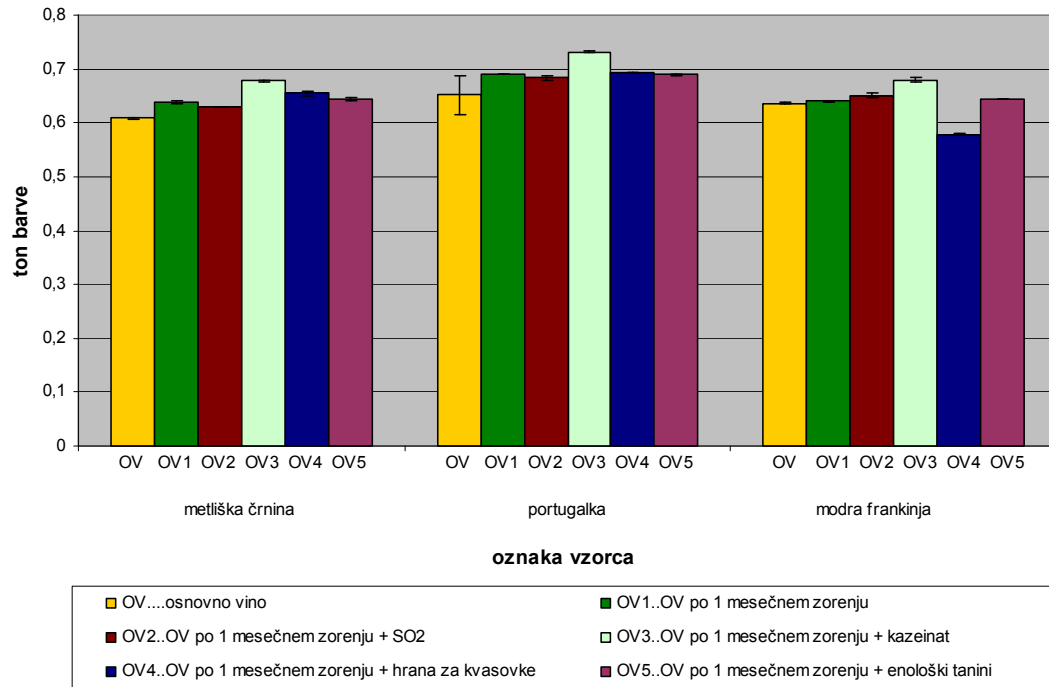
Slika 21: Povprečna intenziteta barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 21 so prikazane povprečne vrednosti intenzitete barve pri posameznih sortah/zvrsteh, izražene kot vsota absorbanc pri valovnih dolžinah 420nm, 520 nm in 620 nm. Intenziteta ali gostota barve je vrednost, ki nam pove kako močno vidimo barvo. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišjo intenziteto barve ima osnovno vino sorte modra frankinja (9,057), najnižjo pa vino zvrsti metliška črnina po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (4,677).

Iz slike 21 je razvidno zmanjšanje intenzitete barve v vseh vzorcih vina po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Dodatek kazeinata je najbolj znižal intenziteto barve. Zmanjšanje je lahko posledica vezave kazeinata na mesta, ki so namenjena vezavi antocianov na fenole. S tem je preprečena tvorba kompleksa antocian-tanin, ki je odgovoren za tvorbo stabilne barve. Najboljše ohranjanje intenzitete barve opazimo pri osnovnih vinih po enomesečnem zorenju in v vinih z dodatkom enološkega tanina. Pri metliški črnini opazimo celo povečanje intenzitete po enomesečnem zorenju v primerjavi z osnovnim vinom.

4.7 REZULTATI DOLOČANJA TONA BARVE



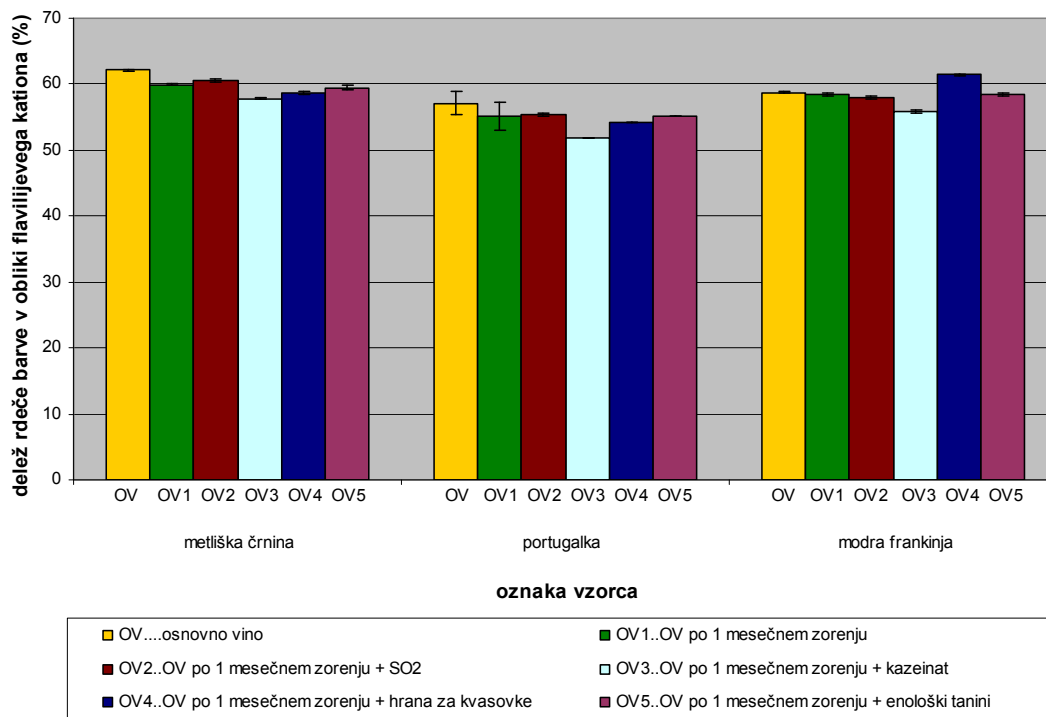
Slika 22: Povprečna vrednost tona barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 22 so prikazane povprečne vrednosti tona barve pri posameznih sortah/zvrsteh, izražene kot kvocient absorbanca pri 420 nm in 520 nm. Ton barve nam pove stopnjo oksidacije vina. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišji ton barve ima vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (0,732), najnižjo pa vino sorte modra frankinja po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane (0,578).

Iz slike 22 je razvidno, da se je ton barve pri metliški črnini in portugalki povečal v vinih po enomesečnem zorenju in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Povečan ton barve pomeni, da je prišlo v času zorenja zaradi prisotnosti kisika do oksidacije rdečih barvnih snovi in posledično do izgube barve. Dodatek SO₂ je najmanj povečal ton barve pri metliški črnini in portugalki. Izjema je sorta modra frankinja, kjer je prišlo ob dodatku hrane za kvasovke do zmanjšanja tona barve. To pomeni, da je hrana za kvasovke uspelo zaustaviti proces oksidacije v modri frankinji, kjer smo senzorično zaznali očetni cik. Dodatek hrane za kvasovke je povzročil tvorbo večjih količin polisaharidov, ki vežejo reaktivne tanine. Nastali kompleks polisaharid-tanin pa pomembno vpliva na stabilnost barve. Najvišjo stopnjo oksidacije smo določili pri vinih z dodatkom kazeinata.

4.8 REZULTATI DOLOČANJA DELEŽA (%) RDEČE BARVE PROSTIH IN VEZANIH ANTOCIANOV V OBLIKI FLAVILIJEVEGA KATIONA



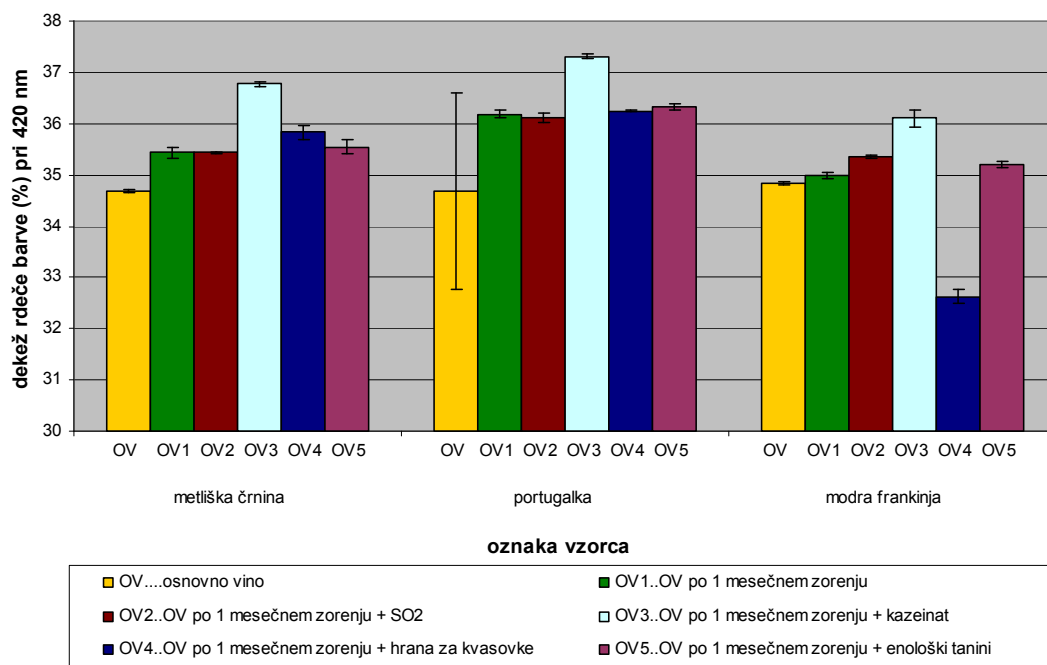
Slika 23: Delež (%) rdeče barve prostih in vezanih antocianov v obliki flavilijevega kationa (dA_F) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 23 so prikazani povprečni deleži (%) rdeče barve prostih in vezanih antocianov v obliki flavilijevega kationa pri posameznih sortah/zvrsteh. Delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa nam pove, koliko je le tega v obarvani obliki, ki jo vidimo rdeče. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Največji delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa ima osnovno vino zvrsti metliška črnina (62,16), najmanjši pa vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (51,87).

Iz slike 23 je razvidno, da se je delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa zmanjšal v vinih po enomesečnem zorenju in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema je sorta modra frankinja, kjer je dodatek hrane za kvasovke povečal delež rdeče barve nad osnovnim vinom, tvorba kompleksa polisaharid-tanin pa je pripomogla k večjemu deležu vidne rdeče barve. Delež barve se je najbolj ohranil z dodatkom SO_2 pri metliški črnini in portugalki oziroma z dodatkom enološkega tanina pri modri frankinji v primerjavi z osnovnim vinom, medtem ko je dodatek kazeinata najbolj znižal delež vidne rdeče barve v vseh treh vinih.

4.9 REZULTATI DELEŽA (%) RDEČE BARVE PRI VALOVNI DOLŽINI 420 nm



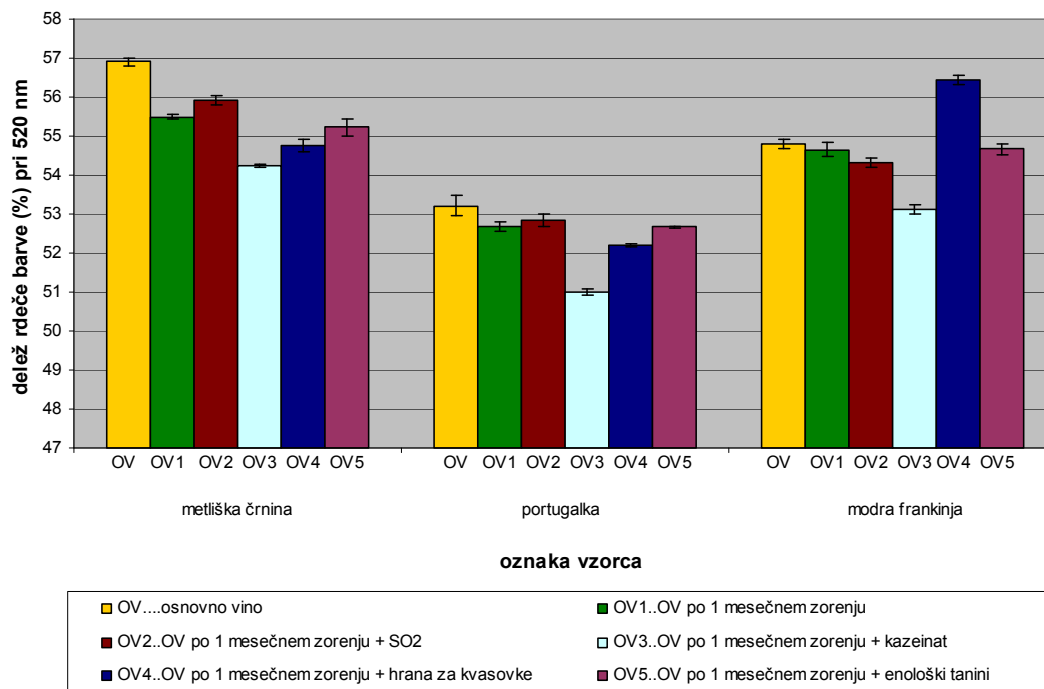
Slika 24: Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 24 so prikazani povprečni deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm pri posameznih sortah/zvrsteh. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Največji delež rdeče barve pri 420 nm ima vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (37,31), najmanjši pa vino sorte modra frankinja po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane (32,63).

Iz slike 24 je razvidno, da se je delež rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm (dA_{420}) povečal v vseh treh vinih po enomesečnem zorenju in v vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev pri metliški črnini in portugalki v primerjavi z osnovnim vinom. Višji delež rdeče barve dA_{420} kaže na oksidacijo posameznih sort/zvrsti. Osnovno vino po enomesečnem zorenju in dodatek SO₂ sta najmanj povečala delež rdeče barve dA_{420} pri metliški črnini in portugalki v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema je modra frankinja, kjer je prišlo ob dodatku hrane za kvasovke do zmanjšanja deleža rdeče barve dA_{420} , kar kaže na to, da je dodatek hrane za kvasovke v primeru modre frankinje najučinkovitejši antioksidant. V modri frankinji, kjer smo senzorično zaznali očetni cik, je tvorba kompleksa polisaharid-tanin vplivala na stabilnost barve. Najvišjo stopnjo oksidacije smo določili pri vinih z dodatkom kazeinata.

4.10 REZULTATI DELEŽA (%) RDEČE BARVE PRI VALOVNI DOLŽINI 520 nm



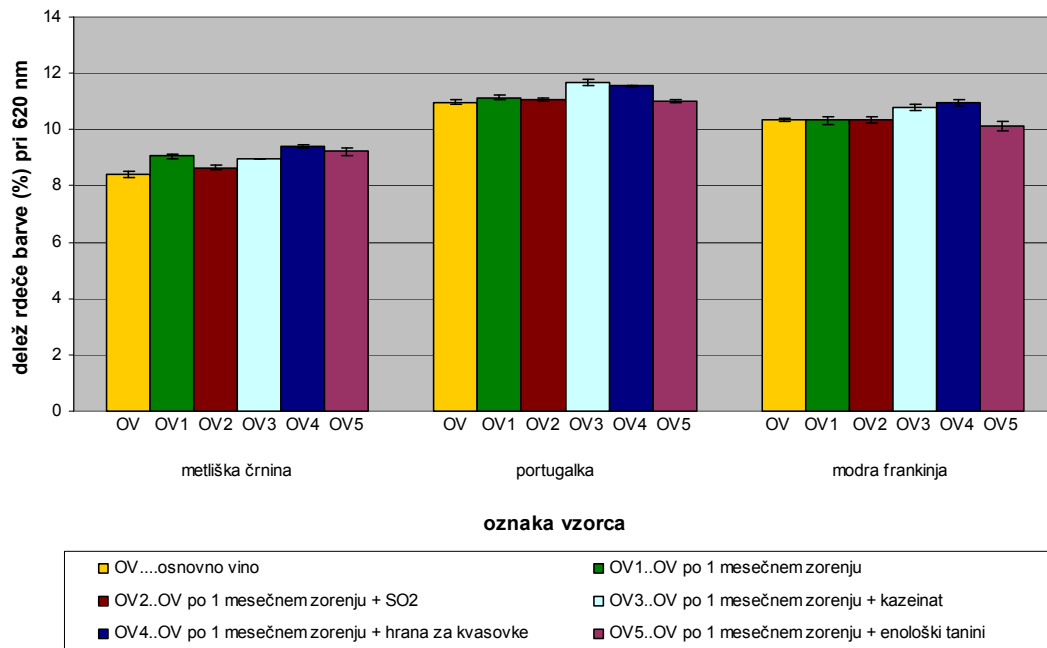
Slika 25: Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 25 so prikazani povprečni deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm pri posameznih sortah/zvrsteh. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Največji delež rdeče barve pri 520 nm ima osnovno vino zvrsti metliška črnina (56,91), najmanjšo pa vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (51,00).

Iz slike 25 je razvidno da se je delež rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm (dA_{520}) zmanjšal v vseh treh vinih po enomesečnem zorenju in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev pri metliški črnini in portugalki v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema je modra frankinja, kjer je dodatek hrane za kvasovke povečal nastanek kompleksa polisaharid-tanin ter s tem delež rdeče barve dA_{520} , ki jo zaznava človeško oko. Dodatek SO_2 je najbolj ohranil delež rdeče barve dA_{520} pri metliški črnini in portugalki oziroma enološki tanin pri modri frankinji v primerjavi z osnovnim vinom. Največji padec rdeče barve opazimo pri dodatku kazeinata pri vseh treh vinih.

4.11 REZULTATI DELEŽA (%) RDEČE BARVE PRI VALOVNI DOLŽINI 620 nm



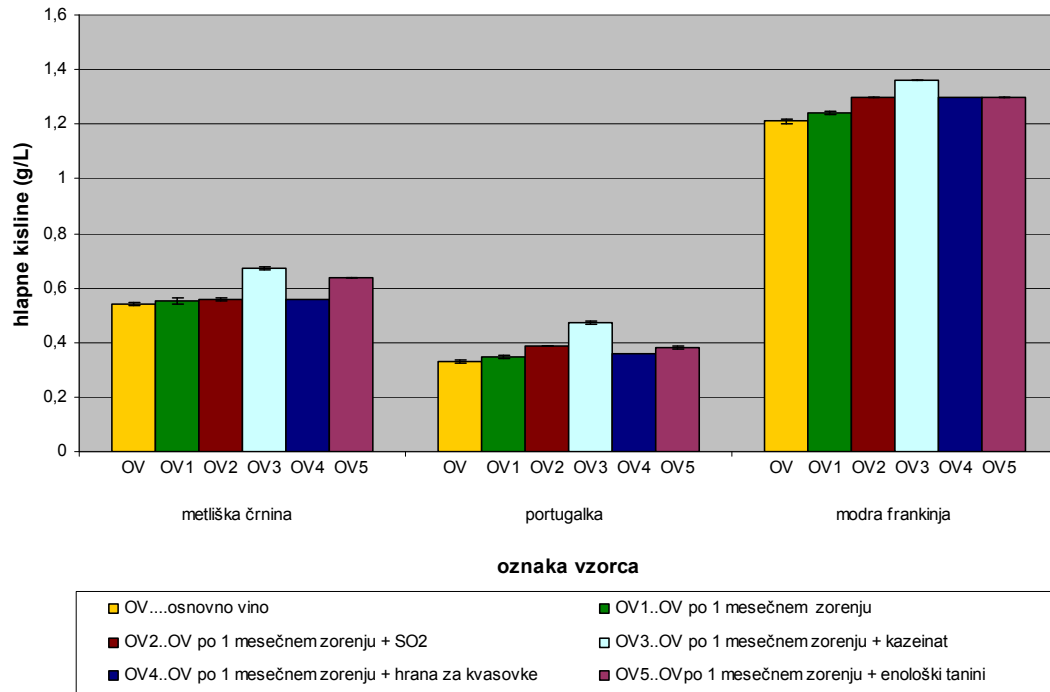
Slika 26: Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 26 so prikazani povprečni deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm pri posameznih sortah/zvrsteh. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Največji delež rdeče barve pri 620 nm ima vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (11,69), najmanjši pa osnovno vino zvrsti metliška črnina (8,39).

Iz slike 26 je razvidno, da se je delež rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm (dA_{620}) povečal v vinih po enomesečnem zorenju in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema je modra frankinja, kjer je ob dodatku enološkega tanina prišlo do znižanja deleža rdeče barve dA_{620} . Dodatka kazeinata in hrane za kvasovke sta najbolj povečala delež barve pri portugalki in modri frankinje, medtem ko ima metliški črnini najvišje vrednosti pri dodatku hrane za kvasovke v primerjavi z osnovnim vinom. Pri portugalki in modri frankinji lahko rečemo, da se je delež rdeče barve dA_{620} ohranil pri dodatku enološkega tanina in SO₂ v primerjavi z osnovnim vinom, medtem ko je dodatek enološkega tanina ohranil delež rdeče barve pri metliški črnini v primerjavi z osnovnim vinom po enomesečnem zorenju.

4.12 REZULTATI DOLOČANJA HlapNIH KISLIN (g/L)



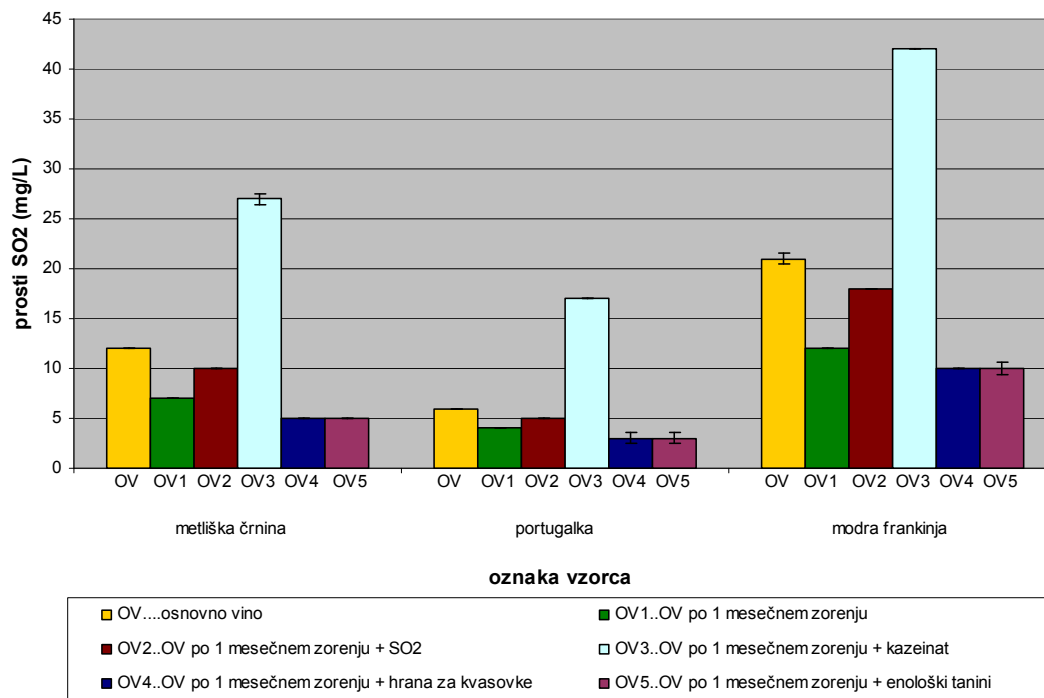
Slika 27: Povprečna koncentracija hlapnih kislin (g/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 27 so prikazane povprečne koncentracije hlapnih kislin pri posameznih sortah, izražene kot g/L očetne kisline vina. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišjo koncentracijo hlapnih kislin ima vino sorte modra frankinja po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (1,36 g/L), najnižjo pa osnovno vino sorte portugalka (0,33 g/L).

Iz slike 27 je razvidno povečanje koncentracije hlapnih kislin v vseh vzorcih vina po enomesečnem zorenju in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Zlasti visoka koncentracija hlapnih kislin pri sorti modra frankinja je verjetno posledica očetnega cika vina, ki smo ga zaznali senzorično. Dodatki SO₂, hrane za kvasovke in tanina so povečali koncentracijo hlapnih kislin v vseh treh vzorcih vin v primerjavi z osnovnim vinom po enomesečnem zorenju. Najvišjo koncentracijo hlapnih kislin smo določili pri vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata.

4.13 REZULTATI DOLOČANJA PROSTEGA SO₂ (mg/L)



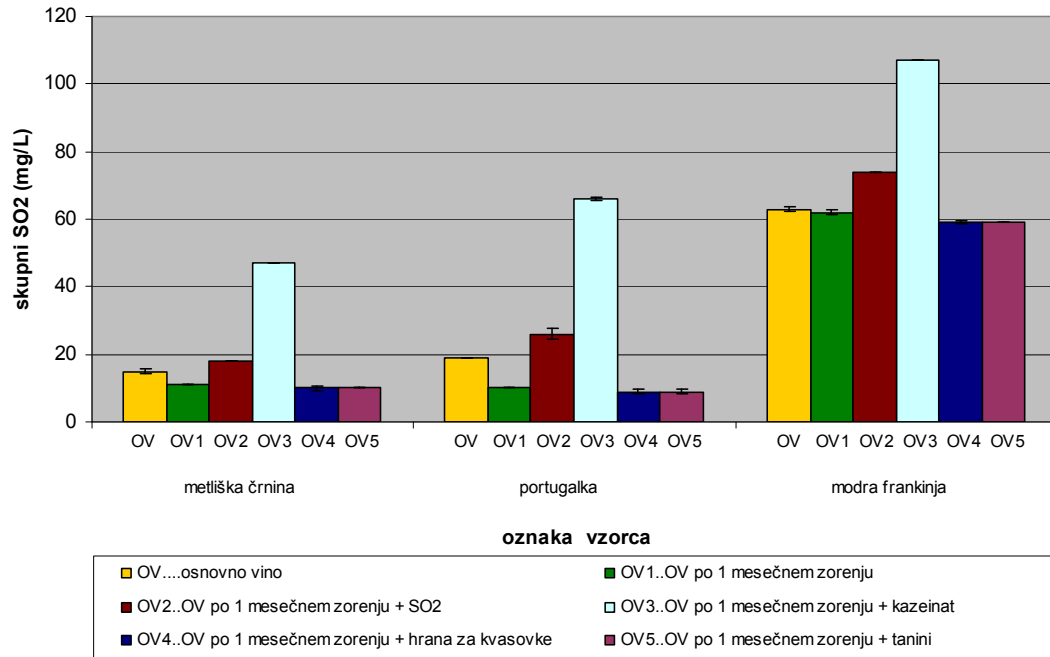
Slika 28: Povprečna koncentracija prostega SO₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 28 so prikazane povprečne koncentracije prostega SO₂ pri posameznih sortah, izražene v mg/L vina. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišjo koncentracijo prostega SO₂ ima vino sorte modra frankinja po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (42 mg/L), najnižjo pa vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom taninov in hrane (3 mg/L).

Iz slike 28 je razvidno zmanjšanje koncentracije prostega SO₂ v vseh vzorcih vina po enomesečnem zorenju in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema so vina po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata, pri katerih opazimo drastičen porast koncentracije prostega SO₂. Kazeinat kot reducent preprečuje oksidacijo v vinih. Pri tem dodatek kazeinata, kot uporabljeno enološko sredstvo proti oksidaciji, poveča vsebnost prostega SO₂ za 10 mg/L vina. V vinih z dodatkom hrane za kvasovke in enološkega tanina opazimo največji padec koncentracije prostega SO₂, medtem ko je dodatek SO₂ ohranil najvišje vrednosti prostega SO₂ v primerjavi z osnovnim vinom.

4.14 REZULTATI DOLOČANJA SKUPNEGA SO₂ (mg/L)



Slika 29 : Povprečna koncentracija skupnega SO₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Na sliki 29 so prikazane povprečne koncentracije skupnega SO₂ pri posameznih sortah/zvrsteh, izražene v mg/L vina. Rezultati so prikazani kot povprečne vrednosti. Vsak stolpec prikazuje povprečno vrednost treh meritev za vsak vzorec vina.

Najvišjo koncentracijo skupnega SO₂ ima vino sorte modra frankinja po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (107 mg/L), najnižjo pa vino sorte portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom taninov in hrane (9 mg/L).

Iz slike 29 je razvidno zmanjšanje koncentracije skupnega SO₂ v vzorcih vina po enomesečnem zorenju v primerjavi z osnovnim vinom. Največje zmanjšanje opazimo pri sorti portugalka. Dodatek SO₂ je povečal koncentracijo skupnega SO₂ v primerjavi z osnovnim vinom. Za vina po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke in enološkega taninov lahko rečemo, da so ohranile koncentracijo skupnega SO₂ v primerjavi z osnovnim vinom po enomesečnem zorenju, medtem ko je dodatek kazeinata drastično povečal koncentracijo skupnega SO₂. Kazeinat kot reducent preprečuje oksidacijo v vinih, sam dodatek enološkega sredstva pa poveča vsebnost skupnega SO₂ za 12 mg/L vina.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Namen naloge je bil določiti antioksidativne lastnosti mladih rdečih vin sort portugalka in modra frankinja ter zvrsti metliška črnina letnika 2007 iz belokranjskega vinorodnega okoliša ter ugotoviti vpliv zorenja in dodatka enoloških sredstev na vsebnost posameznih fenolnih spojin ter barvnih parametrov v vinu.

Potrdili smo, da je vsebnost skupnih in posameznih fenolnih spojin sortna lastnost. Večja kot je vsebnost skupnih fenolov, večji je antioksidativni potencial, dodatek posameznih enoloških sredstev pa naj bi ohranil antioksidativne lastnosti mladih rdečih vin.

Rezultate smo grafično prikazali kot povprečne vrednosti posameznih sort/zvrsti, glede na dodana enološka sredstva. Pri tem smo opazovali spremembe tako znotraj kot tudi med sortami/zvrstmi. Rezultate netaninov in neflavonoidov, s pomočjo katerih smo izračunali tanine in flavonoide iz razlik med skupnimi fenoli, smo grafično prikazali v prilogi, v kateri smo vpliv enoloških sredstev prikazali tako tabelarično kakor tudi grafično. Pri grafičnem prikazu smo upoštevali povprečne vrednosti različnih enoloških dodatkov na vrednost posameznih sort/zvrsti.

Iz slike 16 je razvidno, da se je v vseh treh vinih antioksidativni potencial (AOP) zmanjšal tako v kontrolnem vzorcu kot tudi v vzorcih z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Dodatek enološkega tanina je najbolj ohranil AOP pri vseh treh vzorcih v primerjavi z osnovnim vinom (v primeru metliške črnine je prišlo do 1 % znižanja, pri portugalki do 2 % in pri modri frankinji do 4 % znižanja AOP), sledi mu dodatek SO₂, medtem ko največji padec AOP opazimo pri dodatku hrane za kvasovke (pri metliški črnini za 11 %, pri portugalki za 9 % in pri modri frankinji za 10 %). Tako je imela portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke najnižji AOP (10,90 mmol/L), najvišji pa osnovno vino modre frankinje (19,00 mmol/L). Vina z višjim AOP imajo tudi višjo koncentracijo skupnih fenolov, zato je le-ta najvišji pri modri frankinji, sledi zvrst metliška črnina in sorta portugalka. V tem zaporedju so tudi osnovna vina ohranila koncentracijo skupnih fenolnih spojin. Pri modri frankinji je ta vrednost najvišja (2188 mg/L). Vpliv zorenja vina z dodatkom enoloških sredstev na koncentracijo skupnih fenolnih spojin prikazuje slika 17. V vseh treh vinih je prišlo do zmanjšanja fenolnih spojin v kontrolnem vzorcu (v primeru metliške črnine je ta padec 6 %, v primeru portugalka 7 % in v primeru modre frankinje 8 %) in vzorcih z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Dodatek enološkega tanina je znova najbolj ohranil koncentracijo skupnih fenolov pri vseh treh vzorcih vina (pri metliški črnini in modri frankinji je ta padec 3 %, pri portugalki 4 %), medtem ko je ob dodatku hrane za kvasovke prišlo do največjega znižanja koncentracije fenolnih spojin (pri metliški črnini za 10 %, pri portugalki za 13 % in pri modri frankinji za 9 %) v primerjavi z osnovnim vinom. Tako je imela portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke najnižjo koncentracijo skupnih fenolov (1235 mg/L). Vina z višjo koncentracijo skupnih fenolnih spojin imajo tudi večji potencial staranja, zato je tudi smiselno, da imajo vina modre frankinje najvišjo

koncentracijo taninov, sledi ji zvrst metliška črnina in sorta portugalka. Tako je osnovno vino sorte modra frankinja ohranilo najvišjo koncentracijo taninov (906 mg/L). Iz slike 18 lahko opazimo precejšnje znižanje koncentracije taninov v kontrolnem vzorcu (pri metliški črnini ta znaša 26 %, pri portugalki 30 % in modri frankinji 20 %) kot tudi v vzorcih z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Dodatek hrane za kvasovke ima znova največji padec koncentracije taninov. Pri metliški črnini je ta 35 %, pri portugalki 43 % in pri modri frankinji 23 %. Tako je imela portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke najnižjo koncentracijo taninov (297 mg/L), sledi SO₂, medtem ko največje ohranjanje opazimo pri dodatku kazeinata (v primeru metliške črnine je prišlo do 24 % znižanja, pri portugalki do 28 % in pri modri frankinji do 11 % znižanja) in enološkega tanina v primerjavi z osnovnim vinom. Pri tem so vrednosti ob dodatku kazeinata za spoznanje višje. Večja koncentracija taninov pomeni daljšo življenjsko dobo vina oziroma kasnejši kvar, kar je tudi razlog, da potrebujejo takšna vina daljši čas zorenja. Zato si sorte/zvrsti glede vsebnosti koncentracije taninov od najvišje proti najnižji sledijo po pričakovanjih: modra frankinja, metliška črnina, portugalka.

Iz slike 19 je razvidno, da se je v vseh treh vinih koncentracija flavonoidov zmanjšala v kontrolnem vzorcu (pri metliški črnini in portugalki je ta padec 7 %, pri modri frankinji 8 %) in vzorcih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev. Dodatek enološkega tanina in kazeinata sta najbolj ohranila koncentracijo flavonoidov, medtem ko je dodatek hrane za kvasovke najbolj znižal koncentracijo flavonoidov v primerjavi z osnovnim vinom (pri metliški črnini 12 %, portugalki 15 % in modri frankinji 10 %). Tako je imela portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane najnižjo koncentracijo flavonoidov (1198 mg/L), najvišji pa osnovno vino modre frankinje (2050 mg/L).

Velik delež flavonoidov v rdečih vinih predstavljajo antociani, ki so odgovorni predvsem za barvo rdečih vin. Iz slike 20 opazimo znižanje koncentracije antocianov v kontrolnem vzorcu (pri metliški črnini je ta 5 %, pri portugalki 25 %, pri modri frankinji pa kar 32 %) kot tudi v vzorcih z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Največji padec koncentracije antocianov opazimo v vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke in enološkega tanina, medtem ko največje ohranjanje opazimo pri dodatku kazeinata (pri portugalki je prišlo do 15 % in pri modri frankinji do 17 % znižanja, v primeru metliške črnine pa celo do 6 % povečanja) v primerjavi z osnovnim vinom. Tako sta imeli osnovni vini sorte modra frankinja (398 mg/L) in portugalka (395 mg/L) najvišji koncentraciji antocianov in zvrst metliška črnina po enomesečnem zorenju (233 mg/L) najnižjo. Količina prostih antocianov v vinu je odvisna od sorte in zrelosti grozdja. Koncentracija le-teh med staranjem vina precej hitro pada. V primeru, da je vino bogato s tanini, se prosti antociani vežejo nanje v reakciji kondenzacije. Na ta način se stabilizira barva. Najvišjo koncentracijo antocianov smo določili pri sorti modra frankinja, sledi portugalka in zvrst metliška črnina, kar je smiselno, kajti vina, bogata s tanini se vežejo s prostimi antociani. Posledica tega je nižja koncentracija prostih antocianov v taninsko bogatejših vinih.

Intenziteta barve se zmanjšuje z zniževanjem koncentracije antocianov, zato ima po pričakovanjih najnižjo intenziteto zvrst metliška črnina, sledi portugalka in modra frankinja. Iz slike 21 opazimo znižanje intenzitete barve v kontrolnem vzorcu kot tudi v vzorcih z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom pri portugalki in

modri frankinji. Pri metliški črnini kontrolni vzorec in vzorec z dodatkom enoloških taninov presegata vrednosti osnovnega vzorca. Dodatek enološkega tanina je najbolj ohranil intenziteto barve (v primeru modre frankinje je prišlo do 4 % znižanja, v primeru portugalki do 1 % znižanja, v primeru metliške črnine pa celo do 4 % povečanja), medtem ko največji padec intenzitete opazimo pri dodatku kazeinata (pri metliški črnini 25 %, pri portugalki 18 % in pri modri frankinji 22 %) v primerjavi z osnovnim vinom. Zmanjšanje je lahko posledica vezave kazeinata na mesta, ki so namenjena vezavi antocianov na fenole. S tem je preprečena tvorba kompleksa antocian-tanin, ki je odgovoren za tvorbo stabilne barve, medtem ko z zorenjem vina pride do polimerizacije antocianov in med polimeri prevladujejo odtenki rjave barve, kar povzroči zmanjšanje intenzitete barve.

Iz slike 22 je razvidno, da se je v vseh treh vinih ton barve povečal v kontrolnem vzorcu po enomesečnem zorenju (pri metliški črnini je prišlo do 5 % povečanja, pri portugalki do 6 % in pri modri frankinji do 1 % povečanja) in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema je modra frankinja, kjer je prišlo ob dodatku hrane za kvasovke do zmanjšanja tona barve za 9 % v primerjavi z osnovnim vinom. Povečan ton barve pomeni, da je prišlo v času zorenja zaradi prisotnosti kisika do oksidacije rdečih barvnih snovi in posledično do izgube barve, medtem ko je dodatek hrane za kvasovke zaustavil proces oksidacije v modri frankinji, kjer smo senzorično zaznali očetni cik. Dodatek hrane za kvasovke je povzročil tvorbo večjih količin polisaharidov, ki vežejo reaktivne tanine. Nastali kompleks polisaharid-tanin pa pomembno vpliva na stabilnost barve. Najvišjo stopnjo oksidacije smo določili pri vinih z dodatkom kazeinata (pri metliški črnini je prišlo do 10 % povečanja, pri portugalki za 11 % in pri modri frankinji do 6 % povečanja) v primerjavi z osnovnim vinom. Posledica oksidacije je padec absorbance pri 520 nm in povečanje pri 420 nm.

Iz slike 23 je razvidno, da se je delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa zmanjšal v vinih po enomesečnem zorenju (pri metliški črnini in portugalki je to zmanjšanje 4 %, pri modri frankinji pa manj kot 1 %) in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema je sorta modra frankinja, kjer je dodatek hrane za kvasovke povečal delež rdeče barve nad osnovnim vinom za 4 % in pripomogla k večjemu deležu vidne rdeče barve s tvorbo kompleksa polisaharid-tanin. Delež rdeče barve se je najbolj ohranil ob dodatku SO₂ pri metliški črnini in portugalki, medtem ko je dodatek enološkega tanina najbolj ohranil delež rdeče barve pri modri frankinji v primerjavi z osnovnim vinom. Največji padec deleža rdeče barve v obliki flavilijevega kationa opazimo pri dodatku kazeinata (pri metliški črnini je ta 7 %, pri portugalki 9 % in pri modri frankinji 5 %) v primerjavi z osnovnim vinom. Tako je imelo osnovno vino metliška črnina najvišji delež flavilijevega kationa (62,16) oziroma najnižji vino portugalka, po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (51,87).

Na sliki 24, 25 in 26 so prikazani deleži rdeče barve pri različnih valovnih dolžinah (dA_{420} , dA_{520} , dA_{620}). Iz slike 24 je razvidno, da se je delež rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm (dA_{420}) povečal v kontrolnem vzorcu (pri metliški črnini je to povečanje 2 %, pri portugalki 4 % in pri modri frankinji manj kot 1 %) in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom, kar kaže na oksidacijo posameznih barvnih snovi. Izjema je modra frankinja, kjer je prišlo ob dodatku hrane za kvasovke do zmanjšanja deleža rdeče barve dA_{420} , kar kaže na to, da je dodatek hrane za

kvasovke v primeru modre frankinje najučinkovitejši antioksidant. Najvišjo stopnjo oksidacije smo določili pri vinih z dodatkom kazeinata (pri metliški črnini je to povečanje 6 %, pri portugalki 7 % in pri modri frankinji 3 %) v primerjavi z osnovnim vinom.

Delež rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm (dA_{520}) se je zmanjšal v kontrolnem vzorcu (pri metliški črnini je to zmanjšanje 2 %, pri portugalki 1 % in pri modri frankinji manj kot 1 %) in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema je modra frankinja, kjer je dodatek hrane za kvasovke povečal tvorbo kompleksa polisaharid-tanin ter s tem povečal delež rdeče barve dA_{520} za 3 %, v primerjavi z osnovnim vinom. Dodatek SO_2 je najbolj ohranil delež rdeče barve dA_{520} pri metliški črnini in portugalki oziroma dodatek enološkega tanina pri modri frankinji, medtem ko opazimo največje zmanjšanje deleža rdeče barve pri dodatku kazeinata v primerjavi z osnovnim vinom. Delež rdeče barve dA_{520} predstavlja rdečo barvo, ki jo zazna človeško oko. Tako ima portugalka po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata najnižji delež rdeče barve dA_{520} (51,00), najvišji pa osnovni vzorec metliške črnine (56,91).

Iz slike 26 je razvidno, da se je delež rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm (dA_{620}) povečal v kontrolnem vzorcu (pri metliški črnini je to povečanje 7 %, pri portugalki 2 %, pri modri frankinji pa manj kot 1 %) in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema je modra frankinja, kjer je ob dodatku enološkega tanina prišlo do znižanja deleža rdeče barve dA_{620} . Dodatek kazeinata in hrane za kvasovke sta najbolj povečala delež barve pri portugalki in modri frankinji, medtem ko ima metliški črnini najvišje vrednosti pri dodatku hrane za kvasovke. Tako je imela portugalka z dodatkom kazeinata (11,69) najvišji dA_{620} oziroma najnižjo osnovno vino metliška črnina (8,39). Delež rdeče barve dA_{620} pada po sledečem zaporedju; portugalka, modra frankinja, metliška črnina.

Povečanje koncentracije hlapnih kislin v kontrolnem vzorcu (pri metliški črnini in modri frankinji je prišlo do 2 % povečanja, pri portugalki do 6 %) in v vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom ponazarja slika 27. Dodatki SO_2 , hrane za kvasovke in tanina so povečali koncentracijo hlapnih kislin v vseh treh vzorcih vin v primerjavi z osnovnim vinom po enomesečnem zorenju. Najvišjo koncentracijo hlapnih kislin smo določili pri vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata (pri metliški črnini je prišlo do 19 % povečanja, pri portugalki do 30 % povečanja in pri modri frankinji do 11 % povečanja) v primerjavi z osnovnim vinom. Tako je imela modra frankinja z dodatkom kazeinata najvišjo koncentracijo hlapnih kislin (1,36 g/L), najnižjo pa osnovno vino sorte portugalka (0,33 g/L). Zlasti visoka koncentracija hlapnih kislin pri sorti modra frankinja je verjetno posledica očetnega cika vina, ki smo ga senzorično zaznali pri tej sorti.

Iz slike 28 je razvidno zmanjšanje koncentracije prostega SO_2 v kontrolnem vzorcu (pri portugalki je ta padec 33 %, pri metliški črnini in modri frankinji pa že kar 42 %) in vinih po enomesečnem zorenju z dodatkom enoloških sredstev v primerjavi z osnovnim vinom. Izjema so vina po enomesečnem zorenju z dodatkom kazeinata, pri katerih opazimo drastičen porast koncentracije prostega SO_2 (pri metliški črnini je ta 56 %, pri portugalki 65 % in pri modri frankinji 50 %). Kazeinat kot reducent preprečuje oksidacijo v vinih. Pri

tem dodatek kazeinata, kot uporabljeno enološko sredstvo proti oksidaciji, poveča vsebnost prostega SO₂ za 10 mg/L vina. V vinih z dodatkom hrane za kvasovke in enološkega tanina opazimo največji padec koncentracije prostega SO₂. Tako je imela modra frankinja po enomesečnem zorenju ob dodatku kazeinata najvišjo vsebnost prostega SO₂ (42 mg/L) oziroma najnižjo sorta portugalka ob dodatku tako enološkega tanina kot hrane za kvasovke (3 mg/L).

Iz slike 29 je razvidno zmanjšanje koncentracije skupnega SO₂ v kontrolnem vzorcu (pri metliški črnini je ta padec 27 %, pri portugalki kar 47 % in pri modri frankinji 2 %). Najnižjo koncentracijo skupnega SO₂ imajo vina po enomesečnem zorenju z dodatkom hrane za kvasovke in enološkega tanina (v primeru modre frankinje je prišlo do 6 % znižanja, v primeru metliške črnine do 33 % znižanja in v primeru portugalka kar do 52 % znižanja, tako ob dodatku hrane za kvasovke kot tudi enološkega tanina), medtem ko je dodatek kazeinata drastično povečal skupni SO₂ (pri modri frankinji za 41 %, pri metliški črnini za 68 % in pri portugalki pa kar za 71 %) v primerjavi z osnovnim vinom. Dodatek kazeinata kot enološko sredstvo je povečal vsebnost SO₂ za 12 mg/L vina. Tako je imela modra frankinja po enomesečnem zorenju ob dodatku kazeinata najvišjo vsebnost skupnega SO₂ (107 mg/L) oziroma najnižjo sorta portugalka ob dodatku tako enološkega tanina kot hrane za kvasovke (9 mg/L).

5.2 SKLEPI

- Vsebnost skupnih in posameznih fenolnih spojin je sortna lastnost.
- Višja kot je koncentracija skupnih fenolnih spojin, višji je antioksidativni potencial (AOP) vina.
- Vina z višjo koncentracijo skupnih fenolnih spojin imajo večji potencial staranja in posledično višjo koncentracijo taninov. Višja koncentracija taninov pomeni daljšo življenjsko dobo in daljši čas zorenja vina.
- Najvišjo vsebnost AOP, skupnih fenolov, taninov in flavonoidov je imelo vino sorte modra frankinja, sledita mu zvrst metliška črnina in sorta portugalka.
- Koncentracija antocianov med zorenjem vina pada, saj se le-ti vežejo s tanini v reakciji kondenzacije. Največje zmanjšanje antocianov opazimo pri sorti modra frankinja.
- Ton barve se je v času zorenja najbolj povečal pri portugalki, sledi modra frankinja in metliška črnina.
- Z dodatkom enoloških sredstev so se antioksidativne lastnosti mladih rdečih vin v večini primerov povečale oziroma vsaj ohranile v primerjavi s kontrolnim vzorcem.
- Kot najboljše enološko sredstvo za ohranjanje AOP, skupnih fenolnih spojin, taninov in flavonoidov se je izkazal enološki tanin, medtem ko je dodatek hrane za kvasovke povzročil največji padec tako AOP kot tudi koncentracijo skupnih fenolov, taninov in flavonoidov.
- Najslabše enološko sredstvo pri ohranjanju barve je kazeinat, saj je dodatek tega najbolj pospešil oksidacijo in znižal delež rdeče barve, istočasno pa drastično povečal koncentracijo prostega in skupnega SO₂ ter koncentracijo hlapnih kislin.

6 POVZETEK

S spremljanjem zorenja vina zvrsti metliška črnina in sort portugalka in modra frankinja smo ugotavljali zvezo med antioksidativnim potencialom, vsebnostjo posameznih fenolnih spojin in barvnih parametrov. Potrdili smo, da je vsebnost fenolnih spojin, taninov in flavonoidov sortna lastnost. Višja kot je koncentracija skupnih fenolnih spojin, višji je tudi antioksidativni potencial vina, izražen kot mmol/L DPPH vina. Tako je imela najvišji AOP in koncentracijo skupnih fenolnih spojin modra frankinja, sledita metliška črnina in portugalka. V enakem zaporedju so bile zastopane sorte tudi po vsebnosti taninov in flavonoidov.

Pri določanju vrednosti AOP, skupnih fenolnih spojin, taninov in flavonoidov smo ugotovili, da se je kot najboljšo enološko sredstvo v vinu izkazal dodatek enološkega tanina, ki je ohranil najvišje vrednosti po enomesečnem zorenju, medtem ko je dodatek hrane za kvasovke povzročil največji padec tako AOP kot tudi koncentracije skupnih fenolov, taninov in flavonoidov.

Količina prostih antocianov v vinu je sortna značilnost. Tako smo po enomesečnem zorenju določili najvišjo koncentracijo antocianov pri sorti portugalka, sledi modra frankinja in metliška črnina. Med zorenjem vina koncentracija prostih antocianov v vinu precej hitro pada. V primeru, da je vino bogato s tanini, se antociani vežejo nanje. Posledica tega je nižja koncentracija prostih antocianov v taninsko bogatejših vinih, medtem ko ima zvrst metliška črnina že v osnovnem vinu pred zorenjem nižjo koncentracijo antocianov v primerjavi z obema sortama.

Intenziteta barve je povezana z vsebnostjo antocianov. V času zorenja se barva spreminja s povečanjem števila polimeriziranih antocianov. Med nastalimi polimeri prevladuje odtенок rdeče barve, istočasno pa intenziteta barve upada po sledečem zaporedju vin: modra frankinja, portugalka in metliška črnina. Delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa nam pove, koliko je le tega v obarvani obliki, ki jo vidimo rdeče. Tako ima najvišji delež rdeče barve zvrst metliška črnina, sledita ji sorti modra frankinja in portugalka. Delež rdeče barve pri valovni dolžini dA_{420} narašča po pričakovanem zaporedju: modra frankinja, metliška črnina in portugalka. Rezultat je smiseln, saj vrednosti naraščajo obratno-sorazmerno skupnim fenolom, ki so naravni antioksidanti rdečih vin, istočasno pa v podobnem zaporedju narašča tudi ton barve: metliška črnina, modra frankinja, portugalka, ki nam pove stopnjo oksidacije rdečih vin. Delež rdeče barve je pri vseh treh sortah po pričakovanju najvišji pri valovni dolžini dA_{520} , pri kateri človeško oko zazna rdečo barvo. Vina zvrsti metliške črnine imajo najvišji delež rdeče barve, sledi jim modra frankinja in portugalka, saj so vrednosti deleža rdeče barve pri dA_{520} obratno sorazmerne koncentraciji antocianov, medtem ko delež rdeče barve pri dA_{620} pada po sledečem zaporedju; portugalka, modra frankinja, metliška črnina. Vrednosti rdeče barve pri tej valovni dolžini so premo sorazmerne koncentraciji antocianov.

Dodatek SO_2 je najprimernejše enološko sredstvo za ohranjanje barve vina pri metliški črnini in portugalki. Čeprav je enološki tanin bolje ohranil intenziteto barve, je dodatek SO_2 najbolj ohranil delež rdeče barve v obliki flavilijevega kationa in deleža rdeče barve

pri dA_{520} ter ohranil najnižji ton in delež barve pri dA_{420} , ki sta pokazatelja oksidacije. Pri modri frankinji se je kot najboljše enološko sredstvo za ohranjanje barve izkazala hrana za kvasovke, kateri je kot najučinkovitejšemu antioksidantu uspelo ustaviti proces oksidacije ter povečati delež rdeče barve, ki jo zazna človeško oko. Najslabše sredstvo pri ohranjanju barve je kazeinat, saj je dodatek le-tega pospešil oksidacijo in znižal delež vidne rdeče barve.

Koncentracija hlapnih kislin je stranski produkt med alkoholno fermentacijo in je v veliki meri odvisna od tehnološkega postopka pridelave vin. Višje koncentracije lahko nastopijo zaradi napak in bolezni vina. Tako je najvišja koncentracija hlapnih kislin pri modri frankinji posledica očetnega cika, ki smo ga senzorično zaznali pri tej sorti.

Dodatek žveplovega dioksida se v vinu uporablja zaradi njegovega protimikrobnega in antioksidativnega delovanja in preprečevanja reakcij porjavenja. Dodatek kazeinata kot reducenta, je dvignil koncentracijo prostega in skupnega SO_2 na zgornjo mejo, katera že zavira biološke procese v vinu (zorenje vina).

7 VIRI

Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmaceutski vestnik, 48: 573-589.

Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober, 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32.

Abram V. 2001. Kisik je tudi škodljiv. Herbika, 2, 7/8: 14-17.

Bavčar D. 2006. Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas: 286 str.

Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, Chapman & Hall: 115-151.

Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie/Food Science and Technology, 28: 25-30.

Bender D.A. 1993. Ascorbic acid. V: Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition. Vol. 5. Macrae R., Robinson R.K., Sadler M.J. (eds.). London, Academic Press: 269-280.

Cigić B., Rudan Tasič D. 2006. Antioksidanti in prooksidanti. V: Karcinogene in antikarcinogene komponente v živilih. 24. Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana, 9. in 10. november 2006. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 103-116.

Dictionary of cancer terms. 2009. Bethesda, National Cancer Institute.
<http://www.cancer.gov/dictionary/> (december, 2009): 1 str.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. 1989. Free radicals in biology and medicine. 2nd ed. Oxford, Clarendon Press: 543 str.

Hoffmann-La Roche Inc. 1992. Vitamins, part VIII: Vitamin C. V: Encyclopedia of food sciences and technology. Vol. 4. 2nd ed. Hui Y.H. (ed.). New York, John Wiley&Sons Inc: 2732-2733.

Jackson R. S. 2000. Wine science: Principles, practice, perception. 2nd ed. San Diego, Academic Press: 242-254.

Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21.

Košmerl T., Wondra M., Vodopivec M. 1996. Spremljanje tehnološke zrelosti in ocena kvalitete grozdja. V: Tehnologija, hrana, zdravje. 1. slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo. Vol. 1. Bled, 21-25. april 1996. Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 322-324.

Košmerl T. 2000. Preprečevanje oksidacije vin in ohranjanje njihovih antioksidacijskih lastnosti. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 167-177.

Košmerl T., Bajuk A., Wondra M. 2001. Vpliv maceracije na kemijsko sestavo in senzorično kakovost vina sorte 'modra frankinja'. V: Vinarski dan, Ljubljana, 7. februar 2001. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 5-29.

Košmerl T., Kač M. 2004. Osnovne kemijske analize mošta in vina. 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.

Košmerl T., Rački M., Cigić B. 2005. Zveza med antioksidacijskim potencialom vina in vsebnostjo fenolnih spojin. V: Slovenski kemijski dnevi 2005, Maribor, 22. in 23. september 2005. Glavič P., Brodnjak-Vončina D. (ur.). Maribor, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Mariboru: 1/10-10/10.

Košmerl T. 2006. Uporaba pektolitičnih encimov v vinarstvu. *Sad*, 17, 10: 12-13.

Košmerl T. 2008. Enološki tanini. *Sad*, 19, 12: 15-18.

Košmerl T. 2009. Vloga in uporaba askorbinske kisline pri pridelavi vina. *Sad*, 20, 1: 18-20.

Kreft S., Pečar S. 1998. Vloga radikalov pri obolenjih. *Farmacevtski vestnik*, 49,17: 469-481.

Locatelli M., Gindro R., Travaglia F., Coisson J.-D., Rinaldi M., Arlorio M. 2009. Study of the DPPH[•]-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. *Food Chemistry*, 114: 889-897.

Lo Scalzo R. 2008. Organic acids influence on DPPH[•] scavenging by ascorbic acid. *Food Chemistry*, 107: 40-43.

Macheix J.-J., Fleuriet A., Billot J. 1990. *Fruit Phenolics*. Boca Raton, CRC Press: 378 str.

March J. 1992. *Advanced organic chemistry. Reactions, mechanisms, and structure*. 2nd. New York, John Wiley & Sons: 1495 str.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 26, 2: 211-219.

Muhar S.U., Košmerl T. 2005. Izboljšanje kakovosti vina malvazija in teran. V: Vinarski dan, Ljubljana, 14. april 2005. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 25-48.

Nemanič J., Kocjančič M., Resnik M., Žnidaršič- Pongrac V. 1997. Novi trendi v predelavi rdečega grozdja. V: Moderne tehnologije predelave in kakovosti živil. 18. Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana 12.-13. junij 1997. Žlender B., Gašperlin L., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 199-209.

Ramis-Ramos G. 2003. Synthetic antioxidants. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 1. 2nd ed. Caballero B., Trugo L., Fingals M. P. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 271-272.

Raspor P., Batič M., Berglez D. 2000. Bioproceni pridobivanja antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober, 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 53-56.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2000. Handbook of enology. Vol. 2. The chemistry of wine stabilization and treatments. chichester, John Wiley & Sons: 133-135.

Rudan-Tasič D. 2000. Vitamin C, vitamin E, koencim Q₁₀. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober, 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 39-51.

Salaha M.-I., Kallithraka S., Marmaras I., Koussissi E., Tzourou I. 2008. A natural alternative to sulphur dioxide for red wine production: Influence on colour, antioxidant activity and anthocyanin content. Journal of Food Composition and Analysis, 21: 660-666.

Shahin S. A., Naresh K., Abhinal L., Angad S., Hallihosur S., Abhisher S., Utpal B. 2007. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. Food Research International, 41: 1-15.

Šuput D., Kamarič L. 2001. Izvor in reakcije prostih radikalov. V: Izbrana poglavja iz patološke fiziologije. 9. izd. Ribarič S. (ur.). Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo: 15-24.

Vanzo A., Vrhovšek U. 2005. Antocijanini - bioaktivne spojine v vinu. V: Slovenski kemijski dnevi 2005. Maribor, 22. in 23. september 2005. Glavič P., Brodnjak - Vončina D. (ur.). Maribor, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Mariboru: 1/8-8/8.

Vrhovšek U. 1996. Fenoli kot antioksidanti v vinu. V: Zbornik referatov 1. slovenskega vinogradniško-vinarskega kongresa, Portorož od 4. do 6. decembra 1996. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas: 124-134.

Vrhovšek U. 2000. Bioaktivne polifenolne spojine grozdja in vina. V: Zbornik referatov. Strokovni posvet Vino-hrana, zdravje 2000, Ljubljana 5.4.2000. Rajher Z. (ur.). Celje, Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo Slovenije: 42-56.

Vrhovšek U., Vanzo A., Nemanič J., Waterhouse A.L. 2001. Vpliv različnih tehnik maceracije na vsebnost oligomernih in polimernih polifenolov vina sorte modra frankinja. V: Vinski dan, Ljubljana, 7. februar 2001. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 44-53.

Vrščaj Vodošek T., Košmerl T. 2005. Določanje barvnih parametrov in fenolnih spojin med maceracijo rdeče drozge. V: Slovenski kemijski dnevi 2005. Maribor, 22. in 23. september 2005. Glavič P., Brodnjak - Vončina D. (ur.). Maribor, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Mariboru: 1/10-10/10.

Zoecklein B.W., Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S. 1999. Wine analysis and production. New York, Chapman & Hall: 621 str.

Wondra M. 1996. Zdravstveni učinki vina. V: Tehnologija, hrana, zdravje. 1. slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo. Vol. 1. Bled, 21-25. april 1996. Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 39-45.

ZAHVALA

Mentorici prof. dr. Tatjani Košmerl se zahvaljujem za strokovno pomoč pri izdelavi diplomske naloge.

Za pregled diplomske naloge se zahvaljujem recenzentu doc. dr. Blažu Cigiću.

Ivici Hočevar in Lini Burkan, univ. dipl. inž. ter Barbari Slemenik, univ. dipl. bibl. se zahvaljujem za pomoč pri iskanju in navajanju virov.

Zdenki Zupančič se zahvaljujem za pomoč pri praktični izvedbi diplomske naloge ter za vse usluge pri delu v laboratoriju.

Katji Črne se zahvaljujem za tehnično pomoč pri izdelavi diplomske naloge.

Na koncu se zahvaljujem mojim staršem za moralno in finančno pomoč v vseh letih študija.

PRILOGE

Priloga A1: Vpliv zorenja in dodatka enoloških sredstev na AOP ter koncentracije skupnih fenolnih spojin, netaninov, taninov, neflavonoidov, flavonoidov in antocianov v vinu posameznih sort/zvrsti

Parameter (enota)	Sorta/zvrst	OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
AOP (mmol/L)	metliška črnina	14,33	13,80	14,00	13,18	12,76	14,16
	portugalka	11,99	11,16	11,73	11,05	10,90	11,78
	modra frankinja	19,00	17,52	18,08	17,15	17,10	18,24
skupni fenoli (mg/L)	metliška črnina	1658	1551	1583	1609	1484	1615
	portugalka	1418	1322	1355	1362	1235	1362
	modra frankinja	2188	2018	2072	2098	1988	2118
netanini (mg/L)	metliška črnina	953	1031	1093	1073	1024	1088
	portugalka	899	960	1008	988	938	993
	modra frankinja	1282	1295	1357	1296	1293	1320
tanini (mg/L)	metliška črnina	705	520	490	536	460	527
	portugalka	519	362	347	374	297	369
	modra frankinja	906	723	715	802	695	798
neflavonoidi (mg/L)	metliška črnina	117	115	123	123	122	128
	portugalka	152	149	161	166	158	164
	modra frankinja	138	134	145	144	134	145
flavonoidi (mg/L)	metliška črnina	1541	1436	1460	1486	1362	1487
	portugalka	1264	1173	1194	1196	1077	1198
	modra frankinja	2050	1884	1927	1954	1854	1973
antociani (mg/L)	metliška črnina	260	248	250	276	233	244
	portugalka	395	298	325	335	288	289
	modra frankinja	398	271	300	329	278	277

Priloga A2: Vpliv zorenja in dodatka enoloških sredstev na barvne parametre; intenziteto in ton barve ter na delež rdeče barve (%) v obliki flavilijevega kationa ozirna pri valovnih dolžinah 420, 520 in 620 nm v vinu posameznih sort/zvrsti

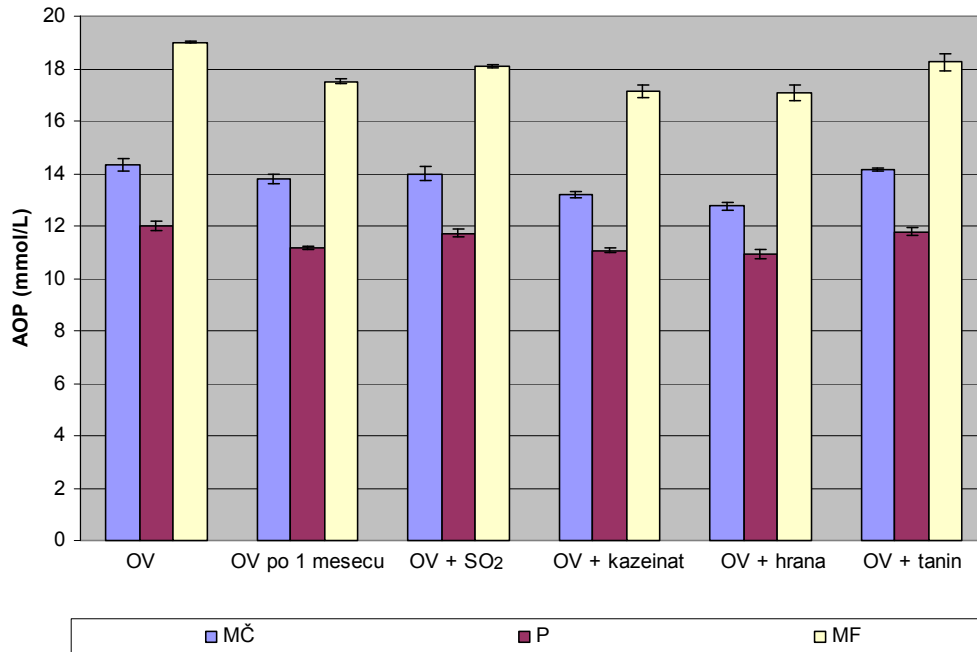
Parameter (enota)	Sorta/zvrst	OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
intenziteta barve	metliška črnina	6,237	6,330	5,934	4,677	6,093	6,470
	portugalka	7,937	7,783	7,540	6,477	7,420	7,873
	modra frankinja	9,057	8,647	8,063	7,053	8,020	8,663
ton barve	metliška črnina	0,609	0,638	0,630	0,678	0,655	0,644
	portugalka	0,652	0,690	0,684	0,732	0,694	0,690
	modra frankinja	0,636	0,640	0,651	0,680	0,578	0,644
dA _F (%)	metliška črnina	62,16	59,91	60,59	57,82	58,69	59,50
	portugalka	57,11	55,08	55,36	51,87	54,22	55,06
	modra frankinja	58,76	58,53	57,95	55,87	61,41	58,55
dA ₄₂₀ (%)	metliška črnina	34,69	35,44	35,43	36,78	35,83	35,55
	portugalka	34,69	36,19	36,12	37,31	36,25	36,32
	modra frankinja	34,85	35,00	35,35	36,11	32,63	35,20
dA ₅₂₀ (%)	metliška črnina	56,91	55,50	55,93	54,24	54,76	55,23
	portugalka	53,21	52,68	52,83	51,00	52,20	52,67
	modra frankinja	54,80	54,66	54,32	53,12	56,44	54,67
dA ₆₂₀ (%)	metliška črnina	8,39	9,06	8,65	8,98	9,41	9,22
	portugalka	10,96	11,14	11,05	11,69	11,54	11,01
	modra frankinja	10,34	10,33	10,33	10,77	10,93	10,12

Priloga A3: Vpliv zorenja in dodatka enoloških sredstev na koncentracijo hlapnih kislin (g/L) ter na koncentraciji prostega in skupnega SO₂ (mg/L) v OV, OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Parameter (enota)	Sorta/zvrst	OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
hlapne kisline (mg/L)	metliška črnina	0,54	0,55	0,56	0,67	0,56	0,64
	portugalka	0,33	0,35	0,39	0,47	0,36	0,38
	modra frankinja	1,21	1,24	1,30	1,36	1,30	1,30
prosti SO ₂ (mg/L)	metliška črnina	12	7	10	27	5	5
	portugalka	6	4	5	17	3	3
	modra frankinja	21	12	18	42	10	10
skupni SO ₂ (mg/L)	metliška črnina	15	11	18	47	10	10
	portugalka	19	10	26	66	9	9
	modra frankinja	63	62	74	107	59	59

Priloga B1: Rezultati meritev antioksidativnega potenciala (AOP), izraženega v mmol/L DPPH na liter vina v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

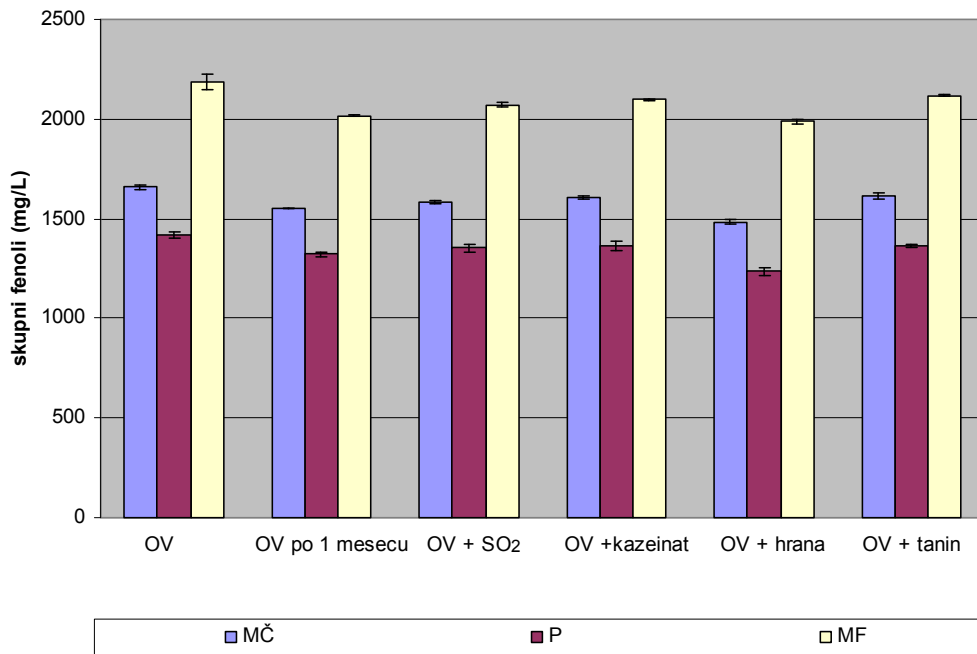
Sorta/zvrst	Paralelka	AOP (mmol DPPH/L)					
		OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
metliška črnina	MČ1	14,05	13,69	13,69	13,12	12,45	14,21
	MČ2	14,47	13,59	14,11	13,23	12,76	14,20
	MČ3	14,47	13,95	14,16	13,33	12,56	14,11
portugalka	P1	12,09	11,16	11,57	11,00	10,75	11,68
	P2	11,78	11,11	11,83	11,00	11,06	11,94
	P3	12,09	11,26	11,78	11,16	11,06	11,78
modra frankinja	MF1	18,96	17,41	18,14	16,95	16,79	17,88
	MF2	19,01	17,52	18,03	17,10	17,31	18,29
	MF3	19,01	17,57	18,03	17,41	17,31	18,50



Priloga B2: Antioksidativni potencial (AOP), izražen v mmol/L DPPH na liter vina v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja ter OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga B3: Rezultati določanja koncentracije skupnih fenolov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

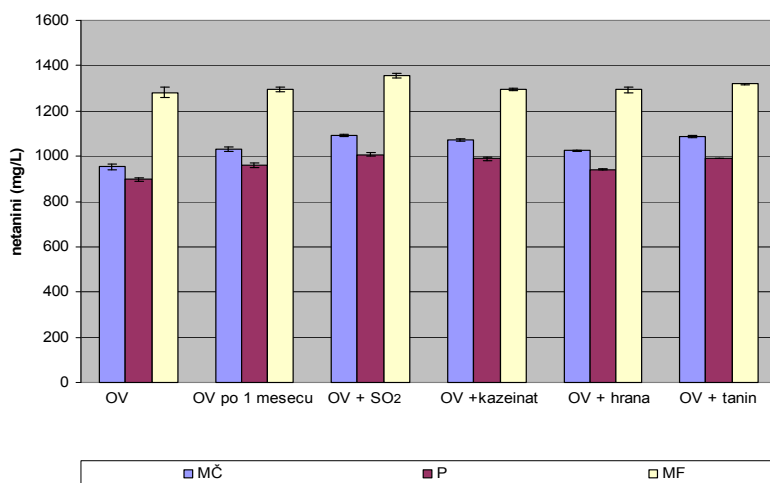
Sorta/zvrst	Paralelka	skupni fenoli (mg/L)					
		OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
metliška črnina	MČ1	1653	1551	1578	1605	1484	1628
	MČ2	1653	1551	1578	1605	1494	1598
	MČ3	1668	1551	1593	1618	1474	1618
portugalka	P1	1398	1335	1375	1385	1215	1355
	P2	1428	1315	1335	1335	1245	1365
	P3	1428	1315	1355	1365	1245	1365
modra frankinja	MF1	2228	2015	2065	2105	1975	2115
	MF2	2148	2015	2065	2095	1995	2125
	MF3	2188	2023	2085	2095	1995	2115



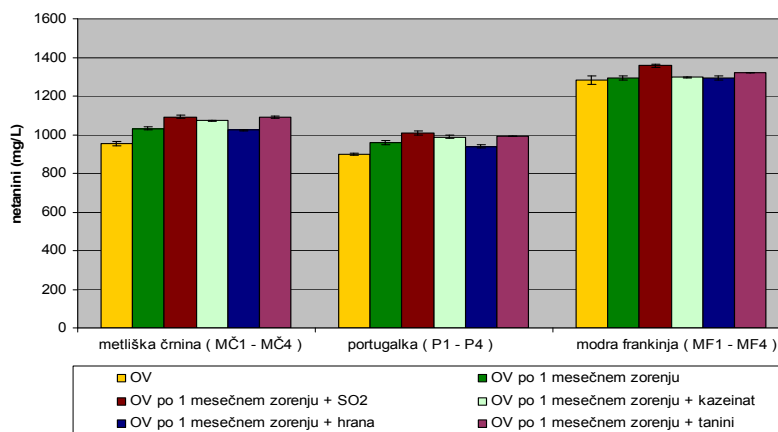
Priloga B4: Koncentracije skupnih fenolnih spojin (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga B5: Rezultati določanja koncentracije netaninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Sorta/zvrst	Paralelka	netanini (mg/L)					
		OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
metliška črnina	MČ1	960	1036	1096	1071	1026	1081
	MČ2	940	1021	1086	1076	1026	1091
	MČ3	960	1036	1096	1071	1021	1091
portugalka	P1	899	973	998	978	948	993
	P2	904	953	1013	993	933	993
	P3	894	953	1013	993	933	993
modra frankinja	MF1	1309	1308	1362	1293	1283	1318
	MF2	1274	1288	1347	1293	1298	1321
	MF3	1264	1288	1362	1303	1298	1322



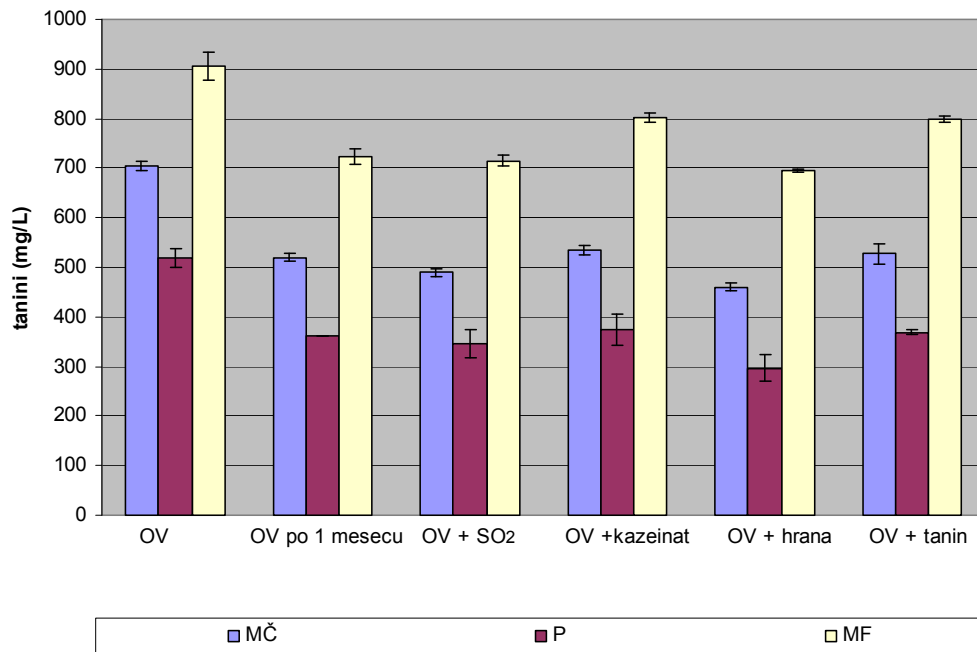
Priloga B6: Koncentracije netaninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi



Priloga B7: Graf povprečnih koncentracij netaninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga B8: Rezultati določanja koncentracije taninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

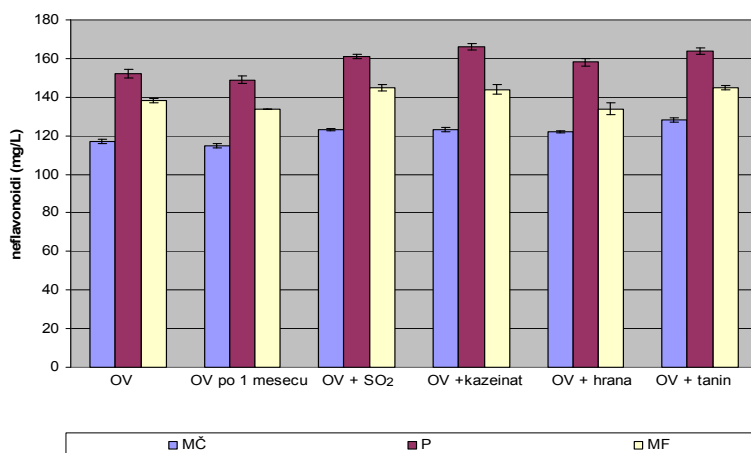
Sorta/zvrst	Paralelka	tanini (mg/L)					
		OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
metliška črnina	MČ1	693	515	482	534	458	547
	MČ2	713	530	492	529	468	507
	MČ3	708	515	497	547	453	527
portugalka	P1	499	363	378	408	268	363
	P2	524	363	323	343	313	373
	P3	534	363	343	373	313	373
modra frankinja	MF1	918	707	703	812	692	797
	MF2	874	727	718	802	697	804
	MF3	924	735	723	792	697	793



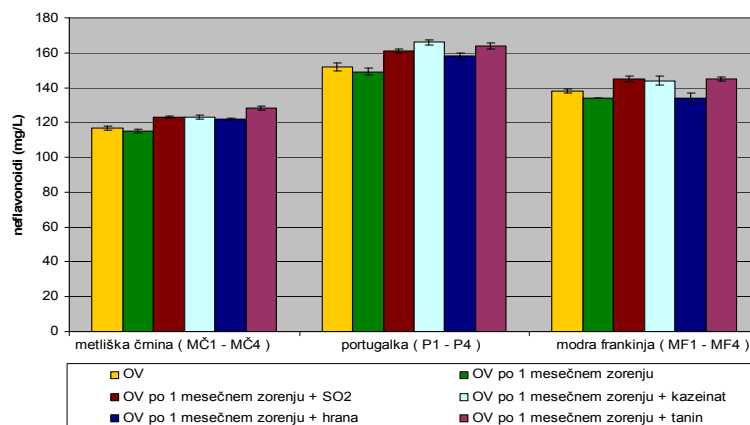
Priloga B9: Koncentracije taninov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga B10: Rezultati določanja koncentracije neflavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Sorta/zvrst	Paralelka	neflavonoidi (mg/L)					
		OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
metliška črnina	MČ1	116	116	122	122	122	127
	MČ2	118	116	123	124	121	129
	MČ3	116	114	123	122	122	127
portugalka	P1	155	149	163	168	159	165
	P2	151	151	161	166	160	165
	P3	151	147	161	165	156	162
modra frankinja	MF1	137	134	144	142	132	144
	MF2	139	134	147	147	138	146
	MF3	139	134	146	144	134	146



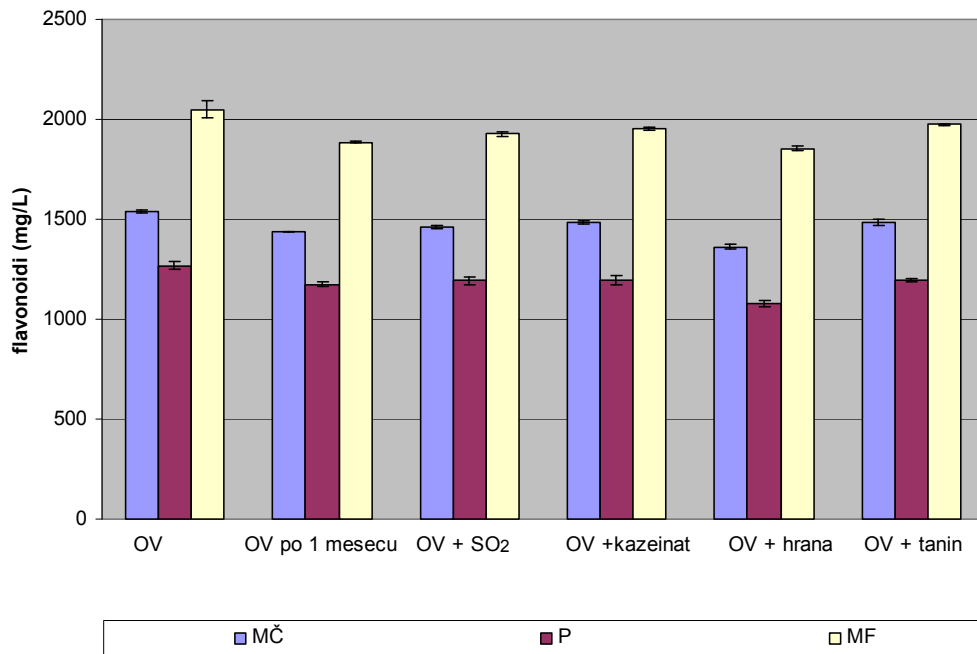
Priloga B11: Koncentracije neflavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi



Priloga B12: Graf povprečnih koncentracij neflavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga B13: Rezultati določanja koncentracije flavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

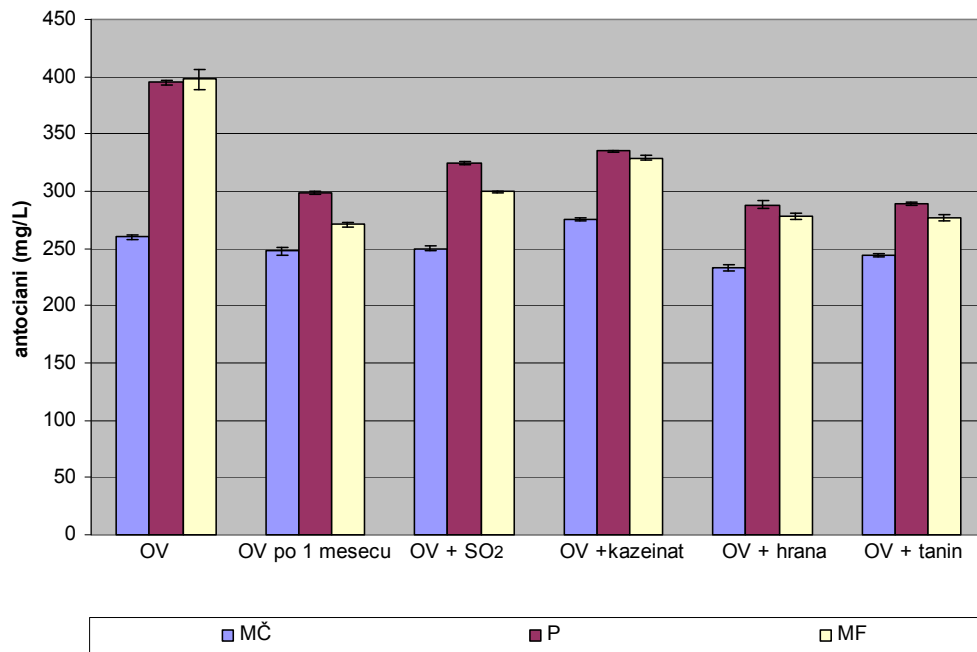
Sorta/zvrst	Paralelka	flavonoidi (mg/L)					
		OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
metliška črnina	MČ1	1537	1435	1456	1483	1362	1501
	MČ2	1535	1435	1455	1481	1373	1469
	MČ3	1552	1437	1470	1496	1352	1491
portugalka	P1	1243	1186	1212	1217	1056	1190
	P2	1277	1164	1174	1169	1085	1200
	P3	1277	1168	1194	1200	1089	1203
modra frankinja	MF1	2091	1881	1921	1963	1843	1971
	MF2	2009	1881	1918	1948	1857	1979
	MF3	2049	1889	1939	1951	1861	1969



Priloga B14: Koncentracije flavonoidov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga B15: Rezultati določanja koncentracije antocianov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

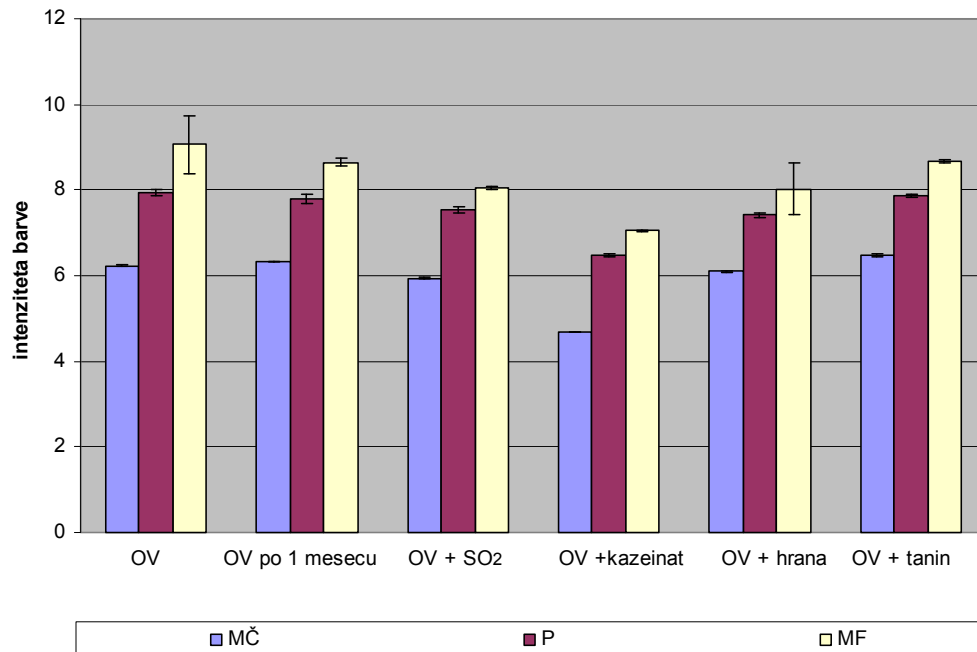
Sorta/zvrst	Paralelka	flavonoidi (mg/L)					
		OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
metliška črnina	MČ1	259	246	249	277	236	243
	MČ2	259	251	252	276	232	245
	MČ3	262	246	249	274	232	243
Portugalka	P1	393	297	326	335	286	290
	P2	396	298	324	336	292	288
	P3	396	300	324	334	286	287
modra frankinja	MF1	405	273	300	330	276	274
	MF2	401	268	299	327	281	279
	MF3	387	272	299	331	276	276



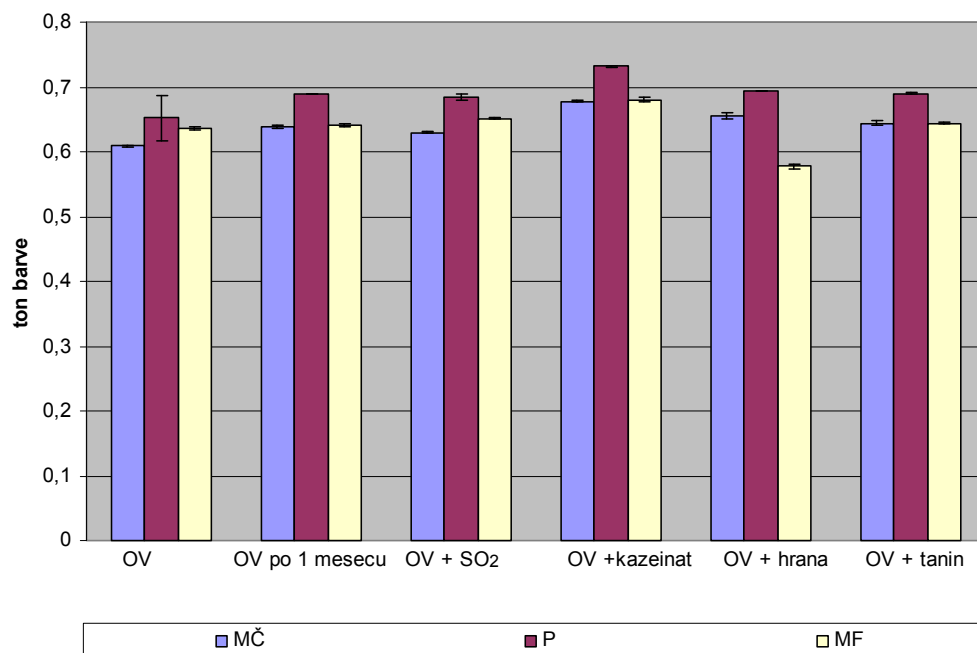
Priloga B16: Koncentracije antocianov (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga C1: Rezultati meritev intenzitete in tona barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Parameter	Sorta/zvrst	Paralelka	vrednost parametra					
			OV	po enomesečnem zorenju				
				OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
intenziteta barve	metliška črnina	MČ1	6,220	6,340	5,930	4,670	6,080	6,490
		MČ2	6,230	6,330	5,950	4,680	6,120	6,440
		MČ3	6,260	6,320	5,930	4,680	6,080	6,480
	portugalka	P1	8,020	7,720	7,470	6,520	7,360	7,840
		P2	7,940	7,880	7,570	6,450	7,450	7,860
		P3	7,850	7,750	7,580	6,460	7,450	7,920
	modra frankinja	MF1	8,960	8,540	8,060	7,030	7,990	8,690
		MF2	9,090	8,700	8,100	7,070	8,020	8,680
		MF3	9,120	8,700	8,030	7,060	8,050	8,620
ton barve	metliška črnina	MČ1	0,610	0,636	0,633	0,680	0,655	0,647
		MČ2	0,610	0,641	0,634	0,677	0,659	0,639
		MČ3	0,608	0,638	0,633	0,677	0,650	0,645
	portugalka	P1	0,678	0,690	0,679	0,732	0,695	0,690
		P2	0,611	0,690	0,687	0,733	0,694	0,688
		P3	0,667	0,690	0,685	0,730	0,694	0,691
	modra frankinja	MF1	0,634	0,639	0,652	0,679	0,575	0,643
		MF2	0,637	0,639	0,650	0,676	0,582	0,644
		MF3	0,637	0,643	0,650	0,684	0,577	0,645



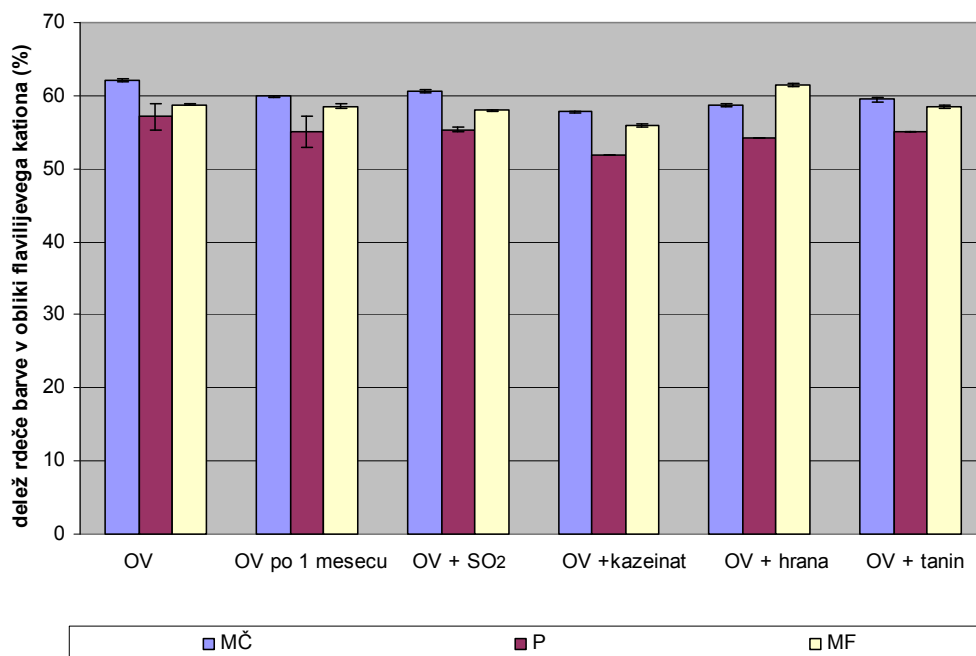
Priloga C2: Intenziteta barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi



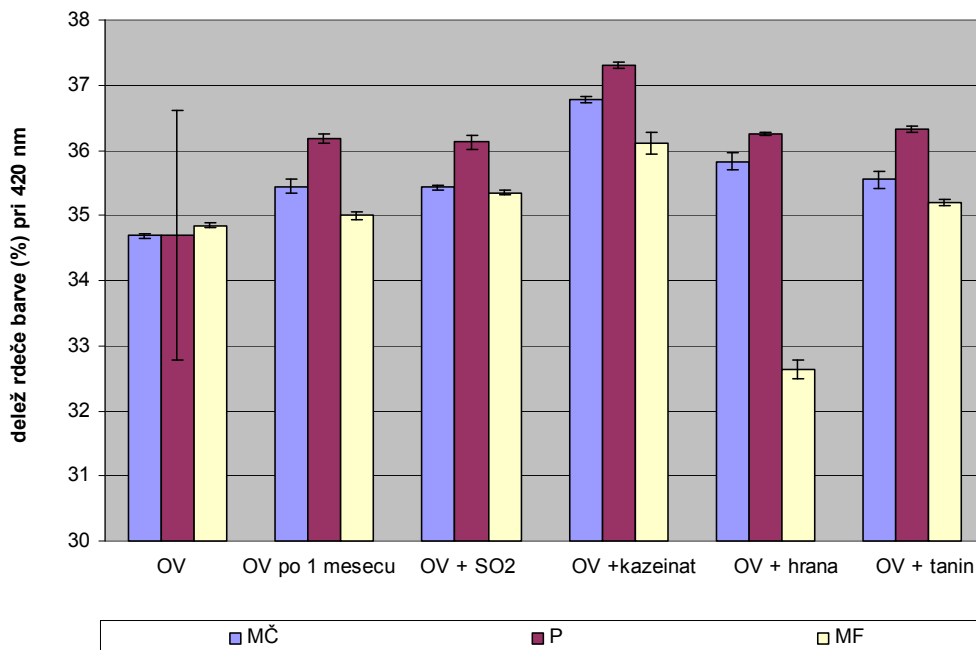
Priloga C3: Ton barve v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga C4: Rezultati vpliva zorenja in dodatka enoloških sredstev na določene deleže rdeče barve (%) v obliki flavilijevega kationa (dA_F) oziroma pri valovni dolžini 420, 520 in 620 nm v osnovnih vzorcih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

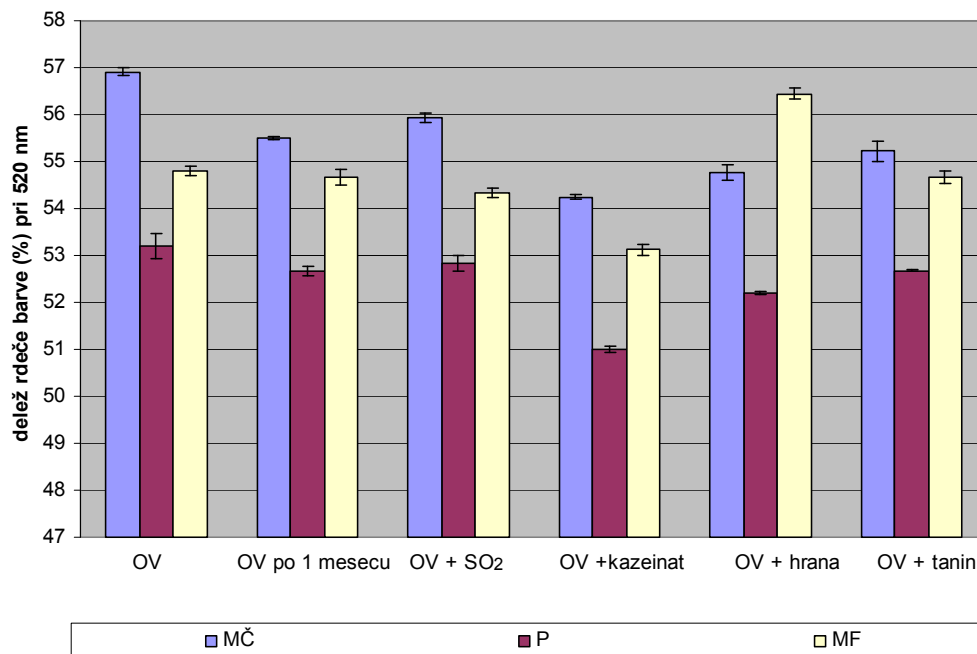
Parameter (enota)	Sorta/zvrst	Paralelka	vrednost parametra					
			OV	po enomesečnem zorenju				
				OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
dA_F (%)	metliška črnina	MČ1	62,15	59,94	60,69	57,71	58,71	59,10
		MČ2	62,00	59,83	60,39	57,87	58,38	59,80
		MČ3	62,32	59,97	60,69	57,87	58,98	59,50
	portugalka	P1	55,65	54,93	55,68	51,81	54,17	55,08
		P2	59,12	55,29	55,14	51,98	54,24	55,07
		P3	56,55	55,02	55,25	51,82	54,24	55,04
	modra frankinja	MF1	58,94	58,76	57,78	56,02	61,62	58,72
		MF2	58,73	58,61	57,95	55,98	61,28	58,63
		MF3	58,62	58,23	58,12	55,61	61,34	58,30
dA_{420} (%)	metliška črnina	MČ1	34,73	35,33	35,41	36,83	35,86	35,59
		MČ2	34,67	35,55	35,46	36,75	35,95	35,40
		MČ3	34,66	35,44	35,41	36,75	35,69	35,65
	portugalka	P1	35,91	36,27	36,01	37,27	36,28	36,35
		P2	32,49	36,17	36,20	37,36	36,24	36,26
		P3	35,67	36,13	36,15	37,31	36,24	36,36
	modra frankinja	MF1	34,82	35,01	35,36	36,13	32,54	35,21
		MF2	34,87	34,94	35,31	35,93	32,79	35,25
		MF3	34,87	35,06	35,37	36,26	32,55	35,15
dA_{520} (%)	metliška črnina	MČ1	56,91	55,52	55,99	54,18	54,77	55,00
		MČ2	56,82	55,45	55,80	54,27	54,58	55,43
		MČ3	57,00	55,54	56,00	54,27	54,93	55,25
	portugalka	P1	52,99	52,59	53,01	50,92	52,17	52,68
		P2	53,15	52,79	52,71	51,01	52,21	52,67
		P3	53,50	52,65	52,77	51,08	52,21	52,65
	modra frankinja	MF1	54,91	54,80	54,22	53,20	56,57	54,78
		MF2	54,79	54,71	54,32	53,18	56,36	54,72
		MF3	54,71	54,48	54,42	52,97	56,40	54,52
dA_{620} (%)	metliška črnina	MČ1	8,36	9,15	8,60	8,99	9,38	9,40
		MČ2	8,51	9,00	8,74	8,97	9,48	9,16
		MČ3	8,31	9,02	8,60	8,97	9,38	9,10
	portugalka	P1	11,10	11,14	10,98	11,81	11,55	10,97
		P2	10,96	11,04	11,10	11,63	11,54	11,07
		P3	10,96	11,23	11,08	11,63	11,54	10,98
	modra frankinja	MF1	10,27	10,19	10,42	10,67	10,89	10,01
		MF2	10,34	10,34	10,37	10,89	10,85	10,02
		MF3	10,42	10,46	10,21	10,76	11,06	10,32



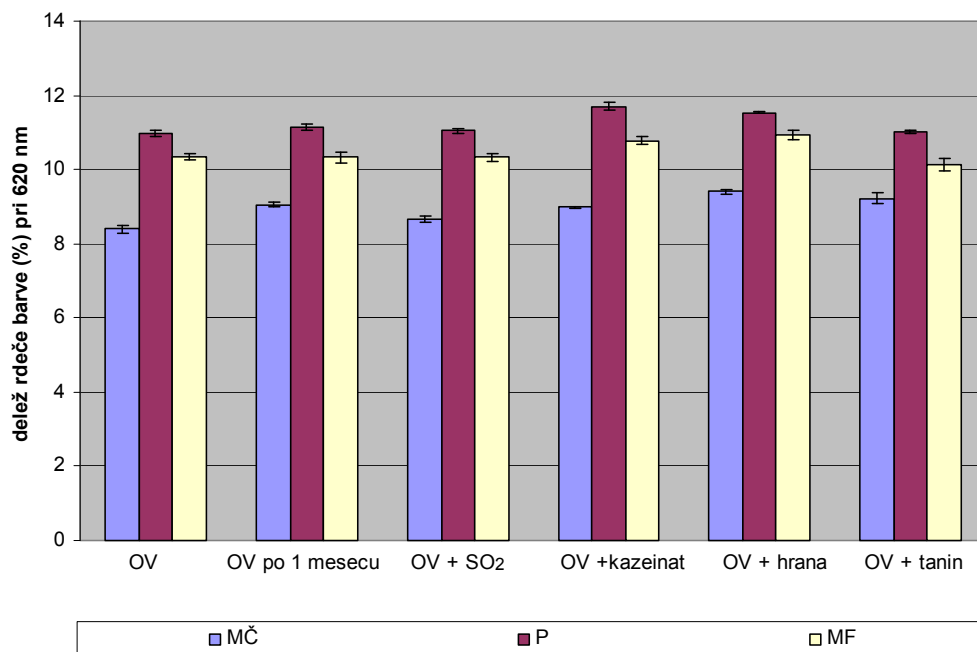
Priloga C5: Deleži (%) rdeče barve prostih in vezanih antocianov v obliki flavilijevega kationa (dA_F) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi



Priloga C6: Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 420 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi



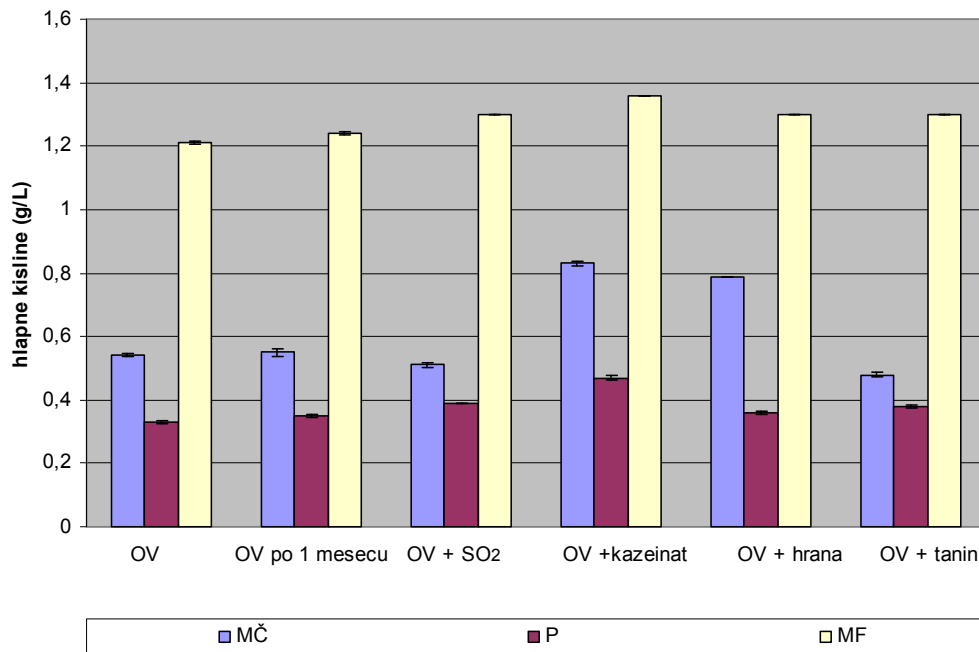
Priloga C7: Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 520 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi



Priloga C8: Deleži (%) rdeče barve pri valovni dolžini 620 nm v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga D1: Rezultati določanja koncentracije hlapnih kislin (g/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

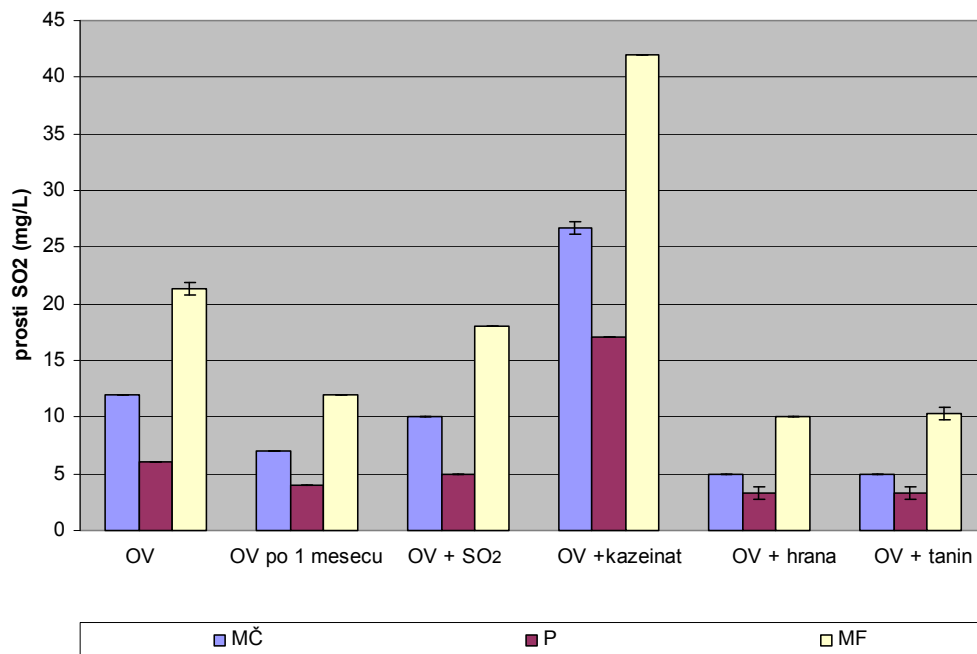
Sorta/zvrst	Paralelka	hlapne kisline (g/L)					
		OV	po enomesečnem zorenju				
			OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
metliška črnina	MČ1	0,55	0,56	0,56	0,68	0,56	0,65
	MČ2	0,54	0,56	0,56	0,67	0,56	0,64
	MČ3	0,54	0,54	0,57	0,67	0,56	0,64
portugalka	P1	0,34	0,34	0,39	0,47	0,36	0,38
	P2	0,33	0,35	0,39	0,47	0,36	0,37
	P3	0,33	0,35	0,39	0,48	0,37	0,38
modra frankinja	MF1	1,21	1,23	1,30	1,36	1,30	1,30
	MF2	1,21	1,24	1,30	1,36	1,30	1,30
	MF3	1,22	1,24	1,30	1,36	1,30	1,30



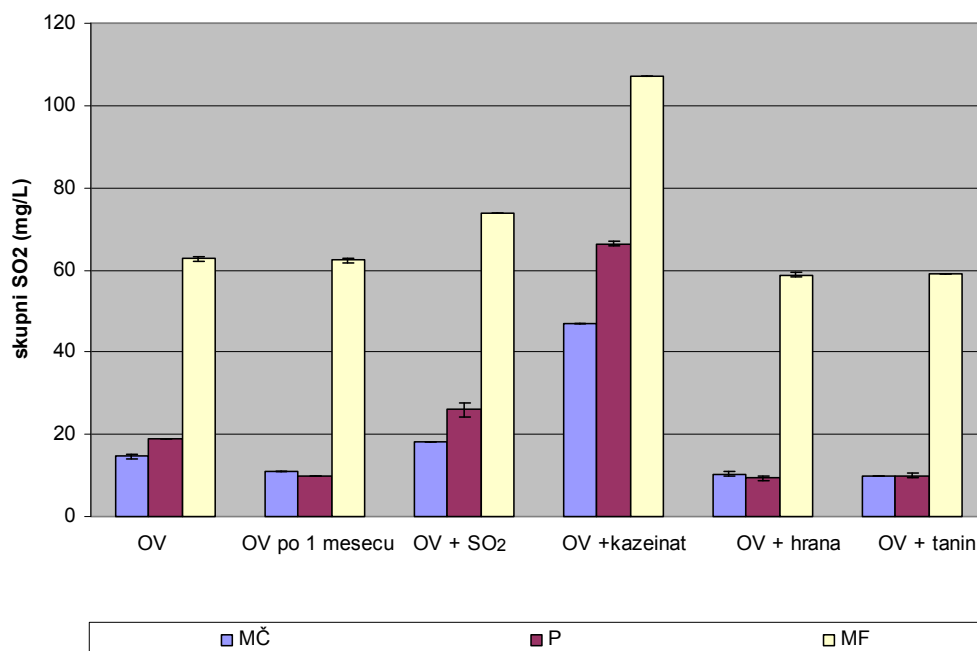
Priloga D2: Koncentracije hlapnih kislin (g/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga D3: Rezultati določanja koncentracije prostega in skupnega SO₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Parameter (enota)	Sorta/zvrst	Paralelka	koncentracija SO ₂ (mg/L)					
			OV	po enomesečnem zorenju				
				OV	OV+SO ₂	OV+kazeinat	OV+hrana	OV+tanin
prosti SO ₂ (mg/L)	metliška črnina	MČ1	12	7	10	27	5	5
		MČ2	12	7	10	27	5	5
		MČ3	12	7	10	26	5	5
	portugalka	P1	6	4	5	17	4	3
		P2	6	4	5	17	3	3
		P3	6	4	5	17	3	4
	modra frankinja	MF1	21	12	18	42	10	10
		MF2	21	12	18	42	10	10
		MF3	22	12	18	42	10	11
skupni SO ₂ (mg/L)	metliška črnina	MČ1	15	11	18	47	10	10
		MČ2	14	11	18	47	10	10
		MČ3	15	11	18	47	11	10
	portugalka	P1	19	10	27	66	10	9
		P2	19	10	27	66	9	9
		P3	19	10	24	67	9	10
	modra frankinja	MF1	63	62	74	107	59	59
		MF2	63	63	74	107	59	59
		MF3	62	62	74	107	58	59



Priloga D4: Koncentracije prostega SO₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi



Priloga D5: Koncentracije skupnega SO₂ (mg/L) v osnovnih vinih (OV), OV po enem mesecu zorenja in OV po enem mesecu zorenja z dodanimi enološkimi sredstvi

Priloga E1: Prispevek dodatka enološkega sredstva na proučevane kemijske parametre (povprečna vrednost treh meritev \pm standardni odmik)

Parameter (enota)	Enološko sredstvo (količina dodatka v g/hL)			
	SO ₂ (10 g/hL)	kazeinat (40 g/hL)	hrana (30 g/hL)	tanin (10 g/hL)
AOP (mmol/L)	1,12	0,20	0,02	1,53
	1,11	0,21	0,03	1,54
	1,11	0,21	0,03	1,54
	1,11\pm0,01	0,21\pm0,01	0,03\pm0,01	1,54\pm0,01
skupni fenoli (mg/L)	34,2	38,2	/	57,2
	33,2	36,2	/	56,2
	34,2	38,2	/	56,2
	33,87\pm0,58	37,53\pm1,15	/	56,53\pm0,58
netanini (mg/L)	/	18,0	/	0,5
	/	20,5	/	5,5
	/	18,0	/	0,5
	/	18,83\pm1,44	/	2,17\pm2,89
tanini (mg/L)	/	20,2	/	56,7
	/	15,7	/	50,7
	/	20,2	/	55,7
	/	18,7\pm2,60	/	54,37\pm3,21
neflavonoidi (mg/L)	3,2	10,2	/	6,2
	2,2	10,2	/	8,2
	3,2	10,2	/	6,2
	3,20\pm0,00	10,2\pm0,00	/	6,87\pm1,15
flavonoidi (mg/L)	31,0	28,0	/	51,0
	31,0	26,0	/	48,0
	31,0	28,0	/	50,0
	31,00\pm0,00	27,33\pm1,15	/	49,67\pm1,53
antociani (mg/L)	0,773	0,000	0,000	0,000
	0,773	0,000	0,387	0,000
	0,773	0,000	0,000	0,000
	0,773\pm0,000	0,00\pm0,000	0,129\pm0,223	0,00\pm0,000

Priloga E2: Prispevek dodatka enološkega sredstva na proučevane kemijske parametre (povprečna vrednost treh meritev \pm standardni odmik)

Parameter (enota)	Enološko sredstvo (količina dodatka v g/hL)			
	SO ₂ (10 g/hL)	kazeinat (40 g/hL)	hrana (30 g/hL)	tanin (10 g/hL)
intenziteta barve	0,001	0,001	0,026	0,005
	0,001	0,002	0,026	0,004
	0,001	0,001	0,026	0,005
	0,001\pm0,000	0,001\pm0,001	0,026\pm0,000	0,005\pm0,001
ton barve	0,000	1,000	1,238	2,500
	0,000	2,000	1,238	2,000
	0,000	1,000	1,238	2,500
	0,000\pm0,000	1,333\pm0,577	1,238\pm0,000	2,333\pm0,289
hlapne kisline (g/L)	0,20	0,21	0,15	0,12
	0,20	0,20	0,15	0,13
	0,19	0,21	0,15	0,13
	0,20\pm0,01	0,21\pm0,01	0,15\pm0,00	0,13\pm0,01
prosti SO ₂ (mg/L)	2	10	1	1
	2	10	1	1
	2	10	1	1
	2,00\pm0,00	10,00\pm0,00	1,00\pm0,00	1,00\pm0,00
skupni SO ₂ (mg/L)	4	12	2	2
	4	12	2	2
	4	12	2	1
	4,00\pm0,00	12,00\pm0,00	2,00\pm0,00	1,17\pm0,577