

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Aleš KUNEJ

**VPLIV ENOLOŠKIH SREDSTEV NA IZLOČANJE VINSKEGA
KAMNA**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE INFLUENCE OF ENOLOGICAL AGENTS ON POTASSIUM
HYDROGEN TARTRATE PRECIPITATION**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2006

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v laboratoriju Katedre za vinarstvo na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani. Del analiz je bil opravljen na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorja imenovala doc. dr. Tatjano Košmerl in za recenzenta doc. dr. Rajka Vidriha.

Mentor: doc. dr. Tatjana Košmerl

Recenzent: doc. dr. Rajko Vidrih

Komisija za zagovor in oceno:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Aleš Kunej

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 663.252.39 + 663.256(043)=863
- KG vino/vinski kamen/kalijev hidrogentartrat/KHT/stabilizacija/kristalizacija/čiščenje/
enološka sredstva/koloidni delci
- AV KUNEJ, Aleš
- SA KOŠMERL, Tatjana (mentor)/ VIDRIH, Rajko (recenzent)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2006
- IN VPLIV ENOLOŠKIH SREDSTEV NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XI, 58 str., 7 pregl., 35 sl., 4 pril., 43 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Kalijev hidrogentartrat (KHT) je naravno prisotna sol v vinih. Če se želimo izogniti pojavu kristalov vinskega kamna v steklenicah, je vina potrebno stabilizirati. Namen diplomske naloge je bil ugotoviti vpliv uporabe različnih enoloških sredstev (bentonit, metavinska kislina, PVPP, silicijev dioksid in želatina gumiarabika, jajčni beljak in manoproteini) na temperaturno odvisnost izločanja, kinetiko in indukcijski čas kristalizacije kalijevega hidrogentartrata (KHT) v mladem rdečem in belem vinu. Zastavljeni eksperimenti so simulirali tehnološki proces stabilizacije vina v kletah (s hlajenjem, brez mešanja in z dodatkom različnih stabilizacijskih in čistilnih sredstev kot trdnih snovi). Izločanje KHT smo ugotavljali z merjenjem prevodnosti in vsebnosti kalija, medtem ko smo vzorce vina in modelne alkoholne raztopine hladili (iz 20 °C na 3 °C). Meritve prevodnosti v rdečih vinih so potrdile inhibitoren vpliv dodatkov enoloških sredstev v vino (metavinska kislina, gumiarabika, manoproteini, jajčni beljak), ki se kaže v zmanjšanih izmerjenih vrednostih prevodnosti. Omenjenega inhibitornega učinka ne moremo potrditi za enološka sredstva (bentonit, PVPP, silicijev dioksid in želatina), ki smo jih dodali v bela vina. Pri poskusih na modelnih alkoholnih raztopinah prenasajenih s KHT je v nasprotju s poskusi na vinu prišlo do močnega izločanja KHT med postopkom hlajenja. Na mikroskopskih posnetkih kristalov izločenih iz hladno-stabiliziranega rdečega in belega vina so opazne razlike v zunanji morfologiji kristalov kot posledica različne vsebnosti fenolnih spojin v rdečem oziroma belem vinu.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC UDC 663.252.39 + 663.256(043)=863

CX wine/tartrates/potassium hydrogen tartrate/KHT/stabilization/crystallization/fining/
enological agents/colloids

AU KUNEJ, Aleš

AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/VIDRIH, Rajko (reviewer)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and
Technology

PY 2006

TI THE INFLUENCE OF ENOLOGICAL AGENTS ON POTASSIUM HYDROGEN
TARTRATE PRECIPITATION

DT Graduation thesis (University studies)

NO XI, 58 p., 7 tab., 35 fig., 4 ann., 43 ref.

LA sl

AL sl/en

AB Potassium hydrogen tartrate (KHT) is a natural occurring salt in wines. To avoid the formation of KHT crystals in bottles, it is necessary to stabilize wines before bottling. The main objective of the present study was to investigate how additions of the various oenological agents (bentonite, metatartaric acid, PVPP, silica gel, gelatin, gum arabic, egg-whites and mannoproteins) influence the KHT precipitation, kinetics and induction time of crystallization as a function of temperature in the young red and white wines. The experiments were simulating the technological process of the wine stabilization in the wine cellar (with refrigeration, without mixing and with additions of different stabilizing and fining agents as solid substances). The precipitation of KHT was investigated by the measurements of conductivity and potassium concentrations during the refrigeration process (from 20 °C to 3 °C) on wines and on model water-ethanol solutions. The conductivity measurements of red wines have shown some inhibitory effect of additions of oenological agents (metatartaric acid, gum arabic, mannoproteins and egg-whites). No such inhibitory effect was confirmed for the enological agents (bentonite, PVPP, silica gel and gelatin) that were added to the white wine. The experiments on model water-ethanol solutions that were saturated with KHT showed contrary to the experiments on wines, a strong precipitation of KHT during the chilling process. On the microscopic images of crystals that precipitated from the cold stabilized red and white wines, the difference in the external morphology of crystals was observed, which was due to the different content of phenolic compounds in red and white wines.

KAZALO

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	XI
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XII
1 UVOD	1
1.1 DELOVNA HIPOTEZA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 VINSKI KAMEN	3
2.1.1 Kalijev hidrogentartrat.....	4
2.1.2 Kalcijev tartrat	5
2.2 POMEN ELEKTROLITSKE PREVODNOSTI PRI DOLOČANJU VINSKEGA KAMNA	6
2.3 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA	7
2.3.1 Vpliv temperature, alkohola in pH	7
2.3.2 Vpliv zaščitnih koloidov	8
2.3.2.1 Polifenoli	8
2.3.2.2 Beljakovine	9
2.3.2.3 Minerali	9
2.4 ČIŠČENJE OZIROMA LEPSANJE VINA	9
2.4.1 Mehanizem delovanja	9
2.4.2 Pomen čistilnih poskusov	10
2.4.3 Razdelitev čistilnih sredstev.....	10
2.4.3.1 Razdelitev glede na izvor	10
2.4.3.2 Razdelitev glede na električni naboj.....	11
2.4.4 Vrste čistilnih sredstev	11
2.4.4.1 Bentonit	11
2.4.4.2 Gumiarabika	11
2.4.4.3 Želatina	12
2.4.4.4 Jajčni beljak	12
2.4.4.5 Silicijev dioksid	13
2.4.4.6 Polivinilpolipirolidon (PVPP)	13
2.5 STABILIZACIJA VINA NA VINSKI KAMEN	14
2.5.1 Kemijska stabilizacija	14
2.5.1.1 Metavinska kislina	15
2.5.1.2 Manoproteini	16
2.5.1.3 Karboksilmetilceluloza	19

2.5.2	Fizikalna stabilizacija	20
2.5.2.1	Hladna stabilizacija.....	20
2.6	TESTI ZA DOLOČITEV STABILNOSTI VINA NA VINSKI KAMEN	21
2.6.1	Test z zmrzovanjem	21
2.6.2	Določanje indeksa tartratne stabilnosti (ITS)	21
2.6.3	Testi na osnovi temperaturi prenasičenja	21
2.6.3.1	Wurdigov test	21
2.6.3.2	Test optimizirane temperature prenasičenja	21
2.6.4	Mini kontaktni testi	22
2.6.5	Test na osnovi analitskih meritev	22
3	MATERIAL IN METODE	23
3.1	MATERIAL IN NAČRT DELA	23
3.2	METODE DELA	25
3.2.1	Določanje fenolnih spojin	25
3.2.2	Določanje barve vina	25
3.2.3	Določanje alkohola	25
3.2.4	Določanje vrednosti pH, pufrne kapacitete in skupnih kislin	26
3.2.4.1	Določanje vrednosti pH	26
3.2.4.2	Določanje skupnih titrabilnih kislin	26
3.2.4.3	Določanje dejanske pufrne kapacitete	26
3.2.5	Merjenje specifične elektrolitske prevodnosti	27
3.2.6	Določanje kalija	29
3.2.6.1	Kvantitativno določanje izločenega vinskega kamna po hladni stabilizaciji	30
3.2.7	Zunanja morfologija kristalov	30
4	REZULTATI	31
4.1	REZULTATI MERJENJA SPECIFIČNE ELEKTROLITSKE PREVODNOSTI IN VSEBNOSTI KALIJA	31
4.2	REZULTATI KEMIJSKIH ANALIZ VINA	44
4.2.1	Rezultati določanja fenolnih spojin	44
4.2.2	Rezultati določanja vrednosti pH, skupnih kislin in pufrne kapacitete ...	45
4.2.3	Rezultati določanja barve vina	48
4.2.4	Rezultati fotografiranja zunanje morfologije kristalov	50
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	52
5.1	RAZPRAVA	52
5.2	SKLEPI	54
6	POVZETEK	55
7	VIRI	57

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1	Topnost KHT v alkoholnih raztopinah (v g KHT/100mL) (Berg in Keefer, 1958).....	5
Preglednica 2	Potek stabilizacije na vinski kamen ovrednoten s testom z zmrzovanjem (6 dni pri $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$) različnih belih vin zorenih na drožeh (2 letnika) (Moine-Ledoux in sod., 2005).....	16
Preglednica 3	Primerjava stabilizacijskega učinka toplotno obdelanih manoproteinov (TOM) in encimsko obdelanih manoproteinov (EOM) (Moine-Ledoux in sod., 2005).....	17
Preglednica 4	Prikaz delovanja pripravka Mannostab z uporabo različnih testov (Temperatura prenasičenja, temperatura kristalizacije, zmrzovanje, mini kontakt) (Moine-Ledoux in sod., 2005).....	17
Preglednica 5	Nastavitev čistilnih poskusov.....	23
Preglednica 6	Sestava alkoholnih raztopin.....	24
Preglednica 7	Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija.....	29

KAZALO SLIK

Slika 1	Odvisnost relativne koncentracije disociacijskih oblik vinske kisline od vrednosti pH (Jackson, 2002).....	7
Slika 2	Reakcija poliesterifikacije metavinske kisline (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).....	15
Slika 3	Opazovanje razvoja kristalov KHT pod mikroskopom v raztopini z in brez dodanih manoproteinov (Moine-Ledoux in sod., 2005).....	18
Slika 4	Količina dodanih manoproteinov v odvisnosti od koncentracije kalija med mini-kontaktim testom (Moine-Ledoux in sod., 2005).....	18
Slika 5	Strukturna zgradba molekule karboksimetilceluloze (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).....	19
Sliki 6a in 6b	Izvedba čistilnih poskusov na vzorcih rdečega in belega vina v 1,5 L plastenkah.....	23
Sliki 7a in 7b	Izločen vinski kamen na steni plastenke po hladni stabilizaciji pri vzorcu rdečega in belega vina (št. 2 in 8).....	24
Slika 8	Shema komponent sistema za merjenje prevodnosti: Termostat in hladna kopel (Lauda WK1400), merilni termostat (Lauda UB40) s potopljeno celico za merjenje prevodnosti, ki je priklopljena na sodobno merilno opremo (Bešter-Rogač in Habe, 2006).....	27
Slika 9	Posnetek računalniškega zaslona oziroma kontrolne plošče z nastavitvami za merjenje prevodnosti in grafičnim prikazom procesa merjenja (diagram prikazuje odvisnost upornosti od temperature).....	28
Slika 10	Temperaturna odvisnost elektrolitskih prevodnosti vzorcev rdečih vin in alkoholne raztopine med postopkom hlajenja.....	31
Slika 11	Temperaturna odvisnost elektrolitskih prevodnosti vzorcev belih vin in alkoholne raztopine med postopkom hlajenja.....	32
Slika 12	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri kontrolnem vzorcu rdečega vina.....	33
Slika 13	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri hladno stabiliziranem vzorcu rdečega vina.....	34
Slika 14	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu rdečega vina z dodatkom gumiarabike.....	35
Slika 15	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu rdečega vina z dodatkom metavinske kisline.....	36

Slika 16	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu rdečega vina z dodatkom jajčnega beljaka.....	36
Slika 17	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu rdečega vina z dodatkom manoproteinov.....	37
Slika 18	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri kontrolnem vzorcu belega vina.....	38
Slika 19	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri hladno stabiliziranem vzorcu belega vina.....	39
Slika 20	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu belega vina z dodatkom bentonita.....	40
Slika 21	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu belega vina z dodatkom metavinske kisline.....	40
Slika 22	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu belega vina z dodatkom polivinilpolipirolidona (PVPP).....	41
Slika 23	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu belega vina z dodatkom kombinacije silicijevega dioksida in želatine.	41
Slika 24	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu alkoholne raztopine za rdeče vino.....	42
Slika 25	Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu alkoholne raztopine za belo vino.....	43
Slika 26	Primerjava vsebnosti fenolnih spojin (v mg galne kisline/L) med vzorci belega in rdečega vina z dodatki različnih enoloških sredstev...	44
Slika 27	Vrednosti pH vzorcev belega in rdečega vina z dodatki različnih enoloških sredstev izmerjene pred in po postopku hlajenja.....	45
Slika 28	Vsebnosti skupnih titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) belega in rdečega vina z dodatki različnih enoloških sredstev izmerjene pred in po postopku hlajenja.....	46
Slika 29	Vrednosti dejanske pufrne kapacitete vzorcev belega, rdečega vina pred in po postopkom hlajenja in alk. raztopin po postopku hlajenja...	47
Slika 30	Intenziteta in ton barve belih vin z dodatki različnih enoloških sredstev.....	48

Slika 31	Intenziteta in ton barve belih vin z dodatki različnih enoloških sredstev.....	49
Sliki 32a in 32b	Zunanja morfologija kristalov rdečega in belega vina pri 100-kratni povečavi.....	50
Sliki 33a in 33b	Zunanja morfologija kristalov rdečega pri 500-kratni povečavi in belega vina pri 1000-kratni povečavi.....	50
Sliki 34a in 34b	Zunanja morfologija kristalov rdečega in belega vina pri 1500-kratni povečavi.....	51
Sliki 35a in 35b	Zunanja morfologija kristalov rdečega in belega vina pri 5000-kratni povečavi.....	51

KAZALO PRILOG

- Priloga A Vsebnosti kalija pri vzorcih rdečega vina z dodatki različnih enoloških sredstev pri različnih temperaturah hlajenja
- Priloga B Vsebnosti kalija pri vzorcih belega vina z dodatki različnih enoloških sredstev pri različnih temperaturah hlajenja
- Priloga C Vsebnosti kalija modelnih alkoholnih raztopin za rdeče in belo vino pri različnih temperaturah hlajenja
- Priloga D Delež (%) rdeče barve, tj. prostih in vezanih antocianinov v obliki flavilijevega kationa in delež (%) barve pri posameznih valovnih dolžinah v vzorcih rdečega vina

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

χ – specifična elektrolitska prevodnost

[H₂T] – koncentracija vinske kisline

[HT⁻] – koncentracija kalijevega hidrogenartrata iona

[K⁺] – koncentracija kalijevega iona

alk. razt. – alkoholna raztopina

B – konstanta celice

CaT – kalcijev hidrogenartrat

CP – koncentracijski produkt

ITS – indeks tartratne stabilnosti vina

K₀ – prevodnost pri referenčni temperaturi

KHT – kalijev hidrogenartrat

kITS – kritični indeks tartratne stabilnosti vina

konc. – koncentracija

K_{SP} – topnostni produkt

K_t – prevodnost pri določeni temperaturi

l – razdalja med elektrodama

PVPP – polivinilpolipirrolidon

R – upornost celice

S – Siemens

S_e – presek elektrod

SiO₂ – silicijev dioksid

T₀ – referenčna temperatura

T_{CS} – temperatura kristalizacije

T_{sat} – temperatura prenasičenja

T_t – merjena temperatura

vz. – vzorec

α – delež HT⁻ ionov pri danih pogojih

α_0 – temperaturni koeficient spremembe prevodnosti pri referenčni temperaturi

ρ – specifična upornost

1 UVOD

Po končani alkoholni fermentaciji vino vsebuje veliko trdnih delcev v suspenziji: rastlinski ostanki (koščki pecljev, kožic, jagodnega mesa), kvasovke in ostali mikroorganizmi (odmrli in živi); molekularne strukture v koloidnem stanju in nasičene soli, ki so v obliki kristalov ali povsem brez oblike. Bistrost vina je zelo pomemben kriterij in pride najprej do izraza med senzoričnim ocenjevanjem kakovosti. Temu kriteriju mora biti zadoščeno v celotnem procesu komercializacije vse do trenutka uživanja vina.

Stabilizacija vina na vinski kamen predstavlja tehnični izziv v enologiji in pridobiva vse večji pomen, saj se vse več vina namenja za izvoz. Pojav kristalov vinskega kamna v steklenici je naraven proces, ki ne poslabša okusa niti arome vina in ne škoduje zdravju. Kljub temu se mu je treba izogniti iz več razlogov in sicer zaradi:

- vizualnega efekta; kupci pogosto zamenjujejo kristale z drobci stekla, sladkorjem ali celo z ostanki kemikalij;
- ekonomskih razlogov; lahko pride do reklamacije celotnih pošiljk vina;
- kristali lahko pri penečih vinih povzročijo dodatno izgubo vina med odpiranjem steklenic.

Z izjemo nekaterih prestižnih vin posebnih letnikov je prisotnost kristalov vinskega kamna in motnost v vinu nedopustna. Sodobni potrošnik v večini primerov zahteva zelo dobro čistost ne glede na starost vina. Vse bolj strogi so tudi predpisi o primernosti vina še posebej za izvoz na tuji trg. Da vinar lahko zadosti vsem sodobnim zahtevam, mora vino najprej zbistriti in nato tudi stabilizirati, da se vzpostavi fizikalno-kemijska in mikrobiološka stabilnost v širokih mejah sprememb zunanjih pogojev hranjenja, transporta, staranja, itd.

Bistrenje vina se lahko odvija naravno (nastajanje droži s postopnim usedanjem motnih delcev), ko se po končani alkoholni fermentaciji neha sproščati CO₂ in pade temperatura. Ta postopek se lahko pospeši s pomočjo uporabe enoloških čistilnih sredstev in s filtracijo.

Cilj stabilizacije je ohraniti bistrost in preprečiti potencialne napake vina med hranjenjem v steklenicah. Postopke stabilizacije je potrebno izvajati razumno in s previdnostjo, da vinu omogočimo normalen in harmoničen razvoj med zorenjem. Čiščenje in stabilizacija vina sta dve metodi, ki se med seboj dopolnjujeta. Filtracija npr. spada med postopke bistrenja, vendar vina ne stabilizira na vinski kamen (razen v primeru, da filtriramo že izločene kristale vinskega kamna in na ta način preprečimo njihovo nadaljnjo rast). Obratno ima dodatek gumiarabike stabilizacijski učinek, toda vina ne zbistri.

Postopke čiščenja in stabilizacije vina lahko razvrstimo v naslednjem vrstnem redu (Peynaud, 1983):

- izboljšava barve vina po potrebi s pomočjo aktivnega oglja (za vina z neželeno barvno noto) ali s kazeini (za maderizirana vina);
- čiščenje vina s sedimentacijo (uporaba enoloških čistilnih sredstev, centrifug);

- stabilizacija za doseg bistrosti s fizikalnimi postopki (hlajenje, segrevanje) in kemijskimi postopki (dodatek bentonita, metavinske kisline, gumiarabike, askorbinske kisline, citronske kisline, kalijevega ferocianida, idr.);
- mikrobiološka stabilizacija (uporaba protimikrobnih sredstev – sorbinska kislina, žveplov dioksid, segrevanje, filtracija).

Stabilnost na izločanje kristalov vinskega kamna dosežemo (Košmerl, 2004):

- s predhodno pospešeno kristalizacijo in odstranitvijo kristalov pred stekleničenjem; (fizikalni postopki stabilizacije);
- z odložitvijo ali inhibicijo (zadrževanjem) kristalizacije za določen čas.

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti vpliv uporabe različnih enoloških sredstev na temperaturno odvisnost izločanja, kinetiko in indukcijski čas kristalizacije kalijevega hidrogentartrata (KHT) v mladih vinih. Zastavljeni eksperimenti bodo simulirali tehnološki proces stabilizacije vina v kletah (s hlajenjem, brez mešanja in z dodatkom različnih enoloških sredstev kot trdnih snovi). Predvidevamo, da spreminjanje temperature med eksperimentom vpliva na prenasičenje, na indukcijski čas in na prevodnost raztopine.

Verjetno bo preverjanje skladnosti teoretske enačbe z rezultati težko, dobljeni rezultati pa bodo vsekakor dober pokazatelj vpliva uporabe enoloških sredstev na spremembo sestave vina in s tem na celokupen potek kristalizacije.

1.1 DELOVNA HIPOTEZA

Primerjalni eksperimenti z modelnimi alkoholnimi raztopinami bodo pojasnili vpliv osnovne kemijske sestave vina, ki naj bi po pričakovanjih z naraščajočo koncentracijo posameznih topljencev značilno vplivali na indukcijski čas kristalizacije odvisno od sredstev. Dodatek kalijevega hidrogentartrata (KHT) skrajša indukcijski čas, medtem ko vsa ostala dodana enološka sredstva (gumiarabika, metavinska kislina, manoproteini, želatina, PVPP, jajčni beljak in bentonit) podaljšajo indukcijski čas kristalizacije. To bomo potrdili tudi na realnih vzorcih mladih belih in rdečih vin, katerim bomo pri končni tehnološki obdelavi vina pred stekleničenjem dodali različna enološka sredstva in jim določili pH, vsebnost kislin in fenolov. Na osnovi dobljenih rezultatov bomo lahko sklepali na časovni potek stabilizacije vina na izločanje vinskega kamna pri različnih temperaturah.

2 PREGLED OBJAV

2.1 VINSKI KAMEN

Vinska kislina je v vodni raztopini prisotna v treh oblikah, in sicer kot nedisociirana vinska kislina (H_2T) kot hidrogenotartratni ioni (HT^-) in kot tartratni ioni (T_2^-). Delež hidrogenotartratnih ionov v raztopini je največji pri pH 3,7.

Kristalizacija je odvisna od več dejavnikov, in sicer od (Zoecklein, 2002):

- koncentracije soli in ostalih komponent, ki so lahko vključene v kristalizacijsko ravnovesje;
- prisotnosti kristalizacijskih jeder, na katerih se nadaljuje rast kristalov;
- prisotnosti inhibitorjev rasti kristalov.

V splošnem je rast kristalov v raztopini kontrolirana s transportom snovi v raztopini do površine kristalov (difuzija) in s hitrostjo migracije ionov topljenca na površini kristala do končnega mesta. Prvi parameter je v glavnem odvisen od temperature, drugi pa od velikosti kristalov in nečistoč v raztopini, ki lahko pospešujejo ali zavirajo rast kristalov. V vinu so te »nečistoče« koloidi kot npr. proteini, čistilna sredstva, fenoli, pektini in drugi ogljikovi hidrati. Med temi spojinami ter ioni K^+ in HT^- lahko pride do interakcije, kar prepreči njihovo migracijo po površini kristalov. Možno pa je tudi, da te nečistoče služijo kot kristalizacijska jedra, kar skrajša indukcijski čas kristalizacije vinskega kamna. Iz navedenih dejstev lahko ugotovimo, da ne moremo predvideti časa stabilizacije pri izbrani temperaturi. V vinih so torej prisotne spojine, ki vplivajo na hitrost rasti kristalov vinskega kamna pri procesu kristalizacije. Vplivajo lahko tako, da reagirajo z ioni K^+ ali HT^- in s tem zmanjšujejo vsebnost ionov v vinu ali pa zavirajo rast kristalov. Spojine, ki povzročijo ta dva efekta lahko uporabimo kot inhibitorje kristalizacije in posredno kot stabilizacijska sredstva. Dodatek teh spojin v vino poveča stabilnost vina na vinski kamen brez uporabe hlajenja. V tem primeru pri pridelavi vina prihranimo energijo (Celotti in sod., 1999).

Na splošno je potrebna določena stopnja prenasičenja, da se lahko začnejo tvoriti jedra. Čim se enkrat pojavi tvorba jeder, bo prišlo do nadaljnje rasti kristalov in posledično do izločanja vinskega kamna. Med alkoholno fermentacijo KHT postaja vse bolj netopen, kar vodi v prenasičenje. Zato se stabilnost na vinski kamen lahko večkrat doseže po naravni poti (Zoecklein, 2002).

Pri ustreznem pH vina in ob prisotnosti kalijevih in kalcijevih kationov vinska kislina tvori različne slabo topne oborine (Ribéreau-Gayon in sod., 2004):

- kalijev hidrogenotartrat (KHT) ali kalijev bitartrat, $KHC_4H_4O_6$;
- kalijev tartrat (K_2T);
- kalcijev tatrat (CaT), ki ga zapišemo s formulo $CaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$;
- dvojni kalijev in kalcijev tartrat;
- kalcijev tartaromalat (mešana ali dvojna sol).

Dvojni kalijev in kalcijev tartrat ter kalcijev tartaromat tvorita slabo topno oborino pri pH nad 4,5. Se pa razlikujeta glede topnosti, saj je dvojni kalijev in kalcijev tartrat bolj topen, medtem ko je kalcijev tartaromat relativno netopen in kristalizira v obliki igel. Ta mešana sol se lahko uporabi za odstranitev jabolčne kisline, bodisi delno, bodisi v celoti. Največ težav glede izločanja kristalov v vino pa povzročata kalijev hidrogentartrat (KHT) in kalcijev tartrat (CaT) (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).

2.1.1 Kalijev hidrogentartrat

Kalijev hidrogentartrat se začne tvoriti v času zorenja grozdja, ko trta črpa kalij iz zemlje v grozdne jagode. Med zorenjem se količina nedisociirane vinske kisline zmanjšuje na račun nastanka mono- in dikalijevih soli. Topnost vinske kisline je odvisna od sorte in klimatskih pogojev. Na količino tartratov vplivajo tudi lega, vinogradniška praksa in stopnja zrelosti grozdja. Količina kalija, ki ga vinska trta črpa iz zemlje, je odvisna od koreninskega sistema, tipa zemlje, namakanja, idr. Vsebnosti kalija in tartratov se torej razlikujejo glede na sorto, klimo, regijo, vinogradniško prakso. Posledica tega so različne vsebnosti kalijevega hidrogentartrata v vinih in s tem tudi možnost izločanja slabo topnega KHT v alkoholnih raztopinah. Topnost KHT je prvenstveno odvisna od stopnje alkohola, pH, temperature vina ter interaktivnih učinkov kationov in anionov v raztopini (Zoecklein, 2002).

KHT kristalizira v ortorombski prostorski skupini, specifična gostota teh kristalov je zelo blizu 2 g/cm^3 . Topnost ionskih spojin je zelo odvisna od dielektrične konstante topila. Večja kot je dielektrična konstanta, večja je topnost. Ker je dielektrična konstanta vode večja kot dielektrična konstanta alkoholne zmesi, se topnost kalijevega hidrogentartrata v vinu zmanjša. Poljubna ionska spojina se lahko obori, ko produkt koncentracij te spojine preseže topnostni produkt te substance pri specifičnih pogojih dela (Yair, 2004).

Koncentracijski produkt (CP) za KHT je definiran kot produkt koncentracij kalijevih ionov (K^+) in hidrogentartratnih ionov (HT^-). Ta produkt mora biti enak ali večji kot topnostni produkt (K_{SP}), da bo prišlo do izločanja vinskega kamna (relacija 1).

$$\text{K}_{\text{SP}} \leq [\text{K}^+] \cdot [\text{HT}^-] = [\text{K}^+] \cdot [\text{H}_2\text{T}] \cdot \alpha_{\text{HT}^-} \quad (1)$$

$[\text{K}^+]$ = koncentracija K^+ ionov v vinu pri danih pogojih v molih

$[\text{HT}^-]$ = koncentracija hidrogentartratnih ionov v vinu pri danih pogojih v molih

$[\text{H}_2\text{T}]$ = celokupna koncentracija vinske kisline pri danih pogojih v molih

α = delež HT^- ionov pri danih pogojih, ki je odvisen od konstant disociacije vinske kisline in od pH vina

Za izračun topnostnega produkta KHT v alkoholni raztopini moramo poznati topnost KHT in delež HT^- ionov. Topnost KHT je podana v preglednici 1 (Berg in Keefer, 1958).

Preglednica 1: Topnost KHT v alkoholnih raztopinah (g KHT/100 mL) (Berg in Keefer, 1958)

T (°C)	Alkohol (vol.%)						
	0	10	11	12	13	14	16
-4	0,200	0,105	0,098	0,091	0,086	0,081	0,070
0	0,225	0,126	0,117	0,111	0,104	0,098	0,086
5	0,266	0,158	0,149	0,140	0,132	0,124	0,110
10	0,342	0,202	0,191	0,181	0,171	0,163	0,146
15	0,417	0,245	0,235	0,225	0,213	0,203	0,183
20	0,492	0,308	0,292	0,277	0,263	0,251	0,226
25	0,566	0,353	0,347	0,320	0,302	0,288	0,260

KHT je topen v vodi in slabo topen v alkoholu. Topnost KHT je večja pri višji temperaturi.

2.1.2 Kalcijev tartrat

Kalcijev tartrat (CaT) je relativno netopna sol, desetkrat manj topna od KHT. Če ne pride do kakšne zunanje kontaminacije, lahko pride kalcij v vino v obliki kalcijevega bentonita, kalcijevega karbonata, ki služi za kemični razkis vina ali celo kot kontaminant v koncentratu za slajenje vina. Pri višjem pH lahko pride do prenasajenja vina s CaT, ki vodi v izločanje kristalov. Kristalizacija CaT se lahko pojavi tudi pri penecih vinih, ki pa imajo znatno nižji pH.

Obstaja tveganje, da bo prišlo do izločanja kalcijevih kristalov v steklenici, če je vsebnost kalcija več kot 60 mg/L v rdečih, oziroma več kot 80 mg/L v belih vinih. Preprečevanje izločanja CaT je dokaj zahtevno, saj kristalizacija KHT ne inducira kristalizacije CaT, nasprotno pa lahko kristalizacija CaT povzroči kristalizacijo KHT. Če najprej kristalizira KHT, potem koncentracija HT^- pade pod zadostno koncentracijo HT^- v topnostnem produktu CaT. V obrnjenem slučaju pa je sprememba koncentracije HT^- pri obarjanju s Ca^{2+} minimalna in še vedno zadošča za topnostni produkt KHT.

Da bi se izognili riziku izločanja CaT, mora biti temperatura prenasajenja pod 26 °C (v belih vinih) oziroma pod 35 °C (v rdečih vinih). V tem primeru ne pride do izločanja, če vino hranimo en mesec na 2 °C. Z dodatkom 100 mg/L metavinske kisline je možno zagotoviti stabilnost na izločanje CaT. Za stabilizacijo se uporablja tudi vinska kislina, ki s kalcijem tvori kalcijev racemat. Od fizikalnih postopkov pa omogočajo stabilnost ionska izmenjava in elektrodializa (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).

Nekatera čistilna sredstva kot so bentonit, aktivno oglje, PVPP in želatina povzročijo, da se tvorba nukleusov CaT prične kasneje (Berg in sod., 1968).

2.2 POMEN ELEKTROLITSKE PREVODNOSTI PRI DOLOČANJU VINSKEGA KAMNA

Elektrolitska prevodnost je sposobnost raztopine, da prevaja električni tok. Je obratno sorazmerna upornosti raztopine. Wurdig in Muller (1980) sta prva začela obravnavati vino kot elektrolit oziroma kot prevodno raztopino in ocenila izločanje vinskega kamna s pomočjo merjenja elektrolitske prevodnosti. Med samim izločanjem vinskega kamna preide kalijev hidrogentartrat kot prevodnik električnega toka iz raztopljenega, ioniziranega stanja v kristalizirano stanje, ko se izloči in ni več vključen v reakcije elektrolitske prevodnosti (relacija 2):



Princip merjenja prevodnosti je osnovan na nastanku električnega privlaka med elektrodama znotraj vina in v geometričnem smislu definiran kot razdalja l med obema platinastima elektrodama s presekom S_e . Upornost R (v Ohmih) celice, ki si jo predstavljamo med obema elektrodama lahko podamo z relacijo 3, ki velja za prevodne žice (Ribéreau-Gayon in sod., 2004):

$$R = \rho \cdot \frac{l}{S_e} \quad (3)$$

V tej relaciji ρ predstavlja specifično upornost raztopine, ki je obratno sorazmerna specifični elektrolitski prevodnosti (χ , $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Specifična upornost $\rho = RS_e/l$ obsega izraz S_e/l , znan tudi kot konstanta celice B (relacija 4). Ta konstanta je značilna za vsako celico posebej in se lahko nekoliko spreminja med dolgotrajno uporabo zaradi izrabe elektrod (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).

$$\rho = \frac{1}{\chi} = R \cdot \frac{S_e}{l} = \rho \cdot B \quad (4)$$

Merjenje prevodnosti nam pove, kolikšna je vsebnost vseh ionov v raztopini. Merjenje ni ionsko specifično, kar pomeni, da nam ne pove koliko vsakega tipa ionov prispeva k prevodnosti raztopine. Prevodnost raztopine z naraščajočo temperaturo narašča in obratno s padanjem temperature pada. Stopnjo naraščanja definira koeficient K_t v relaciji 5 (Racman, 2001):

$$K_t = K_0 \cdot (1 + \alpha_0 \cdot (T_t - T_0)) \quad (5)$$

kjer pomenijo: K_t prevodnost pri določeni temperaturi ($\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), K_0 prevodnost pri referenčni temperaturi ($\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), α_0 temperaturni koeficient spremembe prevodnosti pri referenčni temperaturi ($1/\text{K}$), T_t merjeno temperaturo (K) in T_0 referenčno temperaturo (K).

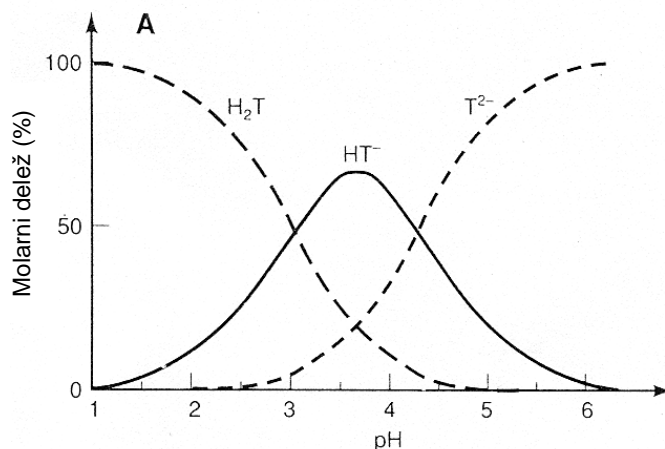
Temperaturna odvisnost je za vsako raztopino različna. Navadno je ta sprememba 2 % vrednosti na °C (Racman, 2001).

2.3 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA

2.3.1 Vpliv temperature, alkohola in pH

Količina KHT, ki bo ostala v raztopini v ionski obliki, je odvisna od naslednjih dejavnikov (Rankine, 1998):

- vsebnosti alkohola: višja kot je vsebnost alkohola, manj je topen KHT; zaradi tega pride do izločanja KHT med fermentacijo;
- temperature: nižja kot je temperatura, manj je topen KHT;
- pH: pri pH okrog 3,7 (odvisno od vsebnosti alkohola) je delež še topnega HT^- glede na celotno vsebnost vinske kisline največji. Če se pH premakne v katerokoli smer od 3,7, se delež HT^- zmanjšuje, čeprav vsebnost skupne vinske kisline ostaja ista. Vsak pH različen od 3,7 potemtakem pomeni manj izločanja KHT. Zato ne smemo hladno stabilizirati različna vina in jih nato pred stekleničenjem zmešati skupaj.



Slika 1: Odvisnost relativne koncentracije disociacijskih oblik vinske kisline od vrednosti pH (Jackson, 2002)

Slika 1 kaže delež zvrsti vinske kisline v vinu v odvisnosti od pH. Delež HT^- je najvišji pri pH 3,7. V primeru, ko v vinu ni spojin, ki inhibirajo izločanje KHT ali pa reagirajo s posameznimi ioni, je izločanje KHT pri pH 3,7 najizrazitejše. Vsak postopek, ki vpliva na pH vrednost vina (tipiziranje, kemični ali biološki razkis) lahko posledično povzroči naknadno izločanje vinskega kamna. To je poglavitni razlog, da se kontrola na tartratno stabilnost opravi od vseh ostalih kletarskih postopkov nazadnje, tik pred stekleničenjem vina.

2.3.2 Vpliv zaščitnih koloidov

Rast kristalov v raztopini do velikosti, ko nanje vpliva sila teže poteka tako, da ioni iz raztopine difundirajo do površine kristala, kjer se vežejo na aktivna mesta. Aktivnost je največja na robovih. Iz aktivnih mest ioni migrirajo po površini do termodinamsko najugodnejšega mesta. Koloidni delci in nekatere druge spojine, ki imajo površinski naboj se lahko vežejo na aktivna mesta kristalnih jeder in s tem preprečijo difuzijo ionov K^+ in HT^- do površine kristala. Rast kristalov je s tem zaustavljena in sila teže na njih ne vpliva. Manani kvasovk, galaktan, arabinan, gumiarabika, škrob, karboksimetilceluloza imajo zaščitni učinek. (Saint Pierre in sod., 1998).

Zaviralni faktorji, ki se vežejo s tartrati v komplekse, lahko močno vplivajo na izločanje kristalov vinskega kamna. Vino je lahko prenasičeno s KHT, vendar ne bo prišlo do izločanja, ker je določen delež tartratnih in kalijevih ionov vezan na komponente vina. Kovine, sulfati, beljakovine, gume, polifenoli idr. lahko tvorijo komplekse s prosto vinsko kislino in kalijevimi ioni ter s tem zavirajo tvorbo KHT. Ti kompleksi se večinoma oblikujejo med vinsko kislino in polifenoli v rdečem vinu ter vinsko kislino in beljakovinami v belem vinu (Zoecklein, 1988).

Pilone in Berg (1965) ter Balakian in Berg (1965) so opozorili na pomembnost koloidov pri izločanju vinskega kamna. Domnevajo, da pektini in polisaharidi, kot je glukan pri botritiziranih vinih, zavirajo kristalizacijo. Te komponente se absorbirajo na površino kristalov in na ta način preprečujejo nadaljnjo rast kristalov. Študija na belih nemških vinih, ni mogla potrditi dejstva, da gumiarabika in želatina inhibirno učinkujeta na kristalizacijo.

Občasno se vinarji odločajo za dodatek zaviralnih komponent v vino z namenom zaviranja kristalizacije in izločanja vinskega kamna. Teoretično lahko pravi inhibitor v ustreznih količinah nadomesti fizikalne postopke stabilizacije vina (Zoecklein, 1988).

2.3.2.1 Polifenoli

Fenoli v rdečih vinih, h katerim prištevamo tudi barvila, inhibirajo obarjanje vinskega kamna. S tem si lahko razlagamo, zakaj starejša rdeča vina, ki so bila stabilizirana pred polnjenjem in zorenjem, vedno vsebujejo kristale vinskega kamna. Fenoli pri zorenju rdečih vin namreč polimerizirajo pri daljšem zorenju in s tem njihov inhibitorski učinek pada, kar povzroči počasno izločanje vinskega kamna (Somers in Ziemelis, 1985).

Bolj kot samo dodajanje inhibitorjev v vino se prakticira odstranjevanje le-teh z namenom, da se pospeši izločanje vinskega kamna še pred stekleničenjem. Obstaja določena zveza med čiščenjem oziroma lepšanjem vina in stabilizacijo na vinski kamen. Znano je, da polifenoli zavirajo izločanje vinskega kamna. (Amerine in Joslyn, 1970). Z odstranitvijo deleža teh polifenolov z ustreznimi čistilnimi sredstvi pred hladno stabilizacijo pospešimo izločanje vinskega kamna. Tudi prečiščen jabolčni pektin in tanin lahko ovirata kristalizacijo. Dodatek 1 g tanina/L naj bi močno oviral izločanje vinskega kamna (Zoecklein, 1988).

2.3.2.2 Beljakovine

Postopki hladne stabilizacije povzročajo izločanje vinskega kamna kakor tudi termolabilnih beljakovin. Beljakovine belih vin imajo določeno sposobnost vezanja vinske kisline in posledično zavirajo izločanje vinskega kamna. (Pilone in Berg, 1965). Do tega efekta pride le v primeru, če bela vina vsebujejo poleg relativno velikih količin netopnih beljakovin tudi veliko vsebnost taninov. Ko se fenoli belih vin oksidirajo, se polimerizirajo, vežejo na beljakovine in se skupaj izločijo. To znižuje stabilnost na izločanje vinskega kamna. Bela vina so ponavadi prerevna s tanini, da bi le-ti povzročili obarjanje beljakovin (Zoecklein, 1988).

2.3.2.3 Minerali

Dodatek kalija ali kalcija v vino se odraža v manjši stabilnosti vina na izločanje vinskega kamna (Rankine, 1998). Zaradi večje vsebnosti K^+ in Ca^{2+} ionov v vinu se torej vinski kamen hitreje izloči.

Kalij je najpomembnejši anorganski element vina in ga je od vseh mineralov največ. Na splošno najdemo več kalija v rdečih kot v belih vinih zaradi postopka pridelave (maceracija). Posebno bogata s kalijem so vina, pridelana iz grozdja na vulkanskih tleh. Ta element je nujno potreben človeškemu organizmu pri presnovi. Dnevna potreba človeškega organizma po kaliju je 2 do 3 g, kar lahko dobi z vinom. Mlado rdeče vino lahko vsebuje tudi 4 do 5 g/L. Normalne dnevne potrebe kalcija so okoli 0,5 g/L. V belem vinu je kalcija do 0,2 g/L, v rdečem pa do 0,5 g/L (Kapš, 1997).

2.4 ČIŠČENJE OZIROMA LEPŠANJE VINA

Čistilna sredstva se uporabljajo v enologiji za odstranjevanje določenih snovi v vinu, kar vodi v modifikacijo bistrosti, barve, okusa in stabilnosti vina. Odstranjuje se tiste snovi, ki povzročajo motnost, pretirano grenkobo oziroma trpkost, neželene barvne odtenke in napake v vonju in okusu. Primarna vloga enoloških čistilnih sredstev je bistrenje vina. So neke vrste nadomestilo za naravno bistrenje vina s pomočjo gravitacije. Poleg bistrene vloge pa modificirajo različne lastnosti vina. Pri uporabi čistilnih sredstev so potrebne izkušnje, spretnost in razumevanje mehanizma, ki je vključen v sam čistilni postopek. Posamezno čistilno sredstvo lahko učinkuje na različne lastnosti vina. Npr.: neko sredstvo, ki se uporablja za zmanjšanje grenkobe lahko hkrati vpliva tudi na barvo vina. Smotrno čiščenje z ustreznimi čistilnimi sredstvi lahko pomembno prispeva k boljši kakovosti vina (Rotter, 2006).

2.4.1 Mehanizem delovanja

Čistilna sredstva se lahko vežejo s komponentami v vinu preko (Rotter, 2006):

- električnega naboja: čistilno sredstvo in snov, ki jo želimo odstraniti imata nasproten električni naboj in se zato vežeta med seboj, kar vodi v nastanek večjih delcev, ki se nato usedejo na dno;

- oblikovanja kemijskih vezi med čistilnim sredstvom in snovjo, ki jo želimo odstraniti;
- absorpcije in adsorpcije: snov, ki jo želimo odstraniti se bodisi ujame v strukturo čistilnega sredstva, bodisi se veže na površino le-tega.

2.4.2 Pomen čistilnih poskusov

Različna čistilna sredstva bodo različno delovala na posamezno vino. Za določitev optimalne količine dodatka čistilnih sredstev je potrebno predhodno opraviti čistilne poskuse.

Čistilni poskusi običajno potekajo tako, da dodamo različne količine določenega čistilnega sredstva v več vzorcev istega vina. Po čiščenju se vzorce senzorično oceni, potem pa se izbere najustreznejša količina. Pri pripravi čistilnega sredstva v velikem merilu je potrebno uporabiti enak postopek (mešanje, temperatura čiščenja), kot je bil uporabljen v predposkusu. Mešanje je zelo pomembno, saj zagotavlja enakomerno porazdelitev čistilnega sredstva v vinu. To lahko dosežemo s stalnim mešanjem in počasnim dodajanjem sredstva. Včasih je mešanje v velikih posodah težavno, zato se čistilno sredstvo vključi v sistem med pretakanjem vina. Sredstva, ki so v obliki prahu, je potrebno raztopiti v vodi pred dodajanjem. Čistilnega sredstva ni dobro rehidrirati v vinu, ker je v tem primeru manj učinkovito. Vsako vino različno reagira na čistilna sredstva, saj je edinstveno glede na svojo sestavo, strukturo koloidov in vrsto suspendiranih delcev. Učinkovitost čiščenja je odvisna od vrste, postopka priprave, odmerka in načina dodajanja čistilnega sredstva v vino, pH vina, vsebnosti kovin, temperature, vsebnosti raztopljenega CO₂ in vseh predhodnih obdelav vina. Količina izbranega čistilnega sredstva in čas kontakta med sredstvom in vinom morata biti minimalna. S pomočjo čistilnega poskusa določimo optimalno količino čistilnega sredstva. Le-to mora biti čim bolj čisto po svoji sestavi (Rotter, 2006).

2.4.3 Razdelitev čistilnih sredstev

2.4.3.1 Razdelitev glede na izvor

Na osnovi njihovih glavnih (čistilnih) lastnosti jih lahko razdelimo na osem podskupin (Košmerl, 2004):

- zemlje: bentonit, kaolin
- beljakovine: želatina, jajčni beljak oz. albumin, kvasovke, ribji mehur, kazein, kalijeve kazeinatske soli, pasteurizirano mleko
- polisaharidi: gumiarabika, alginati
- aktivno oglje
- sintetični polimeri: PVPP (polivinilpolipirrolidon), najlon
- silikagel (silicijev dioksid)
- tanini
- ostali: encimi (proteaze, pektinaze, glukanaze, ureaze, glukozidaze), modro čiščenje (kalijev ferocianid), druga čistila za odstranjevanje težkih kovin, idr.

2.4.3.2 Razdelitev glede na električni naboj

Različna sestava in struktura delcev v vinu povzroča, da imajo delci na površini električni naboj, s katerim vplivajo na topilo in druge ione v okolici. Delci so lahko različno naelektreni in v odvisnosti od naboja tudi izbiramo čistilna sredstva.

Relativni električni naboj različnih komponent v vinu in čistilnih sredstev je sledeč:

- (+) pozitivno naelektreni delci v vinu: beljakovine
- (-) negativno naelektrena čistilna sredstva: bentonit, SiO_2 , tanini, kvasovke
- (-) negativno naelektreni delci v vinu: tanini, fenoli, antocianini, kvasovke, bakterije
- (+) pozitivno naelektrena čistilna sredstva: želatina, albumin, kazein, ribji mehur, hitin

Vino z beljakovinsko motnostjo (pozitivno naelektreni delci) se torej čisti lahko z bentonitom ali s SiO_2 (obe čistili sta negativno naelektreni) (Rotter, 2006).

2.4.4 Vrste čistilnih sredstev

2.4.4.1 Bentonit

Bentonit je fina montmorilonitna glina, ki vsebuje aluminijeve silikatne anione $(\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{SiO}_2)(\text{H}_2\text{O})_n$, ki se nevtralizirajo z natrijevimi, kalcijevimi, kalijevimi in magnezijevimi kationi. Na mikroskopskem nivoju je sestavljen iz več plasti, ki so nameščene tako, da zelo nabreknejo, ko absorbirajo vodo. Ima negativen električni naboj in se uporablja za odstranitev termolabilnih beljakovin. Običajna količina bentonita znaša od 0,2 do 1,5 g/L. Pripravi se tako, da se ga zmeša s toplo vodo in se namaka okrog 24 ur. Nastane fino blato, ki je 5 % vodna raztopina. Bentonit reagira z beljakovinami v nekaj minutah po dodatku v vino. Bolj je učinkovit pri nižjem pH, med najučinkovitejše pa spada natrijev bentonit. Pri čiščenju z bentonitom se ustvarjajo velike količine finih droži. Odmerki bentonita večji od 0,48 g/L lahko osiromašijo strukturo in aromo vina ter povzročijo priokus vina po zemlji. Lahko ga uporabimo po čiščenju z želatino in silicijevim dioksidom, saj ima nasprotno delovanje. Uporaba bentonita je možna že pred fermentacijo v moštu, čeprav lahko s tem tvegamo upočasnitev ali celo zaustavitev fermentacije in nastanek H_2S (bekserja). Odstranjevanje beljakovin je učinkovitejše po alkoholni fermentaciji (Rotter, 2006).

Čiščenje z bentonitom zmanjšuje tartratno stabilnost vina, saj odstranjuje tako proteine kakor tudi nekatere fenole v vinu (Berg in Akiyoshi, 1971).

2.4.4.2 Gumiarabika

Gumiarabika (ang. Acaci ali Gum arabic) je polisaharid, sestavljen predvsem iz arabinoze. Njena lastnost je preprečevanje izločanja vinskega kamna zaradi oviranja rasti kristalov KHT. Omenjena preprečitev je časovno omejena in v primerjavi s hladno stabilizacijo ni tako učinkovita. Običajno jo dodamo (v koncentraciji največ do 30 g/L) po zadnjem čiščenju ali filtraciji in neposredno pred stekleničenjem (Košmerl, 2004).

Gumiarabika se v vinarstvu običajno uporablja za stabilizacijo barve, ščiti pred izločanjem koloidov in preprečuje oksidativne spremembe, postransko pa tudi ščiti pred izločanjem vinskega kamna. Učinek gumiarabike na tartratno stabilnost vina je v veliki meri odvisen od botaničnega izvora. Edino gumiarabika, ki izhaja iz drevesa *Acacia Seyal*, ima lastnost preprečevanja izločanja tartratov, medtem ko gumiarabika iz drevesa *Acacia Verek* ne prispeva nič k večji stabilnosti vina. Na učinkovitost gumiarabike *Acacia Seyal* vplivajo tudi proces oziroma postopki predelave. Surovi material mora iti skozi čiščenje in proces hidrolize, s katero dosežemo zelene stabilizacijske učinke. Ustrezen dodatek gumiarabike lahko pri zelo nestabilnih vinih znatno skrajša potreben čas hlajenja med hladno stabilizacijo vina. Pri srednje stabilnih vinih pa se lahko z ustreznim dodatku gumiarabike hladni stabilizaciji povsem izognemo (Mannino in Triulzi, 2005).

2.4.4.3 Želatina

Želatina je kolagen, ki je primarni strukturni protein živalskih kosti in kože. V vinu je pozitivno naelektrjen (izoelektrična točka pri pH 4,7) in se povezuje z vodikovimi vezmi. Želatina se bolj nagiba k vezavi večjih molekul (s fenolnimi skupinami in mesti za vodikove vezi). Zaradi večjih količin polimernih fenolov v starejših vinih želatina vpliva na zmanjšanje barve in taninov teh vin. Še posebej je primerna tako za bela kot rdeča vina z veliko vsebnostjo skupnega ekstrakta in fenolov. Uporablja se za izboljšanje bistrosti in odstranjevanje grenkobe in taninov. Včasih se dodaja za izboljšanje bistrosti mošta pred fermentacijo. Lahko tudi spremeni barvni odtenek (iz rjavkastega v rdeč). Običajna količina dodatka je 20–100 mg/L (za bistrenje belih vin), 30–150 mg/L (za mlada rdeča vina). Za odstranjevanje grenkobe je priporočena količina 30–240 mg/L in za odstranjevanje taninov od 70 do 530 mg/L. Čiščenje mošta zahteva večje količine (480 mg/L) za zmanjšanje trpkosti in oksidirane barve. V takih primerih se večkrat naknadno čisti z bentonitom ali silicijevim dioksidom. Želatina je na voljo v prahu, listih ali kot tekočina. Tekoča želatina ima manjšo molekulsko maso in se v manjši meri izloča, vendar omogoča boljše bistrenje in kompaktnost droži. Skupki se tvorijo v vinu relativno hitro (2–3 tedne). V nekaterih primerih lahko želatina, ki je potrebna za popolno zbistritev vina, pretirano zmanjša trpkost vina. To je še posebej značilno za bela vina z nizko vsebnostjo fenolov. V tem primeru je potrebno dodati tanin 24 ur pred čiščenjem z želatino. Še boljša kot s taninom je kombinacija želatine s silicijevim dioksidom. Posledica pretiranega čiščenja z želatino je toplotna in mikrobiološka nestabilnost vina (Rotter, 2006).

Z dodatkom želatine zmanjšamo vsebnost taninov v trpkih rdečih vinih in redkeje v belih vinih. To enološko sredstvo služi za izboljšanje okusa prekomerno trpkih in grenkih vin ter se lahko dodaja v kombinaciji z ostalimi čistilnimi sredstvi, kot so bentonit, silicijev dioksid ali tanin (Rankine, 1998).

2.4.4.4 Jajčni beljak

Jajčni beljak, ki vsebuje albumin in globulin, je srednje agresivno beljakovinsko čistilno sredstvo. Vsebuje približno 12 % beljakovinskih komponent, ki so uporabne za čiščenje vina.

Peptidno povezani albumini tvorijo vodikove vezi s hidroksilnimi skupinami in tanini. Uporablja se za bistrenje in odstranjevanje taninov v rdečih vinih (beljakovine privlačijo dolgoverižne tanine in zmanjšujejo trpkost vina) in se ne uporablja za bela vina. Na rdeča vina imajo dokaj blag učinek. Želatina je v primerjavi z jajčnim beljakom bolj primerna za odstranjevanje grenkih in trpkih taninov. Če imamo sveže jajčne beljake, uporabimo od 1 do 8 jajčnih beljakov na en barrique sodček (225 L). Posušen jajčni beljak v obliki prahu ali zmrznjen jajčni beljak uporabljamo v količini 0,1–0,2 g/L, posušen albumin pa v količini 8–15 mg/L. Jajčne beljake se običajno pripravi tako, da se doda nekaj kuhinjske soli v toplo vodo (to pomaga pri raztapljanju globulina, ki je topen edino v prisotnosti soli). Jajčni beljak se zmeša s slano vodo v razmerju 1:2, tako da se ne peni. Mešanica se nato počasi dodaja v vino ob stalnem mešanju. Vino se po čiščenju z jajčnim beljakom pretoči z droži po enem ali dveh tednih (Rotter, 2006).

2.4.4.5 Silicijev dioksid

Gre za relativno novo čistilno sredstvo, ki ga poznamo tudi pod različnimi trgovskimi imeni. Uporablja se za zaščito pred pretiranim čiščenjem z beljakovinskimi čistili kot je želatina in za pospešitev usedanja čistil – gre torej za bolj pomožno čistilo kot pa za samostojno. Je vodna koloidna raztopina, ki je negativno naelektrena. V navzočnosti pozitivno naelektrenih delcev, kot je želatina ali naravno prisotne beljakovine, pride do elektrostatične vezave in posledično do kosmičenja in usedanja. Kombinacija SiO_2 in želatine daje vinu odlično bistrost in kompaktno usedlino, zato se priporoča predvsem za vina, ki se težko zbistrijo (botriticidna vina). Dodatna prednost tega čistila je v tem, da odstranjuje presežek želatine v vinu (Rankine, 1998).

Silikagel je silicijev dioksid v koloidni suspenziji. Pripravi se ga z dodajanjem kisline v silikat. Iz raztopine izpade hidratiziran silicijev dioksid ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). Na voljo je v tako pozitivno kot negativno naelektrenih oblikah in ima adsorpcijski učinek. Negativno naelektren silikagel se uporablja za splošno bistrenje in beljakovinsko stabilnost. Gre za povsem čisto čistilno sredstvo, ki se veže na specifična mesta, zato ne osiromaši arome in okusa vina. Običajno se uporablja v količini 0,1–0,3 mL/L (tekoči silikagel). Celotni čistilni postopek (reakcija in usedanje) navadno traja od 7 do 10 dni. Pretirano čiščenje s silicijevim dioksidom ne predstavlja posebnega tveganja, saj nima nobenega učinka na aromo in okus vina. Silicijev dioksid je primeren tudi za zgoščevanje bentonitnih droži (Rotter, 2006).

2.4.4.6 Polivinilpolipirolidon (PVPP)

Večina različnih sredstev, ki se uporabljajo za lepšanje in čiščenje vin, se tradicionalno pridobiva iz naravnih virov in so pogosto spremenljivi v sestavi. Takšni primeri so bentonit, kazein, jajčni beljak, želatina in ribji mehur. Polivinilpolipirolidon (PVPP) je prvi sintetični čistilni dodatek za vino. Uporablja se v belih vinih, kjer absorbira fenole, ki bi sicer povzročili rjavkasto in rožnato obarvanje. Gre za polimer polivinilpirolidona večje molekulske mase. PVPP se uporablja v vinu kot specifičen absorbent za fenolne komponente, ki se nahajajo predvsem v prešancih ter so odgovorni za porjavenje in trpkost v okusu. Uporablja se tudi za

odstranjevanje rožnatih pigmentov. Veže levkoantociane, katehine, flavonole in fenolne kisline s pomočjo vodikovih vezi. PVPP ima dokaj blago delovanje, saj specifično odstrani neželene fenole in hkrati ne zmanjša arome vina (Rankine, 1998).

Polyclar je komercialno ime za PVPP. Polyclar AT se hitreje useda kot Polyclar 10, ker ima večjo aktivno površino in s tem večjo adsorpcijo. PVPP se pridobiva iz Nylona 66 skozi proizvodni proces, v katerem se n-vinil-2-pirolidon polimerizira, nato pa sledi navzkrižno združevanje homopolimernih vezi. Veže se z nizkomolekularnimi polifenoli, kot so monomeri in dimeri (katehini in antocianini). PVPP je netopen, zato se molekule polifenolov adsorbirajo na njegovo površino in se oborijo. Vez se pojavi med karbonilno skupino PVPP in hidroksilno skupino fenola. Je fino čistilno sredstvo, ki veliko manj osiromaši aromo v primerjavi z ostalimi čistilnimi sredstvi. Uporablja se za odstranjevanje barve (rjave in roza pri belih vinih), grenkobe (pri rdečih in belih vinih) in določenih priokusov v vinu (npr. po oksidaciji). Priporočena količina tega čistila je 100–700 mg/L pri belih vinih oziroma 100–200 mg/L pri rdečih. Ponavadi se ga doda direktno v vino ali pa se ga predhodno raztopi v vodi. Največji dovoljen dodatek je 80 g/hL oziroma 800 mg/L.

PVPP se najpogosteje uporablja takoj po končani alkoholni fermentaciji, včasih pa že v moštu. Useda se zelo hitro (v nekaj dneh), vendar se lahko zgodi, da je vino potrebno prefiltrirati po tovrstnem čiščenju. Domneva se, da je bolj učinkovit pri odstranjevanju neželenih barvnih odtenkov, če se ga uporabi v kombinaciji z aktivnim ogljem. PVPP tudi pomaga pri usedanju delcev aktivnega oglja (Rotter, 2006).

2.5 STABILIZACIJA VINA NA VINSKI KAMEN

Obstajajo številne možnosti, s katerimi lahko rešimo problem izločanja vinskega kamna. Enolog ima na voljo dve različni poti, ki vodita do stabilnosti vina na vinski kamen (Saint Pierre in sod., 1998):

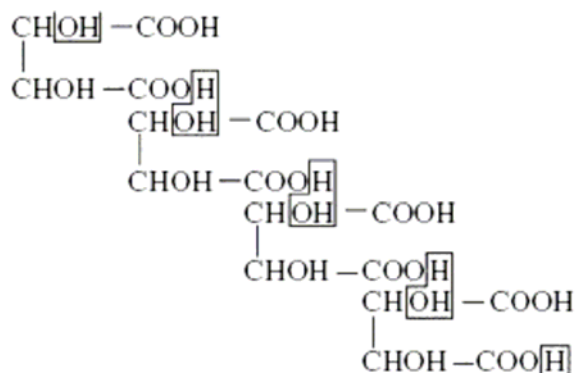
- kemijski postopki se nanašajo na dodatke tipa zaščitnih koloidov, ki v principu zavirajo kristalizacijo kljub temu, da je vino v stanju prenasičenosti s KHT;
- fizikalni postopki so številčnejši od kemijskih in so na splošno subtraktivni, torej iz vina nekaj odvezajo. Nekatere fizikalne tehnike kombiniramo s kemijskimi dodatki, ki pospešijo izločanje KHT.

2.5.1 Kemijska stabilizacija

Kemijska stabilizacija temelji na dodajanju inhibitorjev, ki so zmožni preprečiti izločanje vinskega kamna za daljše obdobje. Gre za aditivno tehniko, torej morajo biti sestavine, ki jih uporabljamo zdravju neškodljive in hkrati cenovno sprejemljive. Trenutno se najbolj uporablja metavinska kislina, vse bolj pa se tudi uveljavljajo manoproteini in karboksimetilceluloza.

2.5.1.1 Metavinska kislina

Med najbolj poznane inhibitorje izločanja vinskega kamna sodi metavinska kislina, ki je polikondenzat dveh molekul vinske kisline. Metavinsko kislino dobimo segrevanjem vinske kisline približno 55 minut pri 160 °C in znižanem tlaku ali 105 minut pri 175 °C in normalnem tlaku (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).



Slika 2: Reakcija poliesterifikacije metavinske kisline (Ribéreau-Gayon in sod., 2004)

Dodatek 50 do 100 mg metavinske kisline/L zaščiti mlado vino pred izločanjem vinskega kamna, četudi je bilo le-to skladiščeno več mesecev v hladnem prostoru. Metavinska kislina v principu deluje tako, da ovira oblikovanje in rast kristalov KHT in se obda okrog jeder vinskega kamna. Po dodatku v vino se počasi hidrolizira v vinsko kislino in tako posledično izgublja učinkovitost. Rok učinkovanja je odvisen od temperature skladiščenja. Zato je metavinska kislina uporabna predvsem za vina namenjena hitri potrošnji (Zoecklein, 1988). Dodatek metavinske kisline je najcenejši postopek stabilizacije vina na vinski kamen (Košmerl, 2004).

Čas delovanja metavinske kisline v odvisnosti od temperature (Gautier, 1998):

- 12 °C: več kot dve leti
- 18 °C: 1 leto
- 20 °C: 3 mesece
- 25 °C: 1 mesec
- 30 °C: 1 teden
- 35–40 °C: nekaj ur

2.5.1.2 Manoproteini

Manoproteini so komponente celične stene kvasovk. V vino se sprostijo lahko že med alkoholno fermentacijo preko živih kvasovk, ali pa v času zorenja vina na drožeh zaradi avtolize odmrlih kvasovk. Zelo hitro je postalo jasno, da so manoproteini enološko zanimivi iz več razlogov:

- so aktivatorji rasti mlečnokislinskih bakterij,
- izboljšujejo aromo vina,
- imajo ugoden učinek pri stabilizaciji vina na beljakovine in vinski kamen.

Manoproteini obkrožajo kristale vinskega kamna in tako zavirajo njihovo rast. Posledica tega je zmanjšana učinkovitost fizikalnih postopkov stabilizacije, saj manoproteini delujejo kot zaščitni koloid. Za bela vina, ki so več mesecev zorela na drožeh velja, da so večinoma že dovolj stabilna in zato ne potrebujejo hladne stabilizacije. Enak rezultat dobimo z dodatkom 25 g/hL na encimski način pridobljenih manoproteinov iz celičnih sten kvasovk (Lefebvre, 2001).

Na enološki fakulteti v Bordeauxu so izolirali manoproteine s stabilizacijskim delovanjem na vinski kamen pod imenom MannostabTM. Za vsako vino obstaja ena optimalna količina dodatka, pri kateri je stabilizacijski učinek največji. Pri ustrezni količini je preparat manoproteinov lahko enako učinkovit kot hladna stabilizacija. Manoproteini imajo nekoliko manjšo moč delovanja kot metavinska kislina, vendar imajo dolgotrajnejši učinek (Chastaingt, 2003).

Večmesečno zorenje vina na drožeh v »barrique« sodčkih izboljša stabilnost vina na vinski kamen (preglednica 2) in tako prihrani stroške hladne stabilizacije. Ta opažanja so privedla do domnev, da so določene makromolekule, najverjetneje manoproteini, ki pridejo v vino preko avtolize kvasovk (Llauberes in sod., 1987), inhibitorji kristalizacije (Moine-Ledoux in sod., 1997). Manoprotein z molekulsko maso 40 kDa inhibira kristalizacijo soli vinske kisline (Moine-Ledoux in Dubourdieu, 2002). Ta manoprotein lahko pridobimo na industrijski način z encimsko razgradnjo celičnih sten kvasovk (preglednica 3) (Dubourdieu in sod., 1981).

Preglednica 2: Potek stabilizacije na vinski kamen ovrednoten s testom z zmrzovanjem (6 dni pri $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$) različnih belih vin zorenih na drožeh (2 letnika) (Moine-Ledoux in sod., 2005)

Vzorec vina (letnik)	marec	junij
Graves 1 (1994)	+	–
Graves 2 (1994)	+	–
Bordeaux (1994)	+	–
Graves 1 (1995)	+	–
Graves 2 (1995)	+	–
Bordeaux (1995)	+	–

+: prisotnost kristalov; –: odsotnost kristalov

Preglednica 3: Primerjava stabilizacijskega učinka toplotno obdelanih manoproteinov (TOM) in encimsko obdelanih manoproteinov (EOM) (Moine-Ledoux in sod., 2005)
 (test z zmrzovanjem)

Vzorci vina	belo 1	belo 2	rosé 1	rosé 2	rdeče 1	rdeče 2
Kontrolni vzorec	+	+	+	+	+	+
TOM 25 g/hL	+	+	+	+	+	+
EOM 25 g/hL	-	-	-	-	-	-

+: prisotnost kristalov; -: odsotnost kristalov

Na ta način so razvili nov proizvod Mannostab™ (Moine-Ledoux in sod., 1997). Ta pripravek encimsko pridobljenih manoproteinov se doda v nestabilizirano vino v takšni količini, da se inhibira izločanje vinskega kamna. Ta količina se za vsako vino posebej določi v odvisnosti od naravno prisotnih koloidov in od stopnje nestabilnosti vina.

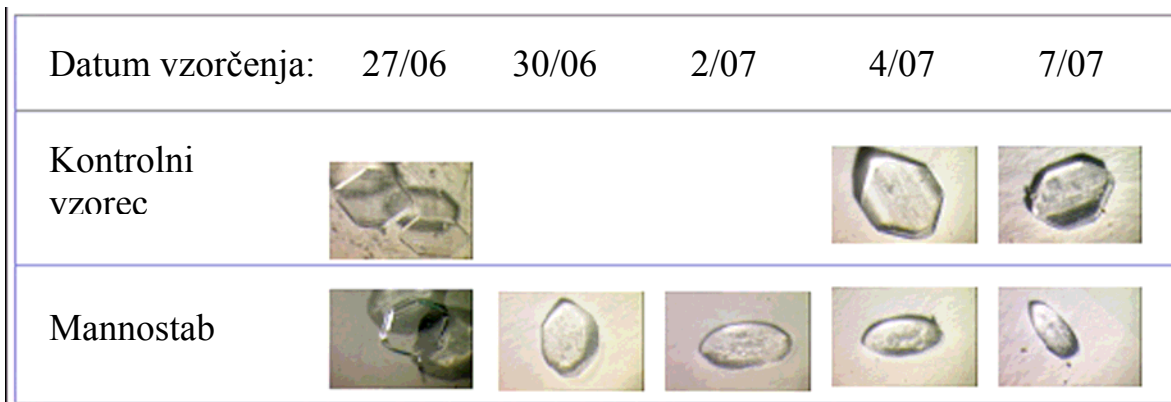
Uporaba manoproteinov je zanimiva alternativa fizikalnim postopkom stabilizacije, ne povzroči osiromašenja vina in ne predstavlja višjih stroškov v primerjavi s fizikalnimi tehnikami stabilizacije. Pomembno je tudi pripomniti, da ta postopek ne povzroča nikakršnih negativnih senzoričnih učinkov na vino in je primeren za stabilizacijo vin namenjenih daljšemu zorenju.

Uporaba različnih testov za določanje tartratne stabilnosti pojasnjuje mehanizem delovanja manoproteinov (preglednica 4). Temperatura prenasajenja se ne spreminja med dodajanjem pripravka z manoproteini, torej le-ti ne zvišujejo topnosti kalijevega hidrogentartrata. Po drugi strani se pa zaradi dodajanja manoproteinov precej zniža temperatura kristalizacije (T_{CS}). Manoproteini torej inhibirajo kristalizacijo. To dejstvo potrjuje test z zmrzovanjem, saj se kristali vinskega kamna niso pojavili med hlajenjem pri vzorcih z dodatkom zadostne količine manoproteinov. Mini-kontaktni test pa je pokazal, da manoproteini vplivajo na rast kristalov. Iz mikroskopskega opazovanja razvoja kristalov KHT v prisotnosti in v odsotnosti manoproteinov se vidi, da manoproteini preprečujejo rast posameznih stranic kristalov; kristal izgleda bolj sploščen in raste samo v določeni smeri (slika 3).

Preglednica 4: Prikaz delovanja pripravka manoproteinov z uporabo različnih testov (temperatura prenasajenja, temperatura kristalizacije, zmrzovanje, mini kontakt) (Moine-Ledoux in sod., 2005)

manoproteini (g/hL)	0	10	15	20	25	30
T_{sat} (°C)	18	18	18	18	18	18
T_{CS} (°C)	2	0	-2	-4	-7	-10
hlajenje vizualna ocena	+++	++	+	-	-	-
mini kontakt (konc. K^+ mg/L)	220	180	130	40	40	40

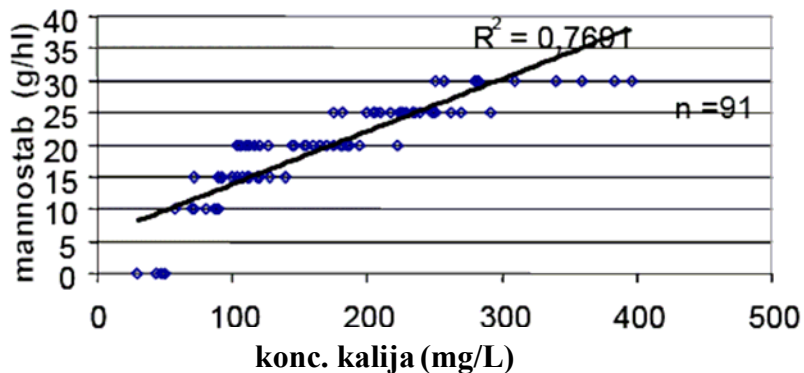
+++ : močna prisotnost kristalov
 ++ : srednja prisotnost kristalov
 + : šibka prisotnost kristalov
 - : odsotnost kristalov



Slika 3: Opazovanje razvoja kristalov KHT pod mikroskopom v raztopini z in brez dodanih manoproteinov (Moine-Ledoux in sod., 2005)

Rezultati analiz vseh eksperimentalnih vzorcev vin kažejo na to, da dodatek manoproteinov manj preoblikuje njihovo kemijsko sestavo kot fizikalni postopki. V bistvu fizikalni postopki odstranijo molekule, ki so odgovorne za nestabilnost. Odstranijo torej kalijev hidrogentartrat, kar vodi v znižanje skupnih kislin. Pri rdečih vinih se pogosto zgodi, da zaradi postopkov hladne stabilizacije izgubijo intenziteto barve. Do tega pride zaradi izločitve barvnih komponent skupaj s tartrati (Moine-Ledoux in sod., 2005).

Za postopek stabilizacije uporabimo ustrezno količino manoproteinov glede na stopnjo nestabilnosti in vsebnost koloidov določenega vina. Zahvaljujoč številnim zbranim rezultatom, ki so plod šestletnih raziskav, lahko s pomočjo mini-kontaktnega testa izračunamo količino pripravka manoproteinov, ki je potrebna za stabilizacijo določenega vina. Količina pripravka se določi glede na vsebnost kalija v vinu (slika 4).



Slika 4: Količina dodanih manoproteinov v odvisnosti od koncentracije kalija med mini-kontaktne testom (Moine-Ledoux in sod., 2005)

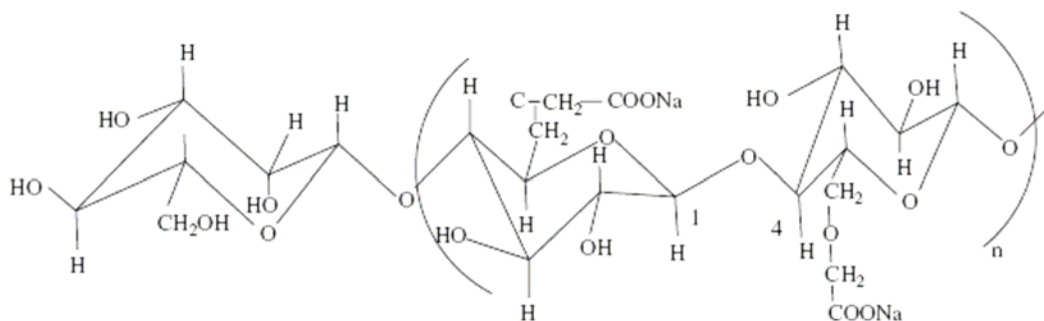
Ti poskusi so razjasnili mehanizme spontane stabilizacije na vinski kamen belih vin v času njihovega zorenja na drožeh v »barrique« sodčkah. Ta spoznanja odpirajo pomemben tehnološki razvoj na področju hladne stabilizacije vseh vin. Z izjemo velikih belih vin, ki so zorela na drožeh v »barrique« sodčkah skoraj eno leto, so praktično vsa ostala bela, rose vina in tudi v veliki meri rdeča vina nestabilna na vinski kamen pred stekleničenjem. Možnost, da vina stabiliziramo samo s pomočjo dodatka biološkega zaščitnega koloida, ki je že po naravi sestavni del vina, predstavlja velik in zanimiv napredek v enologiji.

Rezultati degustacije pričajo o tem, da so manoproteini popolnoma neškodljivi. Vzorci vin z dodanimi manoproteini niso senzorično nič slabši od ostalih vzorcev vin, včasih celo boljši, saj so postopki hladne stabilizacije osiromašili ostala vina (Moine-Ledoux in sod., 2005).

2.5.1.3 Karboksilmetilceluloza

Karboksilmetilceluloza (CMC) je celuloza zaestrena s karboksi-metilnimi skupinami na ogljikovih atomih C6 in C2 (slika 5); gre za polielektrolit s pK blizu 4. CMC ima pri pH 3,3 negativni električni naboj na karboksilnih skupinah, kar ji omogoča, da se absorbira na zrnca kalijevega hidrogentartrata in na ta način zavira rast kristalov. Nase veže tudi K^+ in Ca^{2+} ione in s tem zmanjšuje vsebnost prostih ionov, ki bi sicer bili vključeni v kristalizacijo. CMC se ne spreminja s časom, zato je teoretično njen učinek na preprečevanje rasti kristalov vinskega kamna neomejen. Brez nevarnosti jo lahko zaužijemo tudi do 20 g na dan, torej ni toksična. Ta aditiv se uporablja v živilski industriji kot sredstvo za zgoščevanje (Saint Pierre in sod., 1998).

Količina 2 g/hL ponavadi še nima zadostnega učinka, vendar so rezultati poskusov na vinih, ki so bili prenasajeni s KHT pokazali, da za stabilizacijo vina na vinski kamen že zadostuje odmerek 4 g/hL CMC (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).



Slika 5: Strukturna zgradba molekule karboksilmetilceluloze (Ribéreau-Gayon in sod., 2004)

2.5.2 Fizikalna stabilizacija

Pospešeno kristalizacijo dosežemo s hlajenjem, izmenjavo ionov ali uporabimo oba postopka naenkrat. Med novejšie tehnike prištevamo filtracijo, elektrodializo, obratno ali reverzno osmozo, tok kristalov, kontaktno stabilizacijo z dodatkom kristalov KHT (Zoecklein, 2002).

2.5.2.1 Hladna stabilizacija

Pri postopkih konvencionalne hladne stabilizacije se vina ohladijo na temperaturo, pri kateri postane KHT manj topen in se prične izločati. Najpomembnejše spremenljivke, ki vplivajo na izločanje vinskega kamna med hlajenjem so: 1) vsebnost reaktantov, predvsem vinske kisline, 2) razpoložljivost nukleusov za rast kristalov, 3) topnost nastalega KHT. Perin (1977) je določil naslednjo zvezo (relacija 6) za določanje temperature, potrebne za izločanje vinskega kamna:

$$T (-^{\circ}\text{C}) = \left(\frac{\text{alkohol (vol.\%)}}{2} \right) - 1 \quad (6)$$

Izločanje vinskega kamna se pojavi v dveh fazah. Indukcijska faza je tista, pri kateri se poveča vsebnost KHT v raztopini zaradi hlajenja. Sledi faza kristalizacije, pri kateri pride do rasti kristalov in nadaljnega razvoja. Stopnja izločanja KHT pri nizkih temperaturah je višja v namiznih vinih kot v desertnih in višja v rdečih kot v belih vinih. Pri običajni hladni stabilizaciji je izločanje pospešeno prvih 12 dni, nato se znatno zmanjša. Do tega zmanjšanja pride zaradi zmanjšanja nasičenja s KHT v raztopini. Temperaturno nihanje med hladno stabilizacijo lahko močno vpliva na hitrost izločanja vinskega kamna, saj ima velik vpliv tudi na hitrost oblikovanja kristalizacijskih jeder. Če se ta jedra ne oblikujejo, ne pride do rasti kristalov in izločanja le-teh. Hladna stabilizacija zniža pH v vinu, če je bil pH že pred tem nižji od 3,65, kar pospeši izločanje beljakovin. Omenjeno znižanje pH vrednosti in izločanje beljakovin zaradi hladne stabilizacije je razlog, zakaj nekateri vinarji čistijo vino z bentonitom med ali po stabilizaciji na vinski kamen. Pri uporabi bentonita med hladno stabilizacijo dobimo bolj kompaktno droži, k čemur pripomorejo kristali vinskega kamna (Zoecklein, 1988).

2.6 TESTI ZA DOLOČITEV STABILNOSTI VINA NA VINSKI KAMEN (Saint Pierre in sod., 1998)

2.6.1 Test z zmrzovanjem

Temperatura in čas hlajenja vina (npr. v zamrzovalniku) sta odvisna od tipa vina oziroma od vsebnosti etanola in reducirajočih sladkorjev. Več kot je alkohola in sladkorjev v vinu, nižja mora biti temperatura stabilizacije, vendar spet ne prenizka, da vino ne zmrzne v led.

Štiri dni hlajenja pri 0 °C zadostuje za suho vino, medtem ko je šest dni pri temperaturi –8 °C potrebnih pri naravnem sladkem vinu, da se bodo pojavili kristali. Ta test je enostaven, cenen, vendar je dolgotrajen in ni povsem zanesljiv.

2.6.2 Določanje indeksa tartratne stabilnosti (ITS)

V 6 vzorcev enakega predhodno filtriranega vina (100 mL) dodamo naraščajoče koncentracije KHT v količinah 0–125 mg KHT, s po 25 mg razlike. Do raztapljanja KHT pride s pomočjo mešanja in segrevanja na 35 °C. Nato se izvrši hladni postopek, kjer se vino ohladi iz 35 °C na –5 °C v 90 minutah, nakar se ohranja pri tej temperaturi –5 °C 4 ure; sledi dvig temperature na 10 °C v 30 minutah.

Npr.: Indeks stabilnosti (ITS) 50/75 pomeni, da v koncentracijah od 75 mg/100 mL do 125 mg/100 mL opazimo prisotnost kristalov v teh vzorcih.

Primerjalno z referenčnimi vzorci stabiliziranih vin se določi kritični indeks stabilnosti (kITS), ki omogoča oceno o stabilnosti testiranih vin. Če je ITS večji od kITS, se vino oceni kot stabilno glede na referenčne kriterije.

Ta test je relativno kompliciran, dovolj zanesljiv, a zelo dolg.

2.6.3 Testi na osnovi temperaturi prenasičenja

2.6.3.1 Wurdigov test

Temperatura prenasičenja (T_{sat}) izraža najnižjo točko, od katere navzgor je KHT topen v vinu. Nižja kot je temperatura nasičenja nekega vina, manj bo to vino nasičeno, saj ima toliko večjo sposobnost raztapljanja KHT. Vino je stabilno, če je temperatura prenasičenja nižja od kritične temperature prenasičenja. (Wurdig in sod., 1982; Maujean in sod., 1995). Ta test je relativno enostaven, kratkotrajen in srednje zanesljiv.

2.6.3.2 Test optimizirane temperature prenasičenja

Tukaj gre za isti princip kot pri predhodnem Wurdigovem testu, vendar so upoštevani tudi inhibitorji izločanja vinskega kamna. Določitev indeksa skupnih polifenolov ISP (še posebej pri rdečih vinih) omogoča okvirno oceno temperature prenasičenja (Balat in sod., 1989; Berger in Gaillard, 1988):

Belo vino: stabilno, če $T_{\text{sat}} \leq 12,5$ °C

Rose vino: stabilno, če $T_{\text{sat}} \leq 13,5$ °C in $\text{ISP} \leq 10$

Rose vino: stabilno, če $T_{\text{sat}} \leq 14 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in $\text{ISP} \geq 10$

Rdeče vino: stabilno, če $T_{\text{sat}} \leq 24 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in $\text{ISP} \leq 50$

Rdeče vino: stabilno, če $T_{\text{sat}} \leq 22 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in $\text{ISP} \geq 50$

Ta test je relativno enostaven, bolj zanesljiv in relativno kratkotrajen.

2.6.4 Mini kontaktni testi

Testi na osnovi dodatka kristalizacijskih jeder KHT za pospešitev izločanja vinskega kamna so opisani v nadaljevanju:

➤ **Muller-Späthov test:**

Vzorec vina z dodatkom 4 g KHT/L se drži 2 uri pri temperaturi $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ob stalnem mešanju. Po filtraciji hladnega vina lahko ocenimo povečanje mase tartratov (vsota dodanih zunanjih in vinskih tartratov). Druga možnost je, da raztopimo izločene kristale v znani količini tople vode in izmerimo povečanje kislosti. Primerjamo vzorec brez dodatka tartratov z vzorcem, v katerega smo dodali 4 g KHT/L. Ta test je relativno enostaven, srednje zanesljiv in relativno dolgotrajen.

➤ **Vialattov test:**

V vino dodamo 10 g/L kristalov KHT in ga 10 minut hladno stabiliziramo pri $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Istočasno merimo elektrolitsko prevodnost v odvisnosti od časa. Padec prevodnosti za manj kot 5 % pomeni, da je vino še dovolj stabilno. Ta test je relativno enostaven, srednje zanesljiv in relativno kratek.

2.6.5 Test na osnovi analitskih meritev

Iz tablic s tremi vnosi (pH, vsebnosti etanola v vol.% in vinske kisline v g/L) se da določiti maksimalno mejno vsebnost kalija, nad katero se vino obravnava kot nestabilno. Ta test je relativno enostaven, kratek, ni preveč zanesljiv, saj ne vključuje vseh parametrov, kot so to na primer inhibitorji kristalizacije (Berg in Keefer, 1958).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL IN NAČRT DELA

Čistilni poskus smo izvedli na dveh različnih zvrsteh mladega vina. (belo in rdeče vino). Skupno število vzorcev je bilo dvanajst, in sicer po šest vzorcev istega belega in šest vzorcev istega rdečega vina, (preglednica 5). V te vzorce smo dodali različna enološka sredstva, ki so namenjena bodisi stabilizaciji, bodisi čiščenju vina.

Preglednica 5: Nastavitev čistilnih poskusov

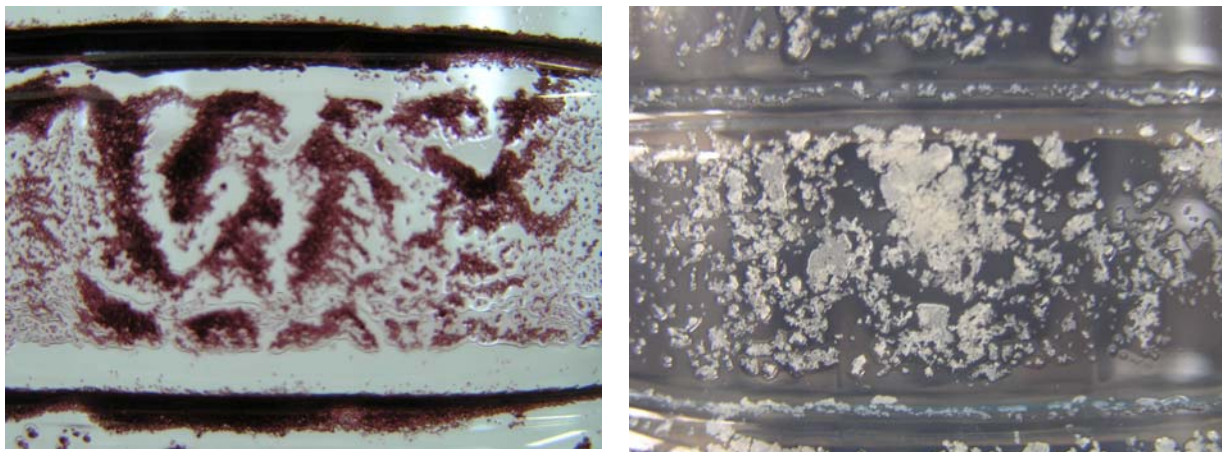
Vzorci rdečega vina			Vzorci belega vina		
št. vzorca	postopek/dodatek	količina	št. vzorca	postopek/dodatek	količina
1	kontrolni vzorec	/	7	kontrolni vzorec	/
2	hladna stabilizacija	/	8	hladna stabilizacija	/
3	gumiarabika	80 mg/hL	9	bentonit	80 g/hL
4	metavinska kislina	5 g/hL	10	metavinska kislina	10 g/hL
5	jajčni beljak	7,5 g/hL	11	PVPP	60 g/hL
6	manoproteini	30 g/hL	12	30 % SiO ₂ in 30 % želatina	6,25 mL/hL 15 mL/hL

Vzorca št. 1 in 7 (en bel in en rdeč), ki smo jih tekom celotnega poskusa pustili na sobni temperaturi in vanje nismo dodajali nobenih enoloških sredstev, sta služila kot kontrolna vzorca za primerjavo. Po en vzorec belega in en vzorec rdečega vina (vzorec št. 2 in 8) smo hladno stabilizirali. Uporabili smo naslednji režim hladne stabilizacije: en dan pri -19°C , nato en teden pri 1°C . V preostalih osem vzorcev (štiri vzorce belega in štiri vzorce rdečega vina) smo dodali različna enološka sredstva.



Slika 6a in 6b: Izvedba čistilnih poskusov na vzorcih rdečega in belega vina v 1,5 L plastenkah

Še pred nastavitvijo čistilnih poskusov smo opravili analize vin na kontrolnih vzorcih, in sicer smo jim določili pH, skupne titrabilne kisline, pufrno kapaciteto, fenolne spojine in barvo.



Slika 7a in 7b: Izločen vinski kamen na steni plastenke po hladni stabilizaciji pri vzorcu rdečega in belega vina (št. 2 in 8)

Po končani hladni stabilizaciji pri vzorcih št. 2 in 8 in po dodatku enoloških sredstev v ostale vzorce smo vse vzorce dvakrat zaporedoma prefiltrirali skozi filtrski papir (velikost por 25 μm) in jih pretočili v litrske steklenice in pollitrške plastenke. Po pretoku vina z usedline, ki smo ga opravili po 7 dneh delovanja enoloških sredstev pri sobni temperaturi 20 °C, smo prej omenjene analize še enkrat ponovili, tokrat na vseh vzorcih (1–12).

V nadaljevanju poskusa smo pripravili tudi dve modelni alkoholni raztopini, ki sta bili enaki po vsebnosti alkohola in skupnih kislinah kot osnovno belo oziroma rdeče vino. V obe raztopini smo dodali KHT v količini 4800 mg KHT/L oziroma 1000 mg K^+ /L (preglednica 6).

Preglednica 6: Sestava alkoholnih raztopin

parameter (enota)	vz. št. 13 alk. raztopina rdeče vino	vz. št. 14 alk. raztopina za belo vino
alkohol (vol %)	12,61	10,19
skupne kisline - vinska kislina (g/L)	5,67	7,50
pH	2,43	2,35
dejanska koncentracija K^+ (mg/L)	1000	1000
ravnotežna koncentracija K^+ (mg/L) pri 20 °C	550	640
stopnja prenasičenja	1,82	1,56

Z dodatkom 4800 mg KHT/L smo dobili prenasičene alkoholne raztopine, saj se KHT ni v celoti raztopil pri 20 °C in pri danih vsebnostih alkohola (glej preglednico 6). Ravnotežno koncentracijo K^+ ionov smo izračunali s pomočjo podatkov o topnosti KHT v odvisnosti od temperature in alkohola (glej preglednico 1). Stopnja prenasičenja je večja pri alkoholni raztopini za rdeče vino zaradi večje vsebnosti alkohola.

V tako pripravljenih vzorcih vina in alkoholnih raztopinah smo nato merili specifično elektrolitsko prevodnost, medtem ko smo vzorce hladili (glej točko 3.2.5). Vzorce za določitev vsebnosti kalija smo jemali pri različnih temperaturah. Po končanem hlajenju smo vzorcem še enkrat določili pH, skupne titrabilne kisline in pufrno kapaciteto.

3.2 METODE DELA

Glavni del eksperimentalnega dela predstavljajo meritve specifične elektrolitske prevodnosti (v nadaljevanju prevodnosti) in določanje vsebnosti kalija. Poleg teh meritev smo določali še pH, titrabilne kisline, pufrno kapaciteto, fenolne spojine in barvo vina. Vse meritve smo opravili v skladu z metodami, ki so predpisane v evropski regulativi in vinarski analitiki.

3.2.1 Določanje fenolnih spojin

Fenolne spojine v vinu smo določali s pomočjo spektrofotometrične metode po Singletonu in Rossiju. Fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo UV spektra in vidnega spektra. Tako lahko odčitano vrednost absorbance pri ustrezni valovni dolžini (765 nm) uporabimo za oceno vsebnosti skupnih fenolov. Izražamo jo v mg galne kisline/L (Košmerl in Kač, 2004). Vse meritve smo opravili v treh paralelkah.

3.2.2 Določanje barve vina

Obarvanost belih vin merimo direktno (brez razredčitve) s spektrofotometrom; merimo absorbanco vzorca pri valovni dolžini 420 nm. Z merjenjem absorbance pri valovnih dolžinah 420 nm, 520 nm in 620 nm pa določimo barvo rdečih vin, ki jih moramo predhodno ustrezno razredčiti. Vsota vseh treh izmerjenih absorbanc predstavlja intenziteto barve, medtem ko razmerje absorbanc pri 420 nm in 520 nm pomeni ton ali odtenek barve (Košmerl in Kač, 2004). Pred določanjem barve vina je bilo vzorce potrebno prefiltrirati. Uporabili smo celulozno-acetatni filter z velikostjo por 0,45 μ m.

3.2.3 Določanje alkohola

Alkohol smo določali z uporabo destilacijske naprave (D.E.E. Gibertini) in denzimetra Mettler Toledo DE45 Density Meter. Po destilaciji vzorca smo dobljenemu alkoholnemu destilatu poleg relativne gostote določili tudi vsebnost (volumenski delež) alkohola (Košmerl in Kač, 2004). Podatek o stopnji alkohola v obeh kontrolnih vzorcih vina (belem in rdečem) nam je služil pri pripravi alkoholnih raztopin.

3.2.4 Določanje vrednosti pH, pufrne kapacitete in skupnih kislin

Vrednost pH, pufrno kapaciteto in skupne titrabilne kisline smo določali s potenciometrično metodo, ki temelji na merjenju razlike v potencialu med obema elektrodama, ki sta potopljene direktno v vzorec vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija H_3O^+ ionov v raztopini. Uporabili smo pH meter (Mettler Toledo DL50 Graphix) s kombinirano stekleno elektrodo Mettler Toledo DG 114-SG s skalo v pH enotah. Točnost meritev aparata mora biti najmanj $\pm 0,05$ pH enot.

Pred merjenjem pH vzorcev umerimo pH meter pri delovni temperaturi s pufrnima raztopinama s pH 4,00 in 7,02 (dvotočkovna kalibracija). Po umerjanju aparata preverimo pH vrednost standardne raztopine; njen pH je pri 20 °C točno 3,57 (Košmerl in Kač, 2004).

Vse tri parametre smo določali tako pred kot tudi po glavnem poskusu, pri katerem smo vino hladili ob istočasnem merjenju prevodnosti. Vse meritve smo opravili v treh paralelkah.

3.2.4.1 Določanje vrednosti pH

Koncentracijo oziroma aktivnost H_3O^+ ionov v raztopini izražamo kot pH, ki med drugim vpliva tudi na izločanje vinskega kamna.

3.2.4.2 Določanje skupnih titrabilnih kislin

Titracija z 0,1 M raztopino NaOH poteka na avtomatskem titratorju (Mettler Toledo DL50 Graphix) do končne točke titracije pH = 7,00 oziroma pH = 8,20. Pri dodajanju baze poteka naslednja reakcija (relacija 7):



Masna koncentracija skupnih titrabilnih kislin se nato izračuna po računski zvezi. Izraža se v g vinske kisline/L (Ough in Amerine, 1988).

3.2.4.3 Določanje dejanske pufrne kapacitete

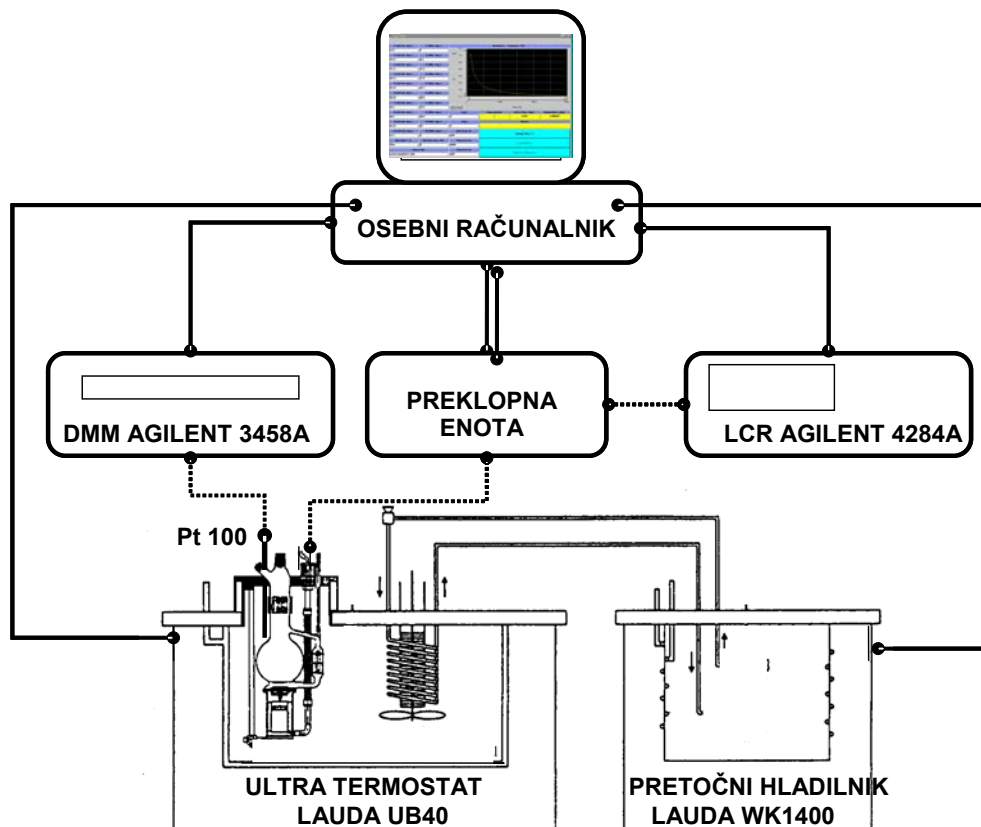
Pufrna kapaciteta je definirana je kot množina H_3O^+ ali OH^- ionov, ki jih moramo dodati 1 L vzorca, da se njegova vrednost pH spremeni za eno enoto.

Pufrna kapaciteta je funkcija pH. V moštu ali vinu, ki sta v bistvu raztopini različnih šibkih organskih kislin lahko pufrno kapaciteto, ki je aditivna lastnost ocenimo na osnovi vsebnosti vsake posamezne kisline in konstante disociacije (vrednost pK_a) vsake kisline.

Iz podatkov o pH in točnih volumnih dodanega titranta (0,1 M raztopina NaOH in 0,1 M raztopina HCl) narišemo krivuljo pufrne kapacitete ter izračunamo enačbi premice ob dodajanju baze in ob dodajanju kisline, s katerima določimo dejansko pufrno kapaciteto vzorca. Podatek o pufrni kapaciteti je pomemben za razumevanje sprememb pH mošta ali vina (Košmerl in Kač, 2004).

3.2.5 Merjenje specifične elektrolitske prevodnosti

Prevodnost (χ , $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) smo merili s konduktometrom, ki so ga v znanstvene namene razvili na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo v Ljubljani.



Slika 8: Shema komponent sistema za merjenje prevodnosti: Termostat in hladna kopel (Lauda WK1400), merilni termostat (Lauda UB40) s potopljeno celico za merjenje prevodnosti, ki je priklopljena na sodobno merilno opremo (Bešter-Rogač in Habe, 2006)

Osnovne specifikacije izboljšane sistema za merjenje prevodnosti so (Bešter-Rogač in Habe, 2006):

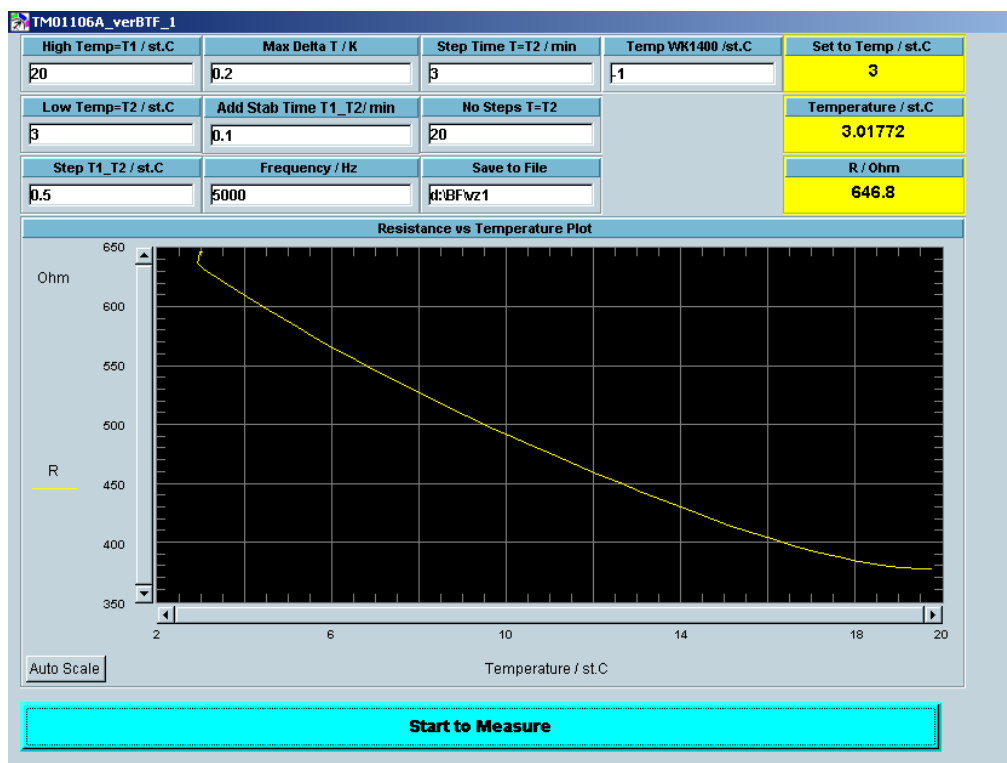
- temperaturno območje 0–45 °C, stabilnost: $\pm 0,005$ K
- nezanesljivost pri merjenju upornosti: $>0,05$ %
- frekvenčno območje: 20 Hz–1 MHz
- istočasna uporaba do 9 celic za merjenje prevodnosti in avtomatski preklon med njimi

Vzorci smo med samim merjenjem hladili z naslednjim temperaturnim režimom. Začetna temperatura merjenja je znašala 20 °C, ki je med merjenjem linearno padala približno 2,5 ure do končne temperature (T_k) 3 °C. Ko smo dosegli $T_k = 3$ °C, smo vzorce na tej temperaturi

termostatirali še naknadno 1 uro, medtem ko smo neprekinjeno merili prevodnost. Enak režim smo uporabili tako pri vseh 12 realnih vzorcih vina kot tudi pri obeh alkoholnih raztopinah:

$t = 2,5 \text{ h: } T_z = 20 \text{ }^\circ\text{C} \longrightarrow T_k = 3 \text{ }^\circ\text{C}$
 $t = 1 \text{ h: } T_k = \text{konstantna (3 }^\circ\text{C)}$

Inštrument je meril prevodnost na vsake 3 minute; vseh meritev je bilo 20. Parametri, po katerih se ravnaajo merilni inštrumenti, se vnesejo v računalnik, ki zbira rezultate merjenja.



Slika 9: Posnetek računalniškega zaslona oziroma kontrolne plošče z nastavitvami za merjenje prevodnosti in grafičnim prikazom procesa merjenja (diagram prikazuje odvisnost upornosti od temperature)

S pomočjo tega računalniškega programa smo dobili podatke o upornosti (R) za vsak sleherni vzorec in jih nato preračunali po naslednji matematični zvezi (relacija 8) v prevodnost (χ):

$$\chi (\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}) = \frac{B}{R} \cdot \frac{dT}{dt} \quad (8)$$

Konstanta celice: $B = 0,8115 \text{ cm}^{-1}$

3.2.6 Določanje kalija

Odvzem vzorcev za določanje kalija je potekal v času merjenja prevodnosti in istočasnega ohlajevanja v treh časovnih intervalih za vsak vzorec vina posebej:

$t = 0$; $T_z = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$

$t = 2,5\text{ h}$; $T_k = 3\text{ }^{\circ}\text{C}$

$t = 3,5\text{ h}$; $T_k = 3\text{ }^{\circ}\text{C}$

Prvi vzorec za določanje kalija smo odvzeli ob samem začetku merjenja prevodnosti pri temperaturi $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Drugega smo odvzeli po približno dveh urah in pol, ko je bila dosežena končna temperatura $3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tretji vzorec pa smo odvzeli na koncu merjenja prevodnosti po enournem držanju pri temperaturi $3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ta postopek smo ponovili pri vseh 14 vzorcih (12 vzorcev vin in dva vzorca alkoholnih raztopin); torej smo skupaj odvzeli 42 vzorcev za določanje kalija.

Preglednica 7: Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija

Rdeče vino			Belo vino		
Oznaka vzorca vina	Oznaka vzorca za določanje K^+	T ($^{\circ}\text{C}$) ob vzorčenju	Oznaka vzorca vina	Oznaka vzorca za določanje K^+	T ($^{\circ}\text{C}$) ob vzorčenju
vz.1 (kontrola)	1	20	vz.7 (kontrola)	19	20
	2	3		20	3
	3	3		21	3
vz.2 (hladna stab.)	4	20	vz.8 (hladna stab.)	22	20
	5	3		23	3
	6	3		24	3
vz.3 (gumiarabika)	7	20	vz.9 (bentonit)	25	20
	8	3		26	3
	9	3		27	3
vz.4 (metavinska k.)	10	20	vz.10 (metavinska k.)	28	20
	11	3		29	3
	12	3		30	3
vz.5 (jajčni beljak)	13	20	vz.11 (PVPP)	31	20
	14	3		32	3
	15	3		33	3
vz.6 (manoproteini)	16	20	vz.12 (SiO_2 +želatina)	34	20
	17	3		35	3
	18	3		36	3
Alk. raztopina – Rdeče vino			Alk. raztopina – Belo vino		
Oznaka vzorca alk. razt.	Oznaka vzorca za določanje K^+	T ($^{\circ}\text{C}$) ob vzorčenju	Oznaka vzorca alk. razt.	Oznaka vzorca za določanje K^+	T ($^{\circ}\text{C}$) ob vzorčenju
vz.13	37	20	vz.14	40	20
	38	3		41	3
	39	3		42	3

Pred samim merjenjem kalija je bilo potrebno vzorce ustrezno razredčiti. Vsebnost kalija (mg/L) smo določili z atomsko emisijsko spektrometrijo (AES), s katero merimo intenziteto svetlobe, ki jo atomi oddajajo pri prehodu iz vzbujenega stanja v nižje ali osnovno stanje. Uporabili smo enožarkovni atomski absorpcijski spektrometer Perkin Elmer 2280 v emisijskem načinu pri valovni dolžini $\lambda = 766,5$ nm.

3.2.6.1 Kvantitativno določanje izločenega vinskega kamna po hladni stabilizaciji

Iz razlike v vsebnosti K^+ ionov pri kontrolnem in hladno stabiliziranem vzorcu (relacija 9) lahko izračunamo, koliko vinskega kamna v obliki KHT (m, mg/L) se je izločilo iz vzorca rdečega in belega vina med hladno stabilizacijo (relacija 12):

$$m(K^+)_{izločen} = m(K^+)_{kontrola} - m(K^+)_{hladna\ stab.} \quad (9)$$

Izračun:

- $M(K^+) = 39,10$ g/mol (molska masa kalija)
- $M(KHT) = 188,18$ g/mol (molska masa KHT)



Iz relacije 10 je razvidno, da je množina (n, mol) K^+ ionov enaka množini KHT (relacija 11).

$$n(K^+) = n(KHT) \quad (11)$$

$$m(KHT)_{izločen} = M(KHT) \cdot n(KHT) \quad (12)$$

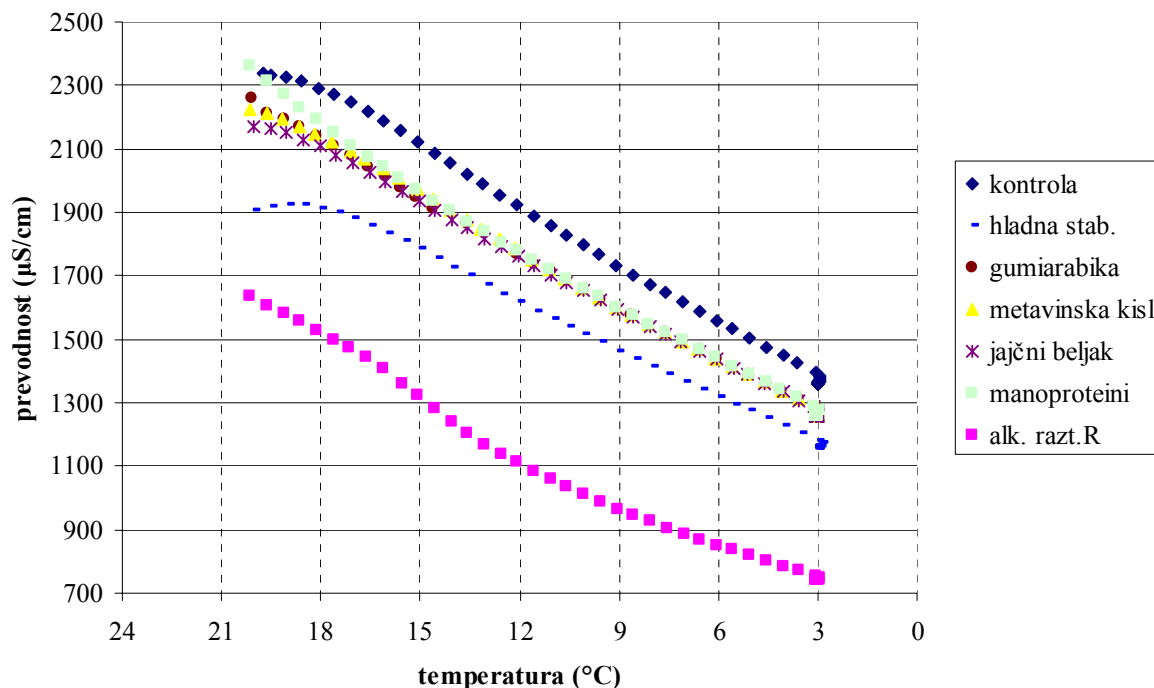
3.2.7 Zunanja morfologija kristalov

Pri vzorcih rdečega in belega vina (vzorec št. 2 in vzorec št. 8) se je zaradi hladne stabilizacije izločil vinski kamen na notranjih stenah plastenke (slika 7a in 7b). Izločen vinski kamen smo osušili in posneli z elektronskim mikroskopom JEOL T300 pod različnimi povečavami (100-, 500-, 1000-, 1500- in 5000-kratna povečava). Fotografiranje zunanje morfologije kristalov pod mikroskopom je bilo opravljeno na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo v Ljubljani.

S fotografiranjem kristalov pod mikroskopom smo želeli primerjati zunanjo morfologijo kristalov vinskega kamna, ki so se izločili iz belega in rdečega vina.

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI MERJENJA SPECIFIČNE ELEKTROLITSKE PREVODNOSTI IN VSEBNOSTI KALIJA

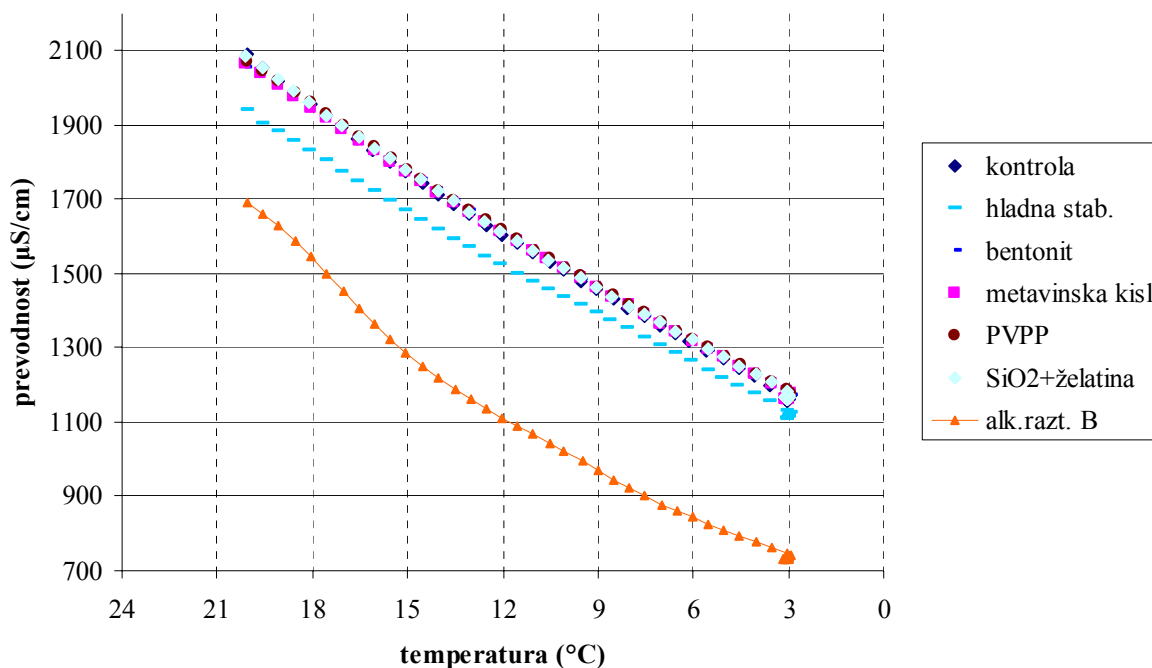


Slika 10: Temperaturna odvisnost elektrolitskih prevodnosti vzorcev rdečih vin in alkoholne raztopine med postopkom hlajenja

Slika 10 prikazuje krivulje prevodnosti alkoholne raztopine in vzorcev rdečega vina z dodatki različnih čistilnih sredstev v odvisnosti od temperature. Pri kontrolnem vzorcu opazimo najvišje vrednosti v prevodnostih. Obratno najmanjše prevodnosti opazimo pri vzorcu predhodno hladno stabiliziranega vina, če izvzamemo alkoholno raztopino, pri kateri so vrednosti dobljenih prevodnosti še izrazito nižje. Štirje vzorci rdečega vina z dodanimi čistilnimi sredstvi imajo podobno krivuljo. Vrednosti prevodnosti teh vzorcev so nižje kot pri kontrolnem vzorcu in višje kot pri vzorcu stabiliziranem na hladnem.

Vse krivulje prevodnosti se najbolj razlikujejo med seboj v začetni fazi hlajenja, ko pade temperatura iz 20 °C na 17 °C. Pri vzorcu, ki je bil predhodno hladno stabiliziran opazimo določen zastoj v padanju prevodnosti v začetni fazi hlajenja. Podobno, čeprav manj izrazito obnašanje opazimo pri kontrolnem vzorcu in pri vzorcih z dodatkom metavinske kisline in jajčnega beljaka. Pri vzorcih z dodatkom manoproteinov in gumiarabike tega ne opazimo, saj je tu krivulja že na samem začetku strma.

Pri vseh krivuljah prevodnosti, ne glede na začetne zastoje pri posameznih vzorcih opazimo, da so krivulje bolj strme do temperature okrog 12 °C, v drugi polovici hlajenja pa postanejo bolj položne. To se še najlepše vidi pri alkoholni raztopini.

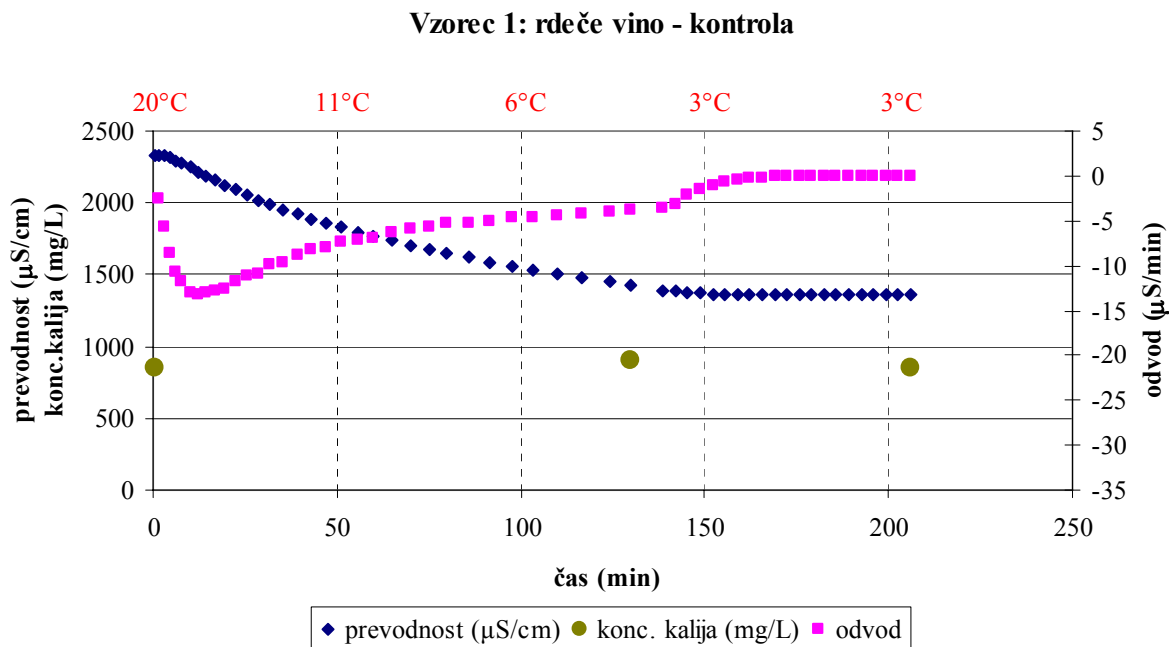


Slika 11: Temperaturna odvisnost elektrolitskih prevodnosti vzorcev belih vin in alkoholne raztopine med postopkom hlajenja

Slika 11 prikazuje krivulje prevodnosti vzorcev belega vina z dodatki različnih čistilnih sredstev in alkoholne raztopine v odvisnosti od temperature. Za razliko od rdečih vin tu ne opazimo odstopanja kontrolnega vzorca od vzorcev z dodanimi čistilnimi sredstvi. Vidno pa odstopa vzorec, ki je bil predhodno stabiliziran na hladnem, saj ima nižje vrednosti prevodnosti kot ostali vzorci vina. Pri predhodno stabiliziranem vzorcu opazimo tudi manjši naklon krivulje. Podobno kot pri rdečih vzorcih so tudi pri belih krivulje v prvi polovici hlajenja bolj strme. Spet se to najizraziteje vidi pri alkoholni raztopini, ki je že v osnovi manj prevodna od vzorcev vina. Vzorci vina vsebujejo številne snovi (različne ione), ki prevajajo električni tok.

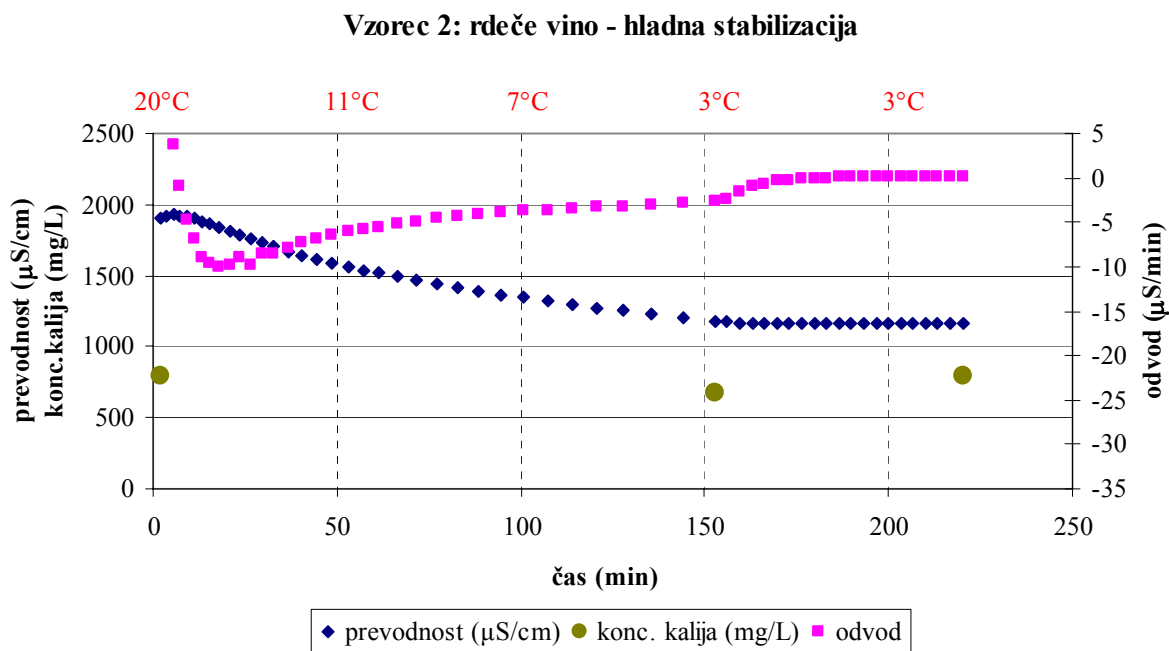
Na slikah 12–23 so prikazane časovne odvisnosti elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcih vina. Odvod prevodnosti po času nam pove, kakšna je hitrost spreminjanja prevodnosti med hlajenjem vina. Krivulje odvoda prevodnosti po času se med seboj najbolj razlikujejo na samem začetku hlajenja. Do teh razlik pride zaradi nihanja temperature pri vzpostavljanju začetne temperature 20 °C. Ta začetna nihanja ne vplivajo na rezultate merjenja prevodnosti. Pri opazovanju odvoda prevodnosti opazimo tudi določen časovni zamik pri vzpostavljanju končne temperature 3 °C. Vse vzorce smo ohlajali iz 20 °C na 3 °C in jih nato še zadrževali 1 uro pri 3 °C. Na vseh slikah se lepo vidi, kako padajo prevodnosti zaradi hlajenja, saj je prevodnost odvisna od temperature. Zaradi zniževanja temperature se namreč zmanjša kinetična energija ionov v raztopini in to se odraža v manjših vrednostih prevodnosti. Vse slike nam tudi nazorno prikazujejo, kako se prevodnosti ustalijo pri temperaturi 3 °C, to je v trenutku, ko nismo več nadaljevali s hlajenjem, temveč smo temperaturo zadrževali na 3 °C.

Z merjenjem koncentracije kalija smo pred, med in po poskusu želeli izvedeti, kakšne so vsebnosti kalija v posameznih vzorcih in kako se le-te spreminjajo zaradi morebitnega izločanja vinskega kamna. Če primerjamo slike vzorcev rdečih vin (12–17) in vzorcev belih vin (18–23), lahko ugotovimo, da so vsebnosti kalija v splošnem višje pri rdečih kot pri belih vinih. Pri vseh 12 vzorcih vina ni opaznega padca v koncentraciji kalija zaradi hlajenja, saj so koncentracije kalija bolj ali manj konstantne. V primeru, da bi se vinski kamen izločal, bi pričakovali nižje vsebnosti kalija med in predvsem po hlajenju vina.



Slika 12: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri kontrolnem vzorcu rdečega vina

V kontrolni vzorec rdečega vina nismo dodajali nobenih enoloških sredstev. Vse do začetka merjenja prevodnosti smo ga pustili na sobni temperaturi. Pred začetkom merjenja prevodnosti smo ga pretočili iz 1,5 L plastenke v 1 L steklenico in prefiltrirali skozi dvoslojni filtrski papir. Koncentracija kalija se giblje okrog 0,85 g/L in se ne spreminja zaradi hlajenja.



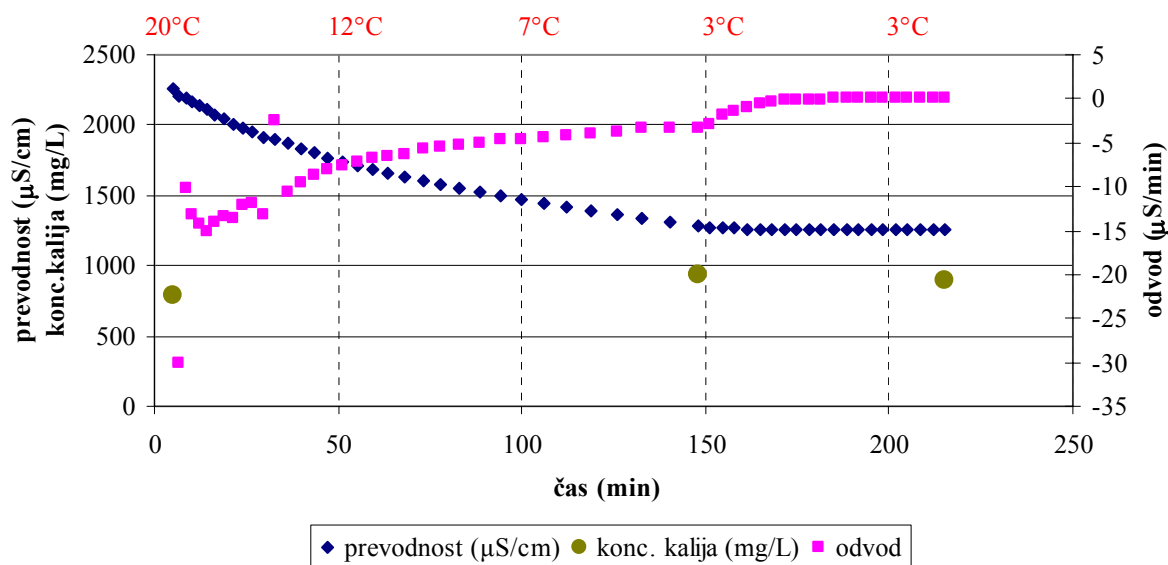
Slika 13: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri hladno stabiliziranem vzorcu rdečega vina

Slika 13 prikazuje meritve prevodnosti in kalija pri vzorcu, ki smo ga predhodno stabilizirali na hladnem (en dan pri $-19\text{ }^{\circ}\text{C}$, nato en teden pri $1\text{ }^{\circ}\text{C}$). V tem času se je vinski kamen vidno izločil (slika 7b). Krivulja prevodnosti se pri tem vzorcu še najbolj razlikuje od ostalih vzorcev vina. Vrednosti prevodnosti so nižje in naklon krivulje je bolj položen.

Tudi izmerjena koncentracija kalija priča o tem, da se je vinski kamen izločil, saj le-ta znaša $0,79\text{ g/L}$, kar je manj kot pri kontrolnem vzorcu. Med hladno stabilizacijo se je iz rdečega vina izločilo $0,07\text{ g K}^+$ ionov/L oziroma $0,29\text{ g KHT/L}$ (glej točko 3.2.6.1).

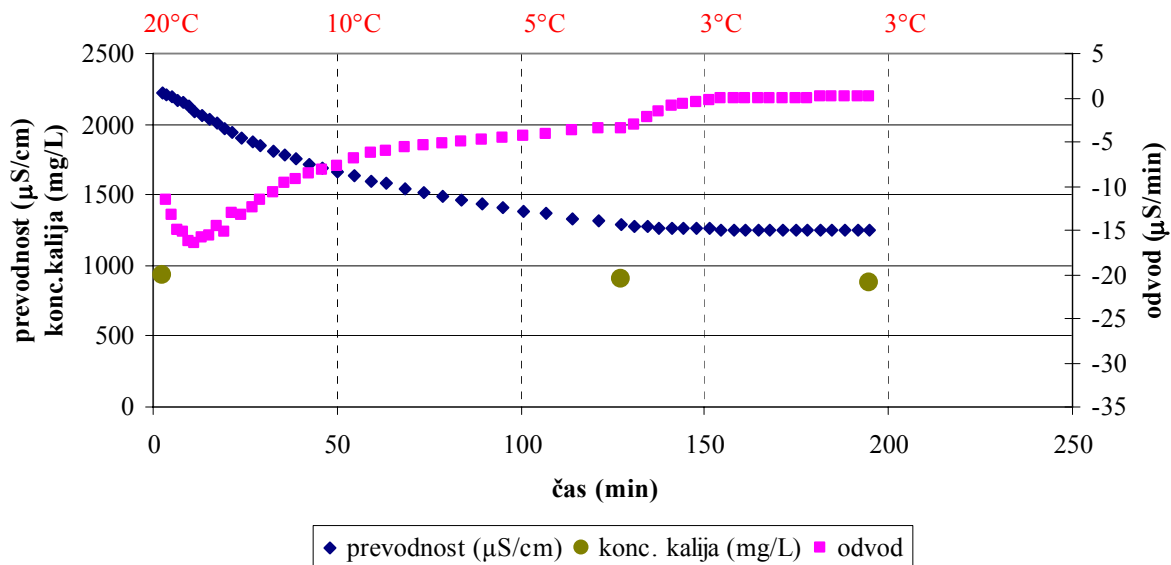
Slike 14–16 prikazujejo meritve prevodnosti in kalija pri vzorcih rdečega vina, v katere smo dodali stabilizacijska in čistilna sredstva: gumiarabiko, metavinsko kislino, jajčni beljak in manoproteine. Že iz slike 10 je bilo razvidno, da so vrednosti prevodnosti vseh rdečih vzorcev z dodanimi čistili nekoliko nižje kot pri kontrolnem vzorcu. To pomeni, da so se ti dodatki vezali na določene ione v vinu, ki so s tem izgubili vpliv na prevodnost. Že v literaturi smo zasledili, da imajo gumiarabika, metavinska kislina in manoproteini inhibitorni učinek. Iz krivulj prevodnosti pa je opazno, da ima tudi jajčni beljak podoben učinek. Prevodnost smo merili dva tedna po čistilnem poskusu. Žal ne moremo napovedati, kako bi se obnašala ta čistilna sredstva po daljšem obdobju čiščenja. Kar se tiče vsebnosti kalija, lahko rečemo, da so v splošnem večje kot pri vzorcu stabiliziranem na hladnem in so primerljive s kontrolnim vzorcem.

Vzorec 3: rdeče vino - gumiarabika



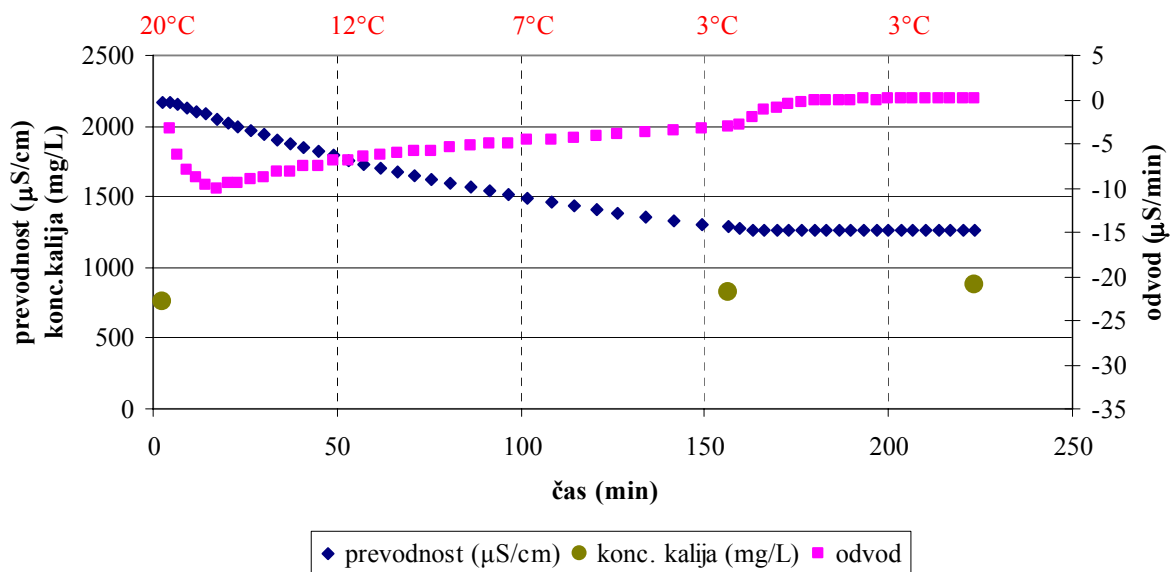
Slika 14: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu rdečega vina z dodatkom gumiarabike

Vzorec 4: rdeče vino - metavinska kislina



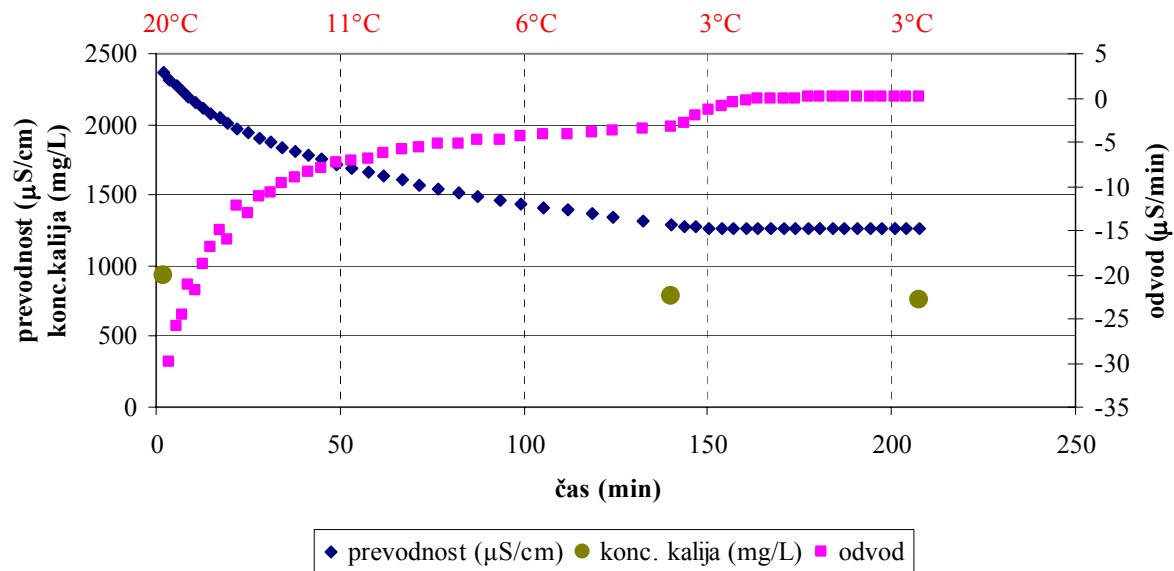
Slika 15: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu rdečega vina z dodatkom metavinske kisline

Vzorec 5: rdeče vino - jajčni beljak



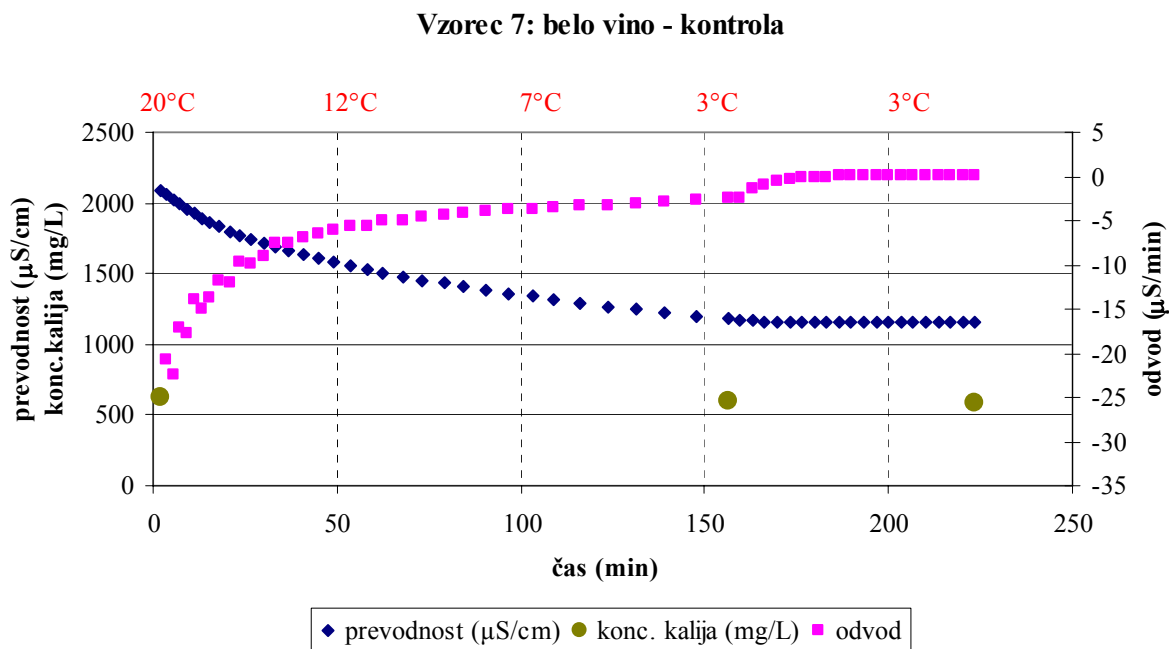
Slika 16: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu rdečega vina z dodatkom jajčnega beljaka

Vzorec 6: rdeče vino - manoproteini



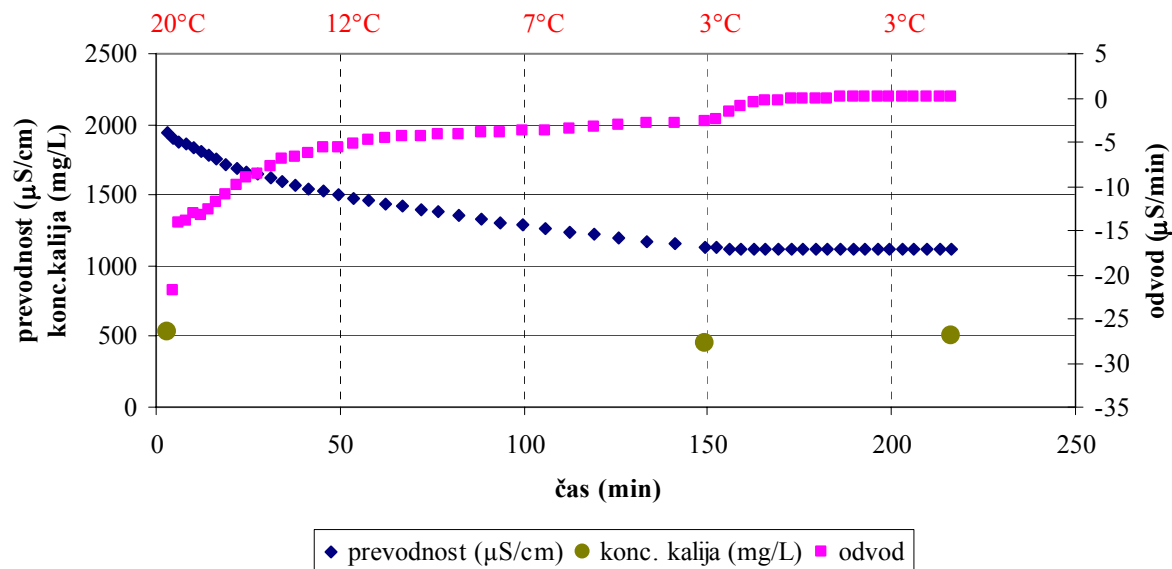
Slika 17: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu rdečega vina z dodatkom manoproteinov

Slike 18–23 prikazujejo meritve prevodnosti in vsebnosti kalija pri vzorcih belega vina. Izmed šestih vzorcev belih vin je bil prvi vzorec spet kontrolni, drugi pa stabiliziran na hladnem (en dan pri $-19\text{ }^{\circ}\text{C}$ in en teden pri $1\text{ }^{\circ}\text{C}$). V ostale štiri vzorce smo dodali sledeča enološka sredstva: bentonit, metavinsko kislino, PVPP in kombinacijo silicijevega dioksida ter želatine. V vseh vzorcih smo merili prevodnost, medtem ko smo ohlajali iz $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ na $3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Krivulje prevodnosti vzorcev z dodanimi enološkimi sredstvi so si med seboj zelo podobne in tudi značilno ne odstopajo od kontrolnega vzorca (slika 11). Zato ne moremo sklepati, da imajo ta enološka sredstva stabilizacijski učinek na bela vina, tudi z ozirom na dejstvo, da se vinski kamen ni izločil pri nobenem vzorcu. O tem pričajo vsebnosti kalija, ki se tekom hlajenja iz $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ na $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ne zmanjšujejo.



Slika 18: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri kontrolnem vzorcu belega vina

Vzorec 8: belo vino - hladna stabilizacija

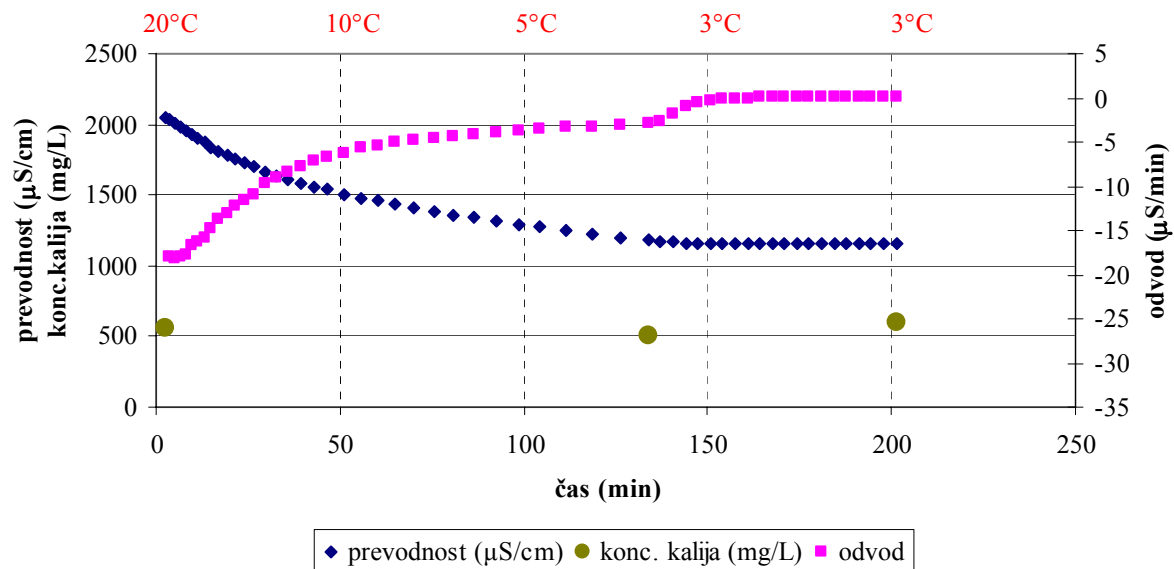


Slika 19: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri hladno stabiliziranem vzorcu belega vina

Tudi pri hladno stabiliziranem vzorcu belega vina je dobro opazna razlika tako v vsebnosti K^+ ionov kot tudi v samem poteku krivulj prevodnosti v primerjavi z ostalimi vzorci belega vina. Vinski kamen se je izločil že med hladno stabilizacijo, zato je bilo vino že popolnoma stabilno v času merjenja prevodnosti in ponovnega hlajenja.

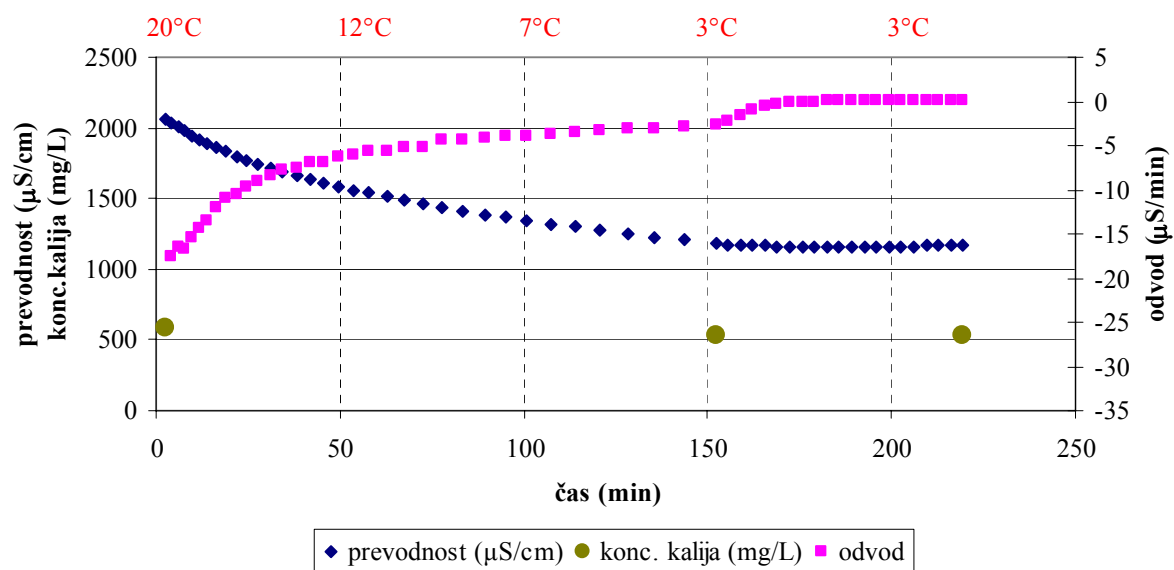
Iz vzorca belega vina se je med hladno stabilizacijo izločilo $0,09 \text{ g } K^+/\text{L}$ oziroma $0,43 \text{ g KHT}/\text{L}$, kar je več kot pri rdečem vinu. To bi lahko povezali z dejstvom, da ima belo vino večjo vsebnost skupnih kislin in posledično večjo koncentracijo HT^- ionov, ki predstavljajo sestavni del vinskega kamna.

Vzorec 9: belo vino - bentonit



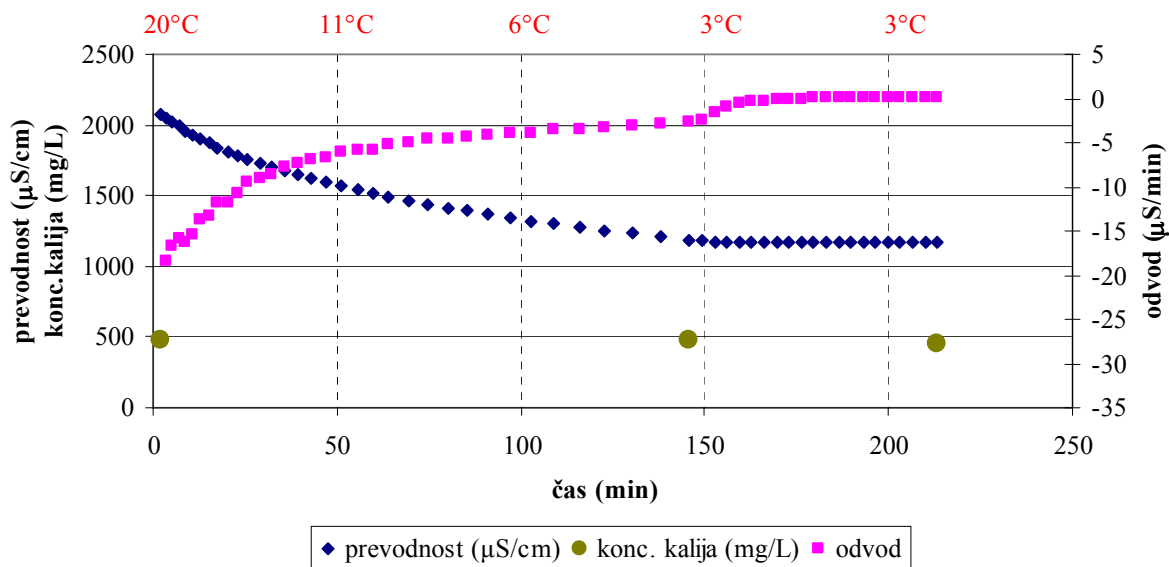
Slika 20: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu belega vina z dodatkom bentonita

Vzorec 10: belo vino - metavinska kislina



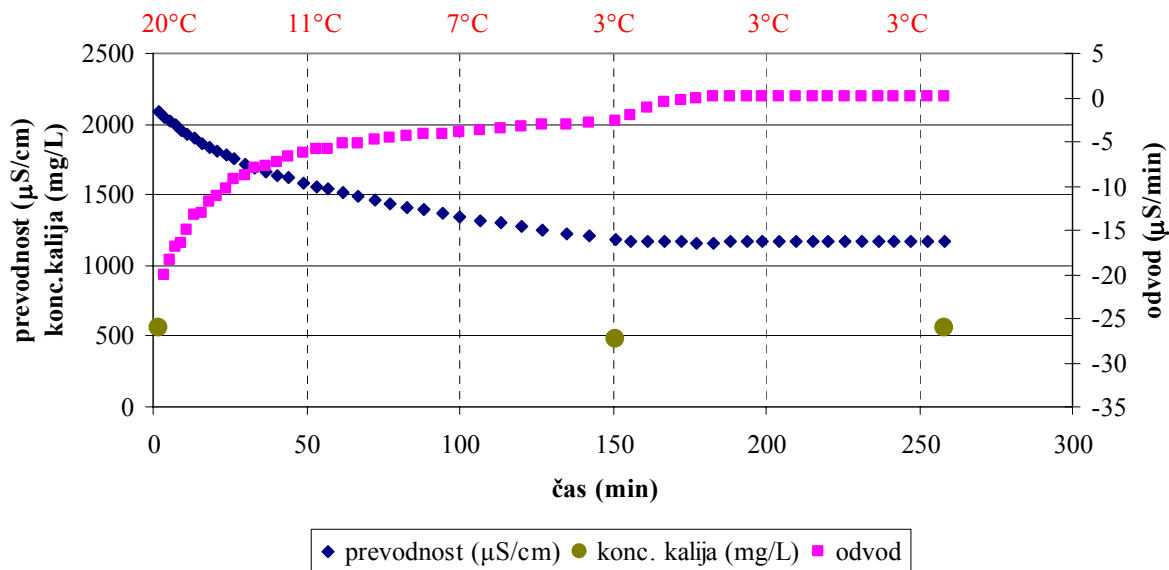
Slika 21: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu belega vina z dodatkom metavinske kisline

Vzorec 11: belo vino - PVPP



Slika 22: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu belega vina z dodatkom polivinilpolipirolidona (PVPP)

Vzorec 12: belo vino - SiO_2 + želatina

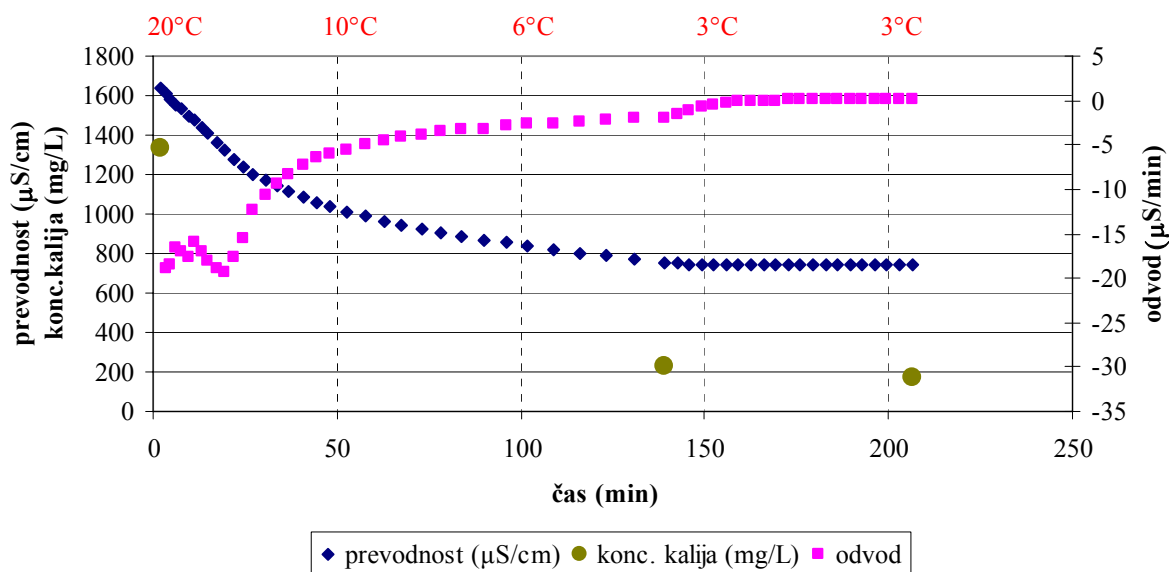


Slika 23: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu belega vina z dodatkom kombinacije silicijevega dioksida in želatine

Sliki 24 in 25 prikazujeta meritve prevodnosti in vsebnosti kalija v modelnih alkoholnih raztopinah, ki smo jih pripravili v enaki alkoholni in kislinski sestavi, kot jo imamo pri rdečem oziroma belem vinu. V alkoholni raztopini smo torej poleg etanola dodali še vinsko kislino in kalijev hidrogenetartrat. Obe alkoholni raztopini sta bili prenasičeni s KHT (preglednica 6). Alkoholna raztopina za belo vino je imela večjo vsebnost skupnih kislin, medtem ko je alkoholna raztopina za rdeče vino imela večjo vsebnost alkohola.

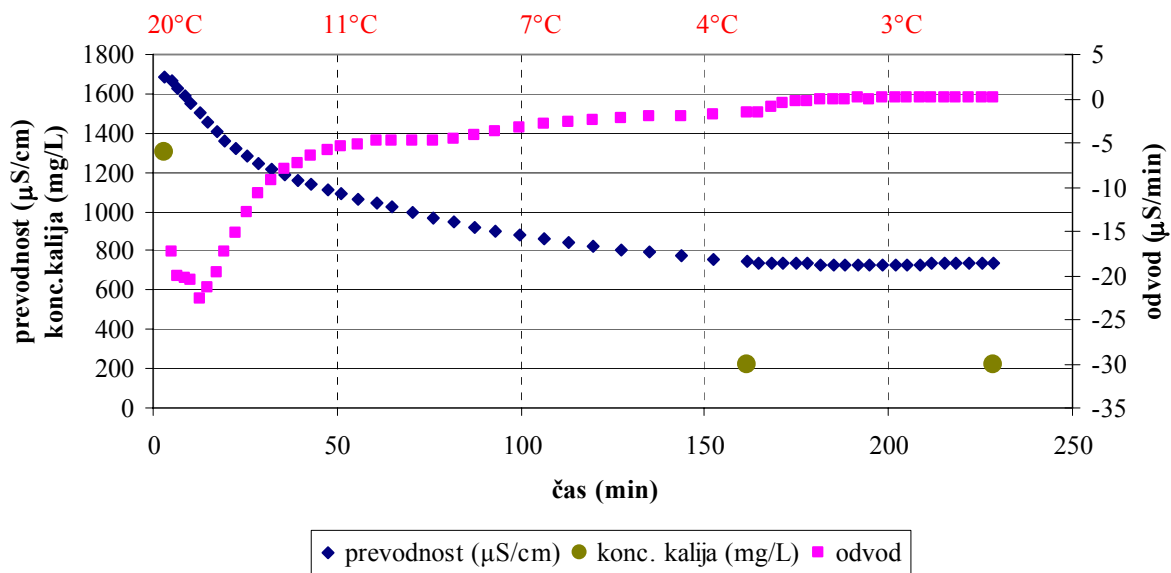
Alkoholni raztopini se po svoji sestavi močno razlikujeta od realnih vzorcev vina. Vino vsebuje številne spojine, ki imajo elektrolitski značaj. Zaradi večje koncentracije različnih ionov opazimo pri vinih veliko večje vrednosti prevodnosti v primerjavi z alkoholnimi raztopinami. Če primerjamo obe alkoholni raztopini med seboj, opazimo večje vrednosti prevodnosti pri alkoholni raztopini za belo vino. To si lahko razlagamo z večjo vsebnostjo skupnih kislin (za 1,83 g vinske kisline/L) pri modelni alkoholni raztopini za belo vino. Iz koncentracij kalija se lepo vidi, da je pri obeh alkoholnih raztopinah prišlo do izločanja KHT v času merjenja prevodnosti, ko smo obe alkoholni raztopini hladili iz 20 °C na 3 °C. Pri obeh raztopinah se je KHT izločil skoraj v celoti (85 %), kar priča o tem, da v alkoholnih raztopinah nismo imeli nobenih inhibitornih sredstev, ki bi zadrževali KHT v raztopini. Ko smo dosegli temperaturo 3 °C in nato še eno uro vzorce zadrževali pri tej temperaturi, se je izločanje vinskega kamna zelo upočasnilo ali celo ustavilo. Pri modelni alkoholni raztopini za rdeče vino opazimo, da se je med enournim zadrževanjem pri 3 °C KHT še rahlo izločal, medtem ko se pri alkoholni raztopini za belo vino izločanje KHT povsem ustavi. Če bi vzorca alkoholnih raztopin še naprej ohlajali, bi se KHT verjetno popolnoma izločil.

Vzorec 13: alk. raztopina za rdeče vino



Slika 24: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu alkoholne raztopine za rdeče vino

Vzorec 14: alk. raztopina za belo vino



Slika 25: Časovna odvisnost elektrolitske prevodnosti in odvoda prevodnosti po času ter vsebnosti kalija med postopkom hlajenja pri vzorcu alkoholne raztopine za belo vino

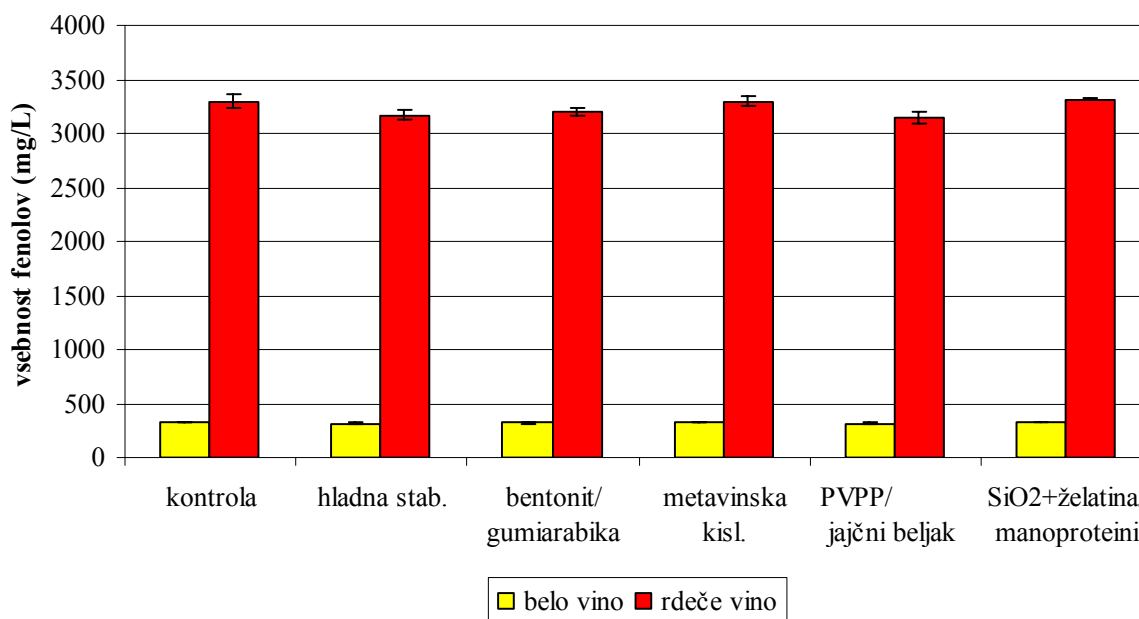
4.2 REZULTATI KEMIJSKIH ANALIZ VINA

Pred in po glavnem poskusu, ki je zajemal merjenje specifične elektrolitske prevodnosti in vsebnosti kalija, smo na vseh vzorcih vina opravili določene kemijske analize vina. V tem podpoglavju predstavljamo rezultate naslednjih analiz naših vzorcev:

- določanje fenolnih spojin
- določanje pH, skupnih titrabilnih kislin in pufrne kapacitete
- določanje barve vina

4.2.1 Rezultati določanja fenolnih spojin

Z določanjem fenolnih spojin smo ugotavljali vpliv posameznih enoloških sredstev na vsebnost fenolov v vzorcih belega in rdečega vina. Nekatera čistilna sredstva se uporabljajo za odstranjevanje fenolnih spojin v vinu (glej točko 2.4.4). Od enoloških sredstev, ki smo jih uporabili pri našem poskusu, na vsebnost fenolov vplivajo jajčni beljak, želatina in PVPP. Ta čistila odstranjujejo fenole tako, da se z njimi vežejo v kompleksnejše spojine, ki se nato oborijo. Fenoli so negativno naelektrene spojine v vinu, ki privlačijo pozitivno naelektrena čistila, med katere spada želatina in jajčni beljak. PVPP pa se na fenole veže tako, da tvori z njimi vodikove vezi.

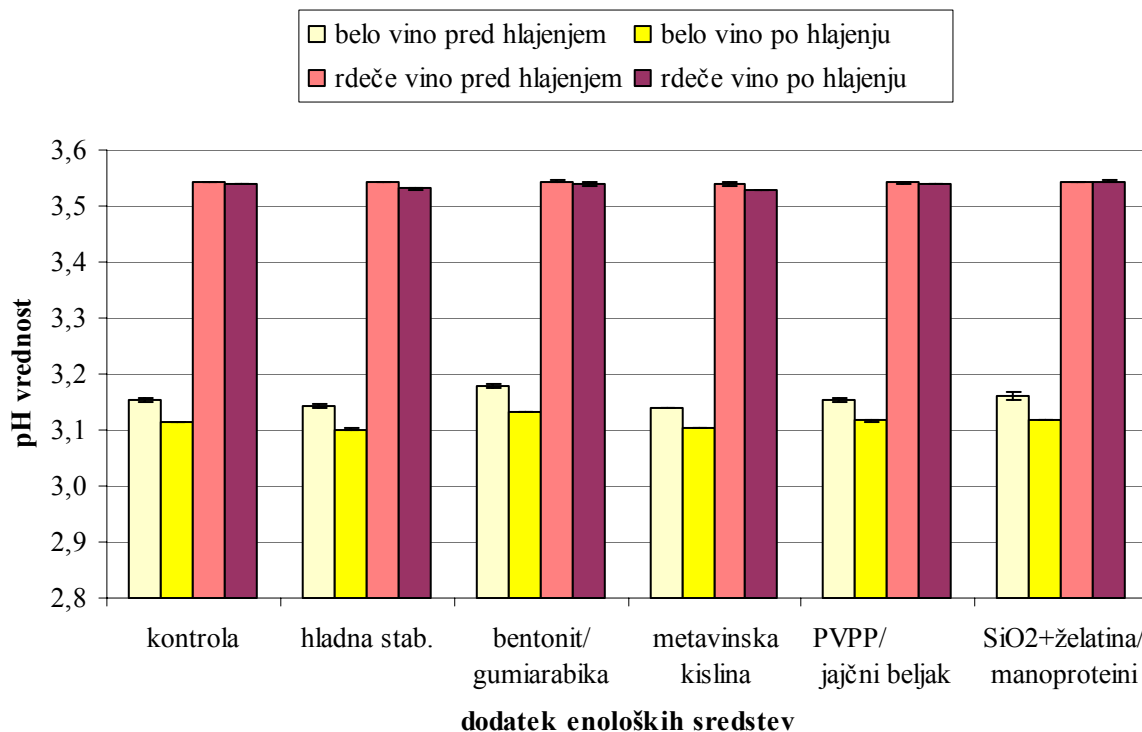


Slika 26: Primerjava vsebnosti fenolnih spojin (v mg galne kisline/L) med vzorci belega in rdečega vina z dodatki različnih enoloških sredstev

Slika 26 prikazuje vsebnosti fenolnih spojin vzorcev belega in rdečega vina. Bela vina imajo veliko manjše vsebnosti fenolnih spojin v primerjavi z rdečimi. Dodana enološka sredstva niso imela posebnega učinka pri belih vinih, saj so vse vrednosti približno enake. Pri rdečih vinih

so te razlike bolj vidne, vendar je potrebno upoštevati tudi večjo napako meritev zaradi razredčitev. Kakorkoli, med vzorce rdečih vin z manjšo vsebnostjo fenolnih spojin spadajo hladno stabiliziran vzorec, vzorec z dodatkom gumiarabike in vzorec z dodanim jajčnim beljakom.

4.2.2 Rezultati določanja vrednosti pH, skupnih kislin in pufrne kapacitete

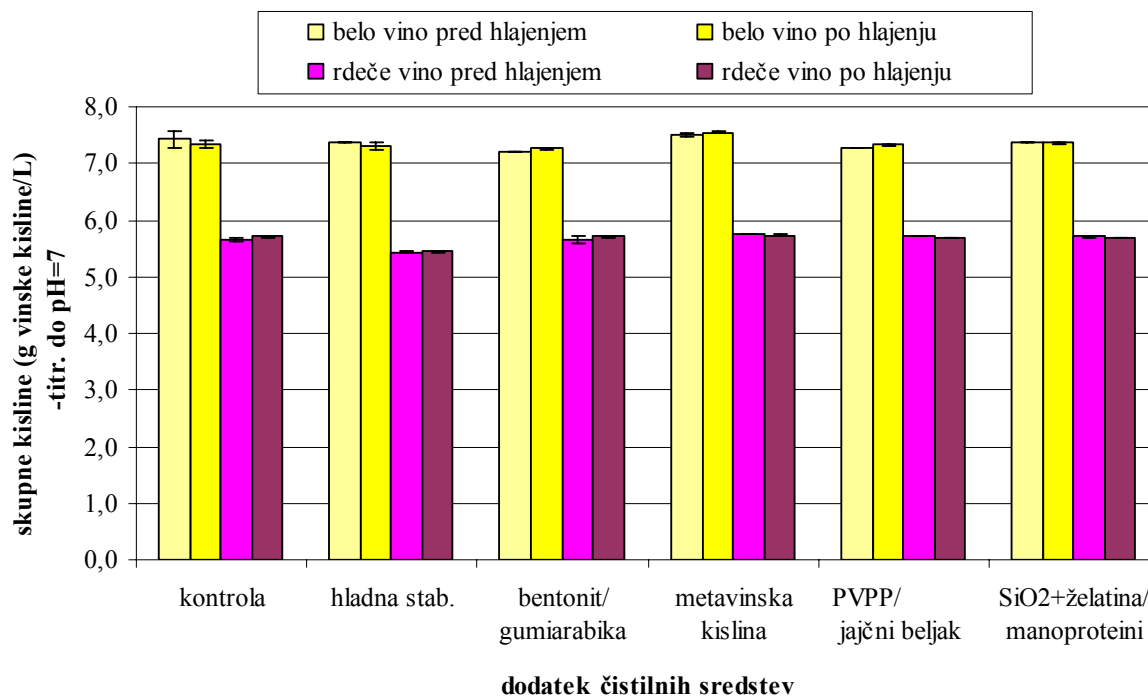


Slika 27: Vrednosti pH vzorcev belega in rdečega vina z dodatki različnih enoloških sredstev izmerjene pred in po postopku hlajenja

Na sliki 27 je najbolj opazna razlika v vrednostih pH med belimi in rdečimi vini. Pri belih vinih so vrednosti pH bistveno nižje, kar se ujema z večjo vsebnostjo kislin pri belih vinih (slika 28). Pri vseh vzorcih vina so vrednosti pH manjše po hlajenju kot so bile izmerjene pred hlajenjem (glej točko 2.5.2.1), kar je v skladu z deležem posameznih zvrsti vinske kisline v odvisnosti od pH (glej sliko 1). Če je $\text{pH} < 3,7$, potem se pri izločanju KHT del prisotne vinske kisline disociira. Ker pri tem poteče proteoliza se koncentracija H_3O^+ v vinu poveča oziroma se pH zmanjša in vino je bolj stabilno. Ta pojav se še bolj izrazito opazi pri vzorcih belega vina.

Opazna je tudi določena razlika v pH med posameznimi vzorci belih vin tako pred kakor tudi po postopku hlajenja. Nekoliko višje vrednosti pH so vidne pri vzorcu z dodatkom bentonita

in tudi pri vzorcu z dodatkom SiO_2 in želatine. Pri rdečih vinih ni značilnih razlik v vrednostih pH med posameznimi vzorci niti ne glede na čas merjenja (pred oz. po hlajenju).

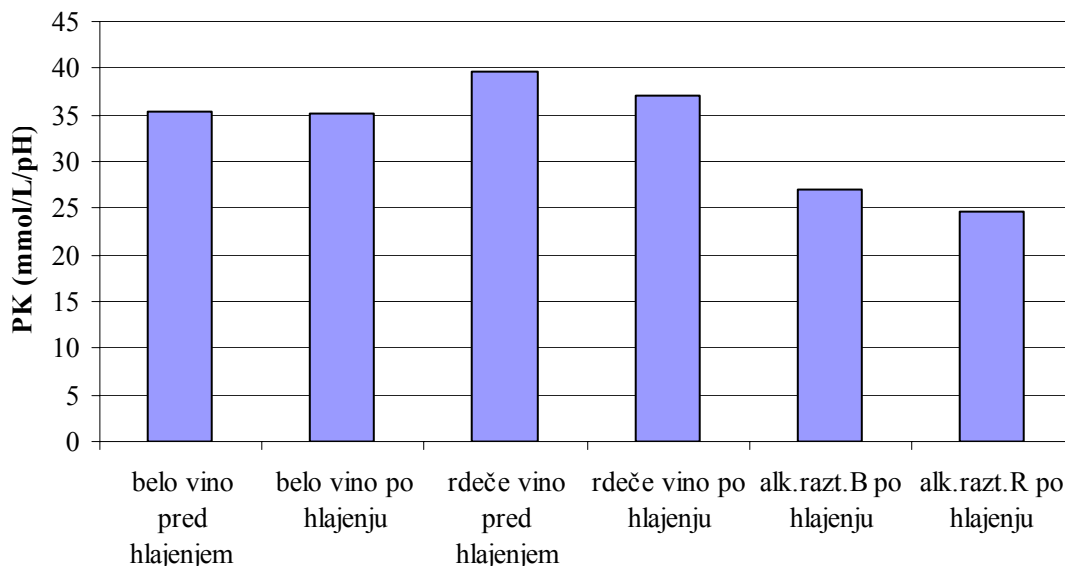


Slika 28: Vsebnosti skupnih titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) belega in rdečega vina z dodatki različnih enoloških sredstev izmerjene pred in po postopku hlajenja

Že na sliki 27 smo pri vzorcih rdečih vin lahko opazili večje vrednosti pH, kar se ujema z manjšimi vsebnostmi skupnih kislin (slika 28). Vsebnosti skupnih kislin so pri vseh vzorcih vin (belih in rdečih) pretežno konstantne glede na čas merjenja (pred oz. po postopku hlajenja). So pa opazne določene razlike med posameznimi vzorci.

Večje vsebnosti skupnih kislin so opazne tako pri belem kot pri rdečem vzorcu vina z dodatkom metavinske kisline. Metavinska kislina je očitno že delno razpadla nazaj v vinsko kislino, kar posledično pomeni dvig koncentracijske ravni skupnih kislin v vzorcu.

Pri hladno stabiliziranem vzorcu rdečega vina se lepo vidi padec vsebnosti skupnih kislin zaradi izločenega vinskega kamna med hladno stabilizacijo. To lahko opazimo tudi pri hladno stabiliziranem vzorcu belega vina, vendar v manjši meri.



Slika 29: Vrednosti dejanske pufrne kapacitete vzorcev belega, rdečega vina pred in po postopku hlajenja in alk. raztopin po postopku hlajenja

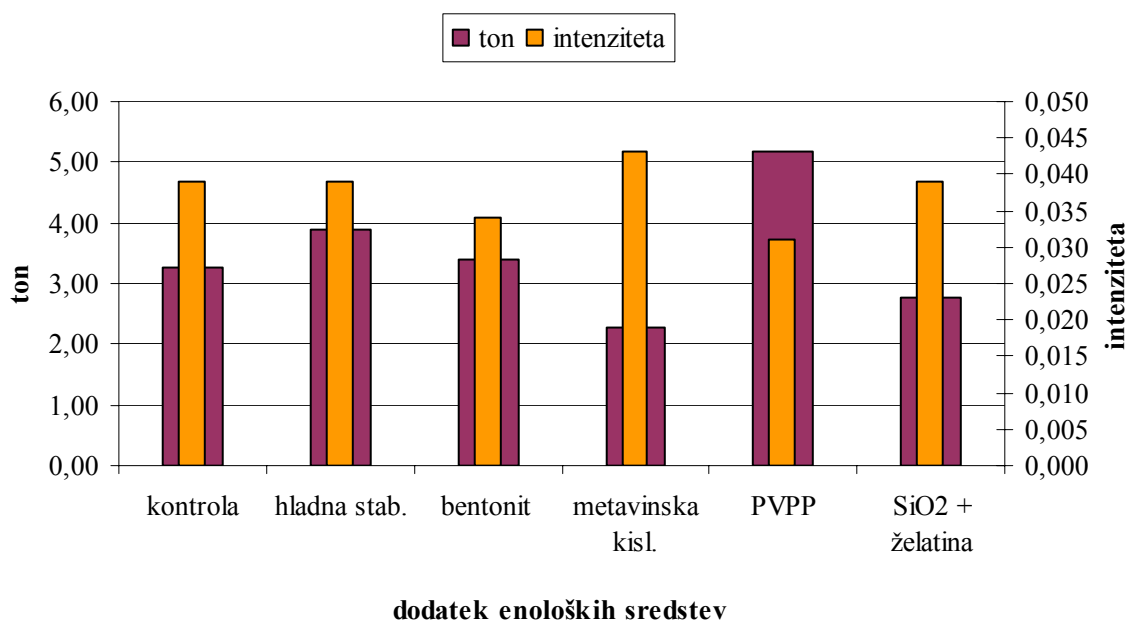
Poleg določanja vrednosti pH in vsebnosti skupnih titrabilnih kislin smo določali tudi dejansko pufrno kapaciteto kontrolnih vzorcev vina in alkoholnih raztopin. Izračunamo jo tako, da seštejemo pufrno kapaciteto ob dodajanju baze in pufrno kapaciteto ob dodajanju kisline. Pri vzorcih vina smo pufrno kapaciteto določali tako pred kot tudi po postopku hlajenja (iz 20 °C na 3 °C), ki smo ga izvedli ob istočasnem merjenju prevodnosti.

Pri kontrolnih vzorcih belega in rdečega vina smo določili večjo vrednost dejanske pufrne kapacitete pred hlajenjem kot po hlajenju. To se tudi ujema z večjimi vrednostmi pH pred hlajenjem.

Pufrne kapacitete alkoholnih raztopin smo merili le enkrat, in sicer po postopku hlajenja. Opazimo, da je pufrna kapaciteta modelne alkoholne raztopine za belo vino večja kot pri alkoholni raztopini za rdeče vino, kar se ujema z večjo vsebnostjo skupnih kislin pri alkoholni raztopini za belo vino.

4.2.3 Rezultati določanja barve vina

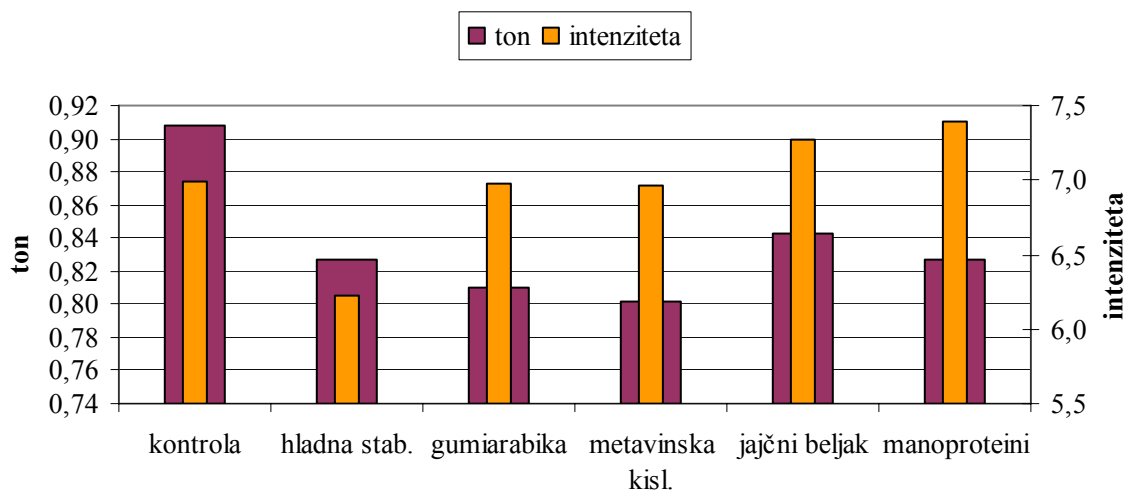
Sliki 30 in 31 prikazujeta ton in intenziteto barve, ki smo jo izmerili pri vzorcih belega in rdečega vina (glej točko 3.2.2). Iz obeh slik je razvidno, da hladna stabilizacija in dodana enološka sredstva različno vplivajo na barvo vina. Barvo vina smo določali po enotedenskem delovanju enoloških sredstev in takrat se nekatera enološka sredstva še niso povsem posedla na dno plastenke, zato so vplivala na merjenje absorbance. Pri obeh zvrsteh vina (beli in rdeči) opazimo, da je ton barve najmanj izrazit pri vzorcih z dodatkom metavinske kisline.



Slika 30: Intenziteta in ton barve belih vin z dodatki različnih enoloških sredstev

Na sliki 30 opazimo, da je ton barve najbolj izrazit pri vzorcu z dodanim PVPP. Ta vzorec se je že na videz razlikoval od ostalih vzorcev, saj je kljub filtraciji ostal moten. V času merjenja barve so bili v vinu še prisotni ostanki tega čistila in so tako vplivali na meritve. Hkrati je pa intenziteta barve najmanjša pri vzorcu z dodanim PVPP.

Pri belem vinu hladna stabilizacija v nasprotju z rdečimi vzorci vina ni imela posebnega vpliva na barvo vina, saj je hladno stabiliziran vzorec po intenziteti identičen in po tonu celo izrazitejši kot kontrolni vzorec.



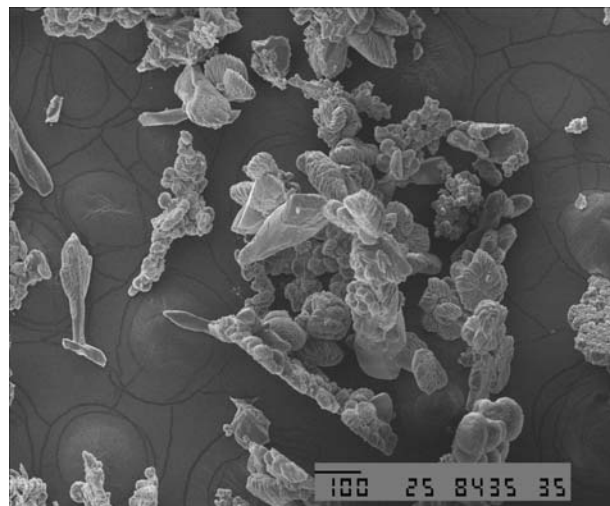
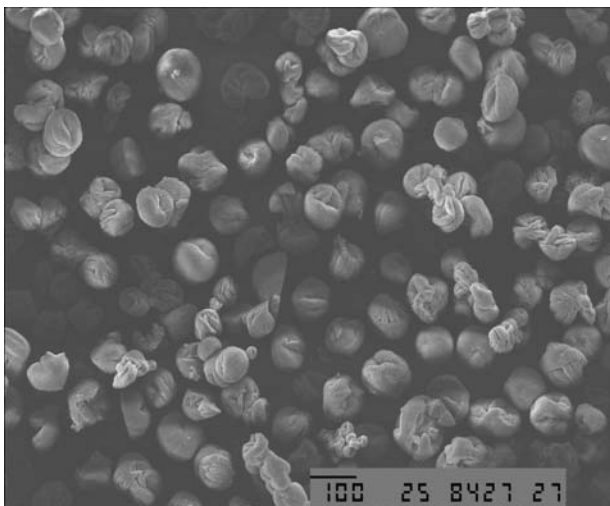
dodatek enoloških sredstev

Slika 31: Intenziteta in ton barve rdečih vin z dodatki različnih enoloških sredstev

Iz slike 31 je lepo razvidno, da je ton barve najizrazitejši pri kontrolnem vzorcu. Tako hladna stabilizacija kot dodana enološka sredstva (predvsem metavinska kislina in gumiarabika) so pri ostalih vzorcih vplivali na zmanjšanje tona barve. Intenziteta barve je najbolj padla pri hladno stabiliziranem vzorcu, zato lahko sklepamo, da so se barvila delno izločila skupaj s kristali vinskega kamna (glej točko 2.5.1.2). Obratno pa največjo intenziteto barve opazimo pri vzorcu z dodatkom manoproteinov. Kot kaže imajo manoproteini stabilizacijski učinek na intenziteto barve rdečega vina. Vzorca z dodatkom gumiarabike in metavinske kisline se po intenziteti ne razlikujeta od kontrolnega vzorca.

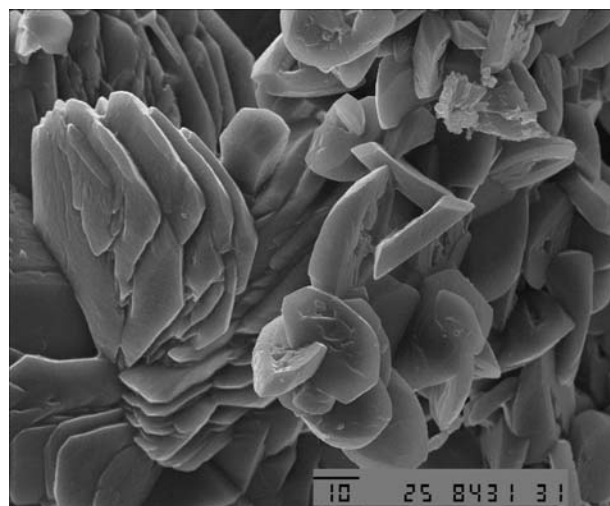
4.2.4 Rezultati fotografiranja zunanje morfologije kristalov

Slike 32–35 prikazujejo zunanjo morfologijo kristalov rdečega (slika a) in belega vina (slika b) pri različnih povečavah. Pri vseh slikah ostaja predmet opazovanja enak, slike pa si sledijo od najmanjše povečave proti največji.

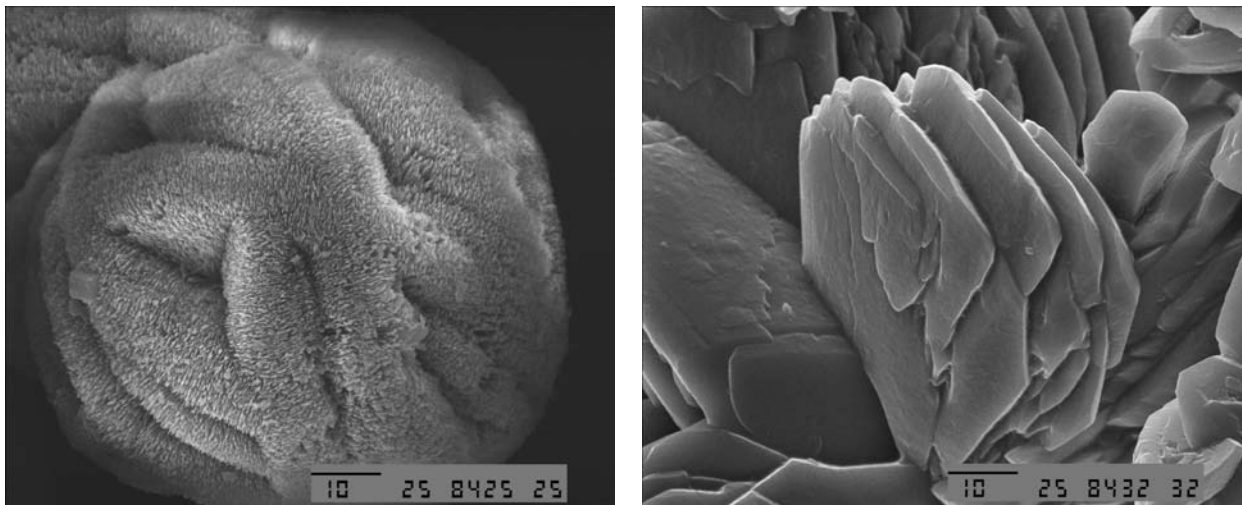


Slika 32a in 32b: Zunanja morfologija kristalov rdečega in belega vina pri 100-kratni povečavi

Že pri najmanjši povečavi (slika 32a in 32b) lahko opazimo, da se kristali združujejo v skupke. Sama razporeditev teh skupkov se vidno razlikuje med kristali rdečega in belega vina. Pri kristalih rdečega vina najdemo skupke okroglih oblik, ki so enakomerno razporejeni, medtem ko so skupki kristalov belega vina bolj podolgovati in neurejeni. Pri večjih povečavah (sliki 33a in 33b) je že bolj razvidna zunanja struktura skupkov kristalov, predvsem pri kristalih belega vina, ki so različnih ploščatih oblik.

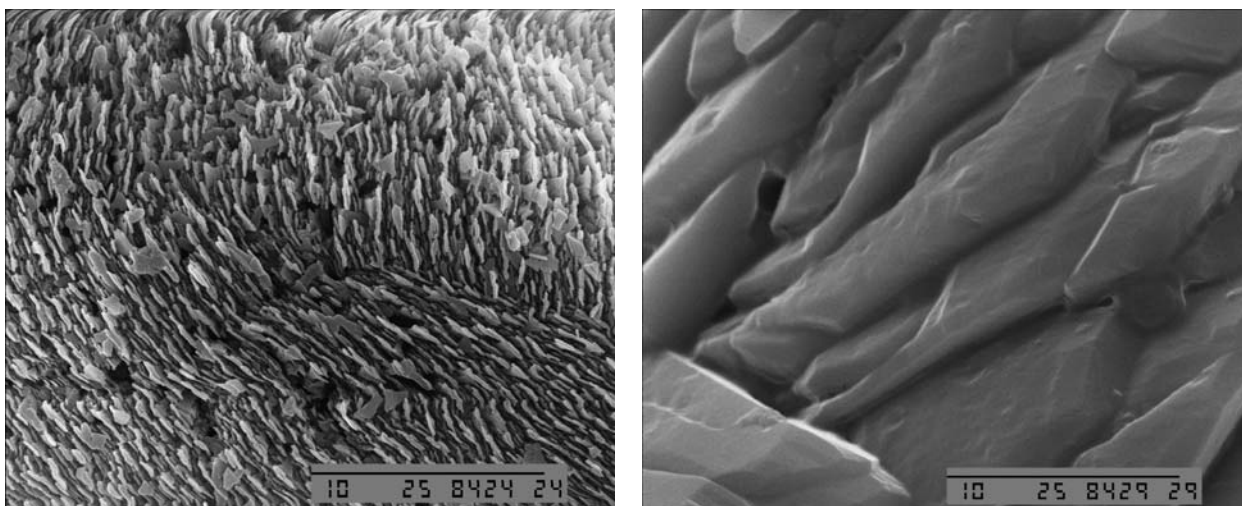


Slika 33a in 33b: Zunanja morfologija kristalov rdečega pri 500-kratni povečavi in belega vina pri 1000-kratni povečavi



Slika 34a in 34b: Zunanja morfologija kristalov rdečega in belega vina pri 1500-kratni povečavi

Pri 1500-kratni povečavi se opazijo očitne razlike v zunanji strukturi kristalnih skupkov. Pri kristalih belega vina opazimo, da se le-ti zlagajo v skladovnice, ki jih sestavljajo kristalne plošče različnih velikosti in oblik. Pri rdečem vinu so te plošče veliko manjše in vertikalno postavljene.



Slika 35a in 35b: Zunanja morfologija kristalov rdečega in belega vina pri 5000-kratni povečavi

Pri 5000-kratni povečavi se še najbolj vidi zunanja struktura kristalov. Opazimo, da so kristali belega vina veliko bolj celoviti in kompaktni od kristalov rdečega vina, ki so videti bolj razdrobljeni. Na zunanjo morfologijo kristalov rdečih vin vplivajo fenolne spojine, ki jih najdemo pri rdečih vinih v znatno večjih količinah kot pri belih.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V diplomskem delu smo ugotavljali vpliv nekaterih, pri nas najpogosteje uporabljenih sredstev za čiščenje in stabilizacijo vina na vinski kamen. Vzorce rdečih vin smo stabilizirali s hladno stabilizacijo, dodatkom metavinske kisline, gumiarabike, jajčnega beljaka in manoproteinov, medtem ko smo pri belih namesto zadnjih treh zgoraj navedenih čistil uporabili bentonit, PVPP in kombinacijo SiO₂ in želatine. Vsa dodana sredstva spadajo med inhibitorje rasti kristalov KHT. Učinkujejo tako, da preprečujejo dostop KHT do ploskev kristalov KHT kakor tudi aglomeracijo v začetku nastalih kristalov (McKinnon in sod., 1995). Vpliv stabilizacijskih dodatkov smo opazovali z merjenjem prevodnosti vzorcev vin in z določanjem vsebnosti K⁺ ionov v vinih. Z merjenjem prevodnosti poleg delovanja temperature stabilizacije lahko določimo tudi temperaturno območje stabilnosti vin (Cameira dos Santos in sod., 2002). Merjenje prevodnosti je primerna metoda za zasledovanje sprememb, ki potekajo med ohlajevanjem vina, saj k prevodnosti prispevajo vsi ioni, ki so pri danih pogojih prisotni v vinu. Vsaka sprememba koncentracije posameznega iona se odrazi v spremembi vrednosti prevodnosti.

Na slikah 12–17 so prikazane časovne odvisnosti spremembe prevodnosti za rdeče vino. Opazimo lahko, da so vrednosti prevodnosti v vseh primerih večje kot pri belem vinu, kar nam pove, da je vsebnost ionov v rdečih vinih večja. Iz razlike med prevodnostjo kontrolnega vzorca in vzorcev z dodatkom inhibitorjev kristalizacije lahko sklepamo, da inhibitorski dodatki vplivajo tudi na vsebnosti drugih ionov v rdečih vinih (Celotti in sod., 1999). Ker teh vplivov nismo opazili pri belih vinih in je bistvena razlika v sestavi med belim in rdečim vinom v vsebnosti fenolov, lahko predvidevamo, da nastopa interakcija med fenoli in inhibitorskimi dodatki.

Na sliki 11 so prikazane temperaturne odvisnosti sprememb prevodnosti vzorcev belega vina in sprememba prevodnosti alkoholne raztopine za belo vino, v kateri smo raztopili znano množino KHT. S primerjavo poteka posameznih krivulj lahko ugotovimo, da je vpliv posameznih inhibitorskih sredstev zelo podoben. Presenetljivo je, da ima tudi vzorec vina, pri katerem nismo opravili nobenih enoloških posegov, zelo podoben potek. To lahko razložimo z že prej opisanimi vplivi posameznih spojin v vinu (fenoli, idr.). Spremembe med prevodnostmi vzorcev pa opazimo, če med seboj primerjamo hitrosti spreminjanja prevodnosti v odvisnosti od časa. Posebej so te razlike opazne v območju 20 °C do 12 °C. Teh razlik ne znamo še popolnoma pojasniti, so pa vsekakor povezane z uporabljenimi enološkimi sredstvi.

Na slikah 18–23 lahko opazimo, da se vsebnosti K⁺ ionov med ohlajanjem ne spreminjajo bistveno, kar potrjuje našo domnevo, da se vinski kamen ne izloča. Manjše vrednosti prevodnosti najdemo pri vzorcu, ki je bil predhodno hladno stabiliziran, kar pomeni, da je vsebnost ionov pri tem vzorcu manjša. Pri hladni stabilizaciji se je namreč iz vzorca izločil vinski kamen, (Zoecklein, 1988).

Krivulje na slikah 24 in 25 prikazujejo časovni potek sprememb prevodnosti prenasičenih alkoholnih raztopin med hlajenjem. Opazne so razlike v poteku krivulj in tudi v spremembi vsebnosti K^+ ionov. Opazimo, da vsebnost K^+ ionov v obeh alkoholnih raztopinah med hlajenjem pade, kar pomeni, da se je izločal KHT. Bistvena razlika med obema raztopinama je v celokupni množini kislin. Iz tega lahko sklepamo, da celokupna množina kislin v alkoholnih raztopinah tudi vpliva na izločanje KHT (Jackson 2002). Alkoholna raztopina za belo vino ima večjo vsebnost skupnih kislin in je zaradi tega bolj podvržena izločanju vinskega kamna. Pri alkoholnih raztopinah je vsebnost ionov že v osnovi manjša kot pri vinih, saj najdemo v vinu še razne druge ione (natrijevi, kalcijevi, fosfatni, sulfatni ioni, idr.).

5.2 SKLEPI

1. V celici za merjenje prevodnosti ni bilo opaznega izločanja vinskega kamna po ohlajevanju vzorcev vina (iz 20 °C na 3 °C). Do padca prevodnosti je sicer prišlo med hlajenjem vina, vendar lahko govorimo zgolj o temperaturni odvisnosti prevodnosti.
2. Do izločanja vinskega kamna je prišlo pri alkoholnih raztopinah, ki so bile prenasočene s KHT in pri obeh hladno stabiliziranih vzorcih (belem in rdečem), kar potrjuje padec v vsebnosti kalija in skupnih kislin.
3. KHT se hitreje izloča pri modelnih alkoholnih raztopinah, ki v nasprotju z realnimi vzorci vina ne vsebujejo naravno prisotnih inhibitorjev kristalizacije.
4. Da bi do izločanja vinskega kamna prišlo tudi pri vzorcih vina, bi morali vzorce ohladiti na nižjo temperaturo od 3 °C med samim merjenjem prevodnosti, vendar to ni bilo možno zaradi omejene zmogljivosti hladilnega aparata. Druga možnost pa bi bila, da bi podaljšali zadrževalni čas hlajenja na 3 °C.
5. Glede na to, da se po enournem zadrževanju pri 3 °C vinski kamen ni izločil, lahko tudi zaključimo, da so bila vina že pred poskusom vsaj delno stabilizirana.
6. Na podlagi različnih vrednosti prevodnosti pri posameznih vzorcih vin, lahko sklepamo, da so dodana enološka sredstva vplivala na spremembo vsebnosti prostih ionov v teh vzorcih.
7. Iz mikroskopskih fotografij kristalov rdečega in belega vina je razvidna razlika v zunanji morfologiji med kristali rdečega in belega vina, ki si jo razlagamo z večjo vsebnostjo fenolnih spojin pri rdečem vinu. To dejstvo potrjujejo tudi same meritve vsebnosti fenolnih spojin.
8. Enološka sredstva, ki smo jih dodali v vzorce rdečih vin, vplivajo na zmanjšanje vrednosti prevodnosti in s tem tudi na manjšo koncentracijo prostih ionov. Od tod lahko sklepamo, da so ta sredstva inhibitorji izločanja vinskega kamna.
9. Enološka sredstva, ki smo jih dodali v vzorce belih vin, niso pokazali inhibitornega učinka na izločanje vinskega kamna.

6 POVZETEK

Dandanes na trgu vina prevladuje velika konkurenca med vini različnih proizvajalcev, zato si le-ti ne smejo privoščiti niti najmanjših tehnoloških napak. Sodoben potrošnik želi torej tehnološko brežhiben proizvod, ki je cenovno usklajen s kakovostjo. Čeprav so kristali vinskega kamna zdravju popolnoma neškodljivi, so v večini primerov moteči, če se pojavijo v končnem proizvodu. Kljub temu ni malo ljubiteljev vina, ki pa menijo ravno nasprotno, in sicer, da so izločeni kristali v steklenici znak kakovosti in jih poimenujejo celo »vinski diamanti«. Ta izraz je ponavadi rezerviran za vina vrhunske kakovosti, ki so bila več let arhivirana.

Poznamo več načinov stabilizacije vina na vinski kamen, ki jih razdelimo na kemijske in fizikalne postopke stabilizacije. Obe tehniki se v samem mehanizmu delovanja razlikujeta, čeprav imata skupen cilj, to je preprečitev izločanja vinskega kamna po stekleničenju. Pri kemijski stabilizaciji gre namreč za dodajanje stabilizacijskih sredstev, ki zavirajo izločanje vinskega kamna, medtem ko so fizikalni postopki naravnani k zmanjšanju koncentracije ionov v vinu, ki sodelujejo pri tvorbi vinskega kamna.

V tem diplomskem delu smo obravnavali učinek enoloških sredstev na izločanje vinskega kamna med postopkom hlajenja rdečega in belega vina. Pri našem poskusu je šlo za kombinacijo tako kemijske kot fizikalne stabilizacije, saj smo v vzorce vina najprej dodali različna enološka sredstva in vse po vrsti hladili na sledeč način (začetno hlajenje iz 20 °C na 3 °C, nato še enourno zadrževanje pri 3 °C). Pripravili smo tudi dve modelni alkoholni raztopini, ki smo jih hladili na enak način kot vzorce vina. Izločanje vinskega kamna smo ugotavljali z merjenjem specifične elektrolitske prevodnosti in z določanjem koncentracije kalija. Eventualne spremembe v sestavi vina smo skušali pojasniti z kemijskimi analizami: določanje fenolnih spojin, barve vina, vrednosti pH, skupnih kislin in pufrne kapacitete.

Pri našem poskusu smo uporabili sedem različnih enoloških sredstev, ki jih lahko razdelimo na sredstva za stabilizacijo na vinski kamen (metavinska kislina, gumiarabika, manoproteini) in sredstva za čiščenje vina (bentonit, PVPP, jajčni beljak, želatina+SiO₂). Po en vzorec rdečega in belega vina smo izpostavili hladni stabilizaciji (en dan pri -19 °C in en teden pri 1 °C).

Vinski kamen se je vidno izločil pri obeh vzorcih vina, ki smo jih izpostavili hladni stabilizaciji. Kristale belega in rdečega vina smo nato poslikali pod elektronskim mikroskopom in jih primerjali med seboj. Opazili smo očitne razlike v zunanji morfologiji med kristali rdečega in belega vina, kar si razlagamo z večjo vsebnostjo fenolnih spojin v rdečih vinih.

Pri hlajenju vseh vzorcev vina iz 20 °C na 3 °C nismo mogli potrditi dejstva, da se je vinski kamen izločil. Koncentracije kalija, ki smo jih izmerili pred, med in po hlajenju se niso zmanjševale, kakor bi pričakovali, če bi se vinski kamen izločal. Od tod smo sklepali, da sta bila oba vina (belo in rdeče) predhodno že vsaj delno stabilizirana na vinski kamen. Zaradi tega dejstva, je bilo oteženo razumevanje vpliva enoloških sredstev pri ostalih vzorcih vina. Iz

krivulj prevodnosti pa se je vendarle dalo več razbrati o samem dogajanju v vinu. Pri obeh vzorcih, ki sta bila predhodno hladno stabilizirana so bile vrednosti prevodnosti značilno nižje kot pri vseh ostalih vzorcih vina. Tu se je vinski kamen izločil in se je zaradi tega zmanjšala koncentracija prostih ionov v vinu, ki vplivajo na prevodnost. Pri vzorcih rdečih vin smo opazili manjše vrednosti prevodnosti vzorcev vin z dodanimi enološkimi sredstvi v primerjavi s kontrolnim vzorcem. Od tod smo sklepali, da imajo dodana enološka sredstva (metavinska kislina, gumiarabika, manoproteini, jajčni beljak) inhibitorjski značaj, torej stabilizirajo na vinski kamen. Ta razlika ni opazna pri belih vinih med kontrolnim vzorcem in vzorci z dodanimi enološkimi sredstvi. V vzorce belih vin smo dodali bentonit, PVPP, kombinacijo SiO_2 in želatine ter metavinsko kislino. Razen metavinske kisline se enološka sredstva, ki smo jih dodali v bela vina, uporabljajo za čiščenje vina in nimajo neposrednega vpliva na izločanje vinskega kamna. O tem pričajo tudi vrednosti prevodnosti, ki se ne razlikujejo od kontrolnega vzorca.

Pri modelnih alkoholnih raztopinah se je KHT v veliki meri izločil med hlajenjem vina (iz $20\text{ }^\circ\text{C}$ na $3\text{ }^\circ\text{C}$). Do tega je prišlo zaradi visokih stopenj prenasičenja s KHT in zaradi tega, ker v alkoholnih raztopinah ni naravno prisotnih inhibitorjev izločanja vinskega kamna. O tem tudi pričajo veliko nižje vrednosti prevodnosti alkoholnih raztopin v primerjavi z vzorci vina.

Preden se odločimo za izbiro enološkega sredstva, je dobro poznati kemijsko sestavo vina. Upoštevati je potrebno parametre vina, ki imajo neposreden vpliv na izločanje vinskega kamna. Ti parametri so:

- pH (pri pH 3,7 bo izločanje vinskega kamna največje);
- vsebnost skupnih kislin (vplivajo na koncentracijo HT^- ionov, ki so sestavni del vinskega kamna);
- vsebnost fenolov (so inhibitorji rasti kristalov vinskega kamna);
- vsebnost kalija (K^+ je osnovni sestavni del vinskega kamna).

S pomočjo kemijskih analiz vina se lahko torej izognemo bodisi nezadostni bodisi pretirani uporabi enoloških sredstev.

Iz opravljenih poskusov lahko zaključimo, da je inhibitorjsko delovanje izbranih sredstev za stabilizacijo vina zelo podobno in da o izbiri sredstva predvsem odloča časovno obdobje, v katerem sredstvo inhibira izločanje vinskega kamna. Prav tako lahko ugotovimo, da je merjenje prevodnosti primerna metoda za zasledovanje sprememb, ki nastopajo v vinih med procesom ohlajanja. Za ugotavljanje izločanja vinskega kamna pa moramo v vinu določiti še koncentracijo K^+ ionov ali pa koncentracijo vinske kisline s HPLC.

7 VIRI

- Amerine M. A., Joslyn M. A. 1970. Table wines: the technology of their production. Berkeley, Los Angeles. University of California Press: 997 str.
- Balakian S., Berg H. W. 1968. The role of polyphenols in the behavior of potassium bitartrate in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 19: 91-100
- Balat M., Boiret M., Marty A., Prosdocimi P., Spinner B., Guittard A. 1989. Procedure for prediction of the risk of precipitation of solids from wine. (Patent) European Patent Application. EP 0 300 901 A1
- Berg H. W., Akiyoshi M. 1971. The utility of potassium bitartrate concentration product values in wine processing. *American Journal of Enology and Viticulture*, 22:127-134
- Bešter-Rogač M., Habe D. 2006. Modern advances in electrical conductivity measurements of solutions. *Acta Chimica Slovenica*, 53: 391-395
- Berg H. W., Keefer R. M. 1958. Analytical determination of tartrate stability in wine. I. Potassium bitartrate. *American Journal of Enology and Viticulture*, 9: 180-193
- Berg H. W., DeSoto R.T., Akiyoshi M. 1968. The effect of refrigeration, bentonite clarification and ion exchange on potassium behavior in wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 19: 208-212
- Berger J.L., Gaillard M. 1988. La stabilisation tartrique des vins. *Progrès Agricole et Viticole*, 105: 287-292
- Bertrand, G. L., Carroll W. R., Foltyn E. M. 1978. Tartrate stability of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29: 25-29
- Cameira dos Santos P., Gonçalves F., Pinho M. N. 2002. Optimization of the method for determination of the temperature of saturation in wines. *Analytica Chimica Acta*, 458: 257-261
- Celotti E., Bornia L., Zoccolan E. 1999. Evaluation of the electrical properties of some products used in the tartaric stabilization of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 343-350
- Chastaingt M. 2003. Les mannoprotéines. *La Vigne*, 149: 62-63
- Dubourdiou D., Villettaz J-C., Desplanques C., Ribereau Gayon P. 1981. Dégradation enzymatique du glucane de *Botrytis cinerea*. Application à l'amélioration de la clarification des vins issus de raisins pourris. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 15: 161-177
- Gautier B. 1998. Les mannoprotéines ou l'Oenologie du 21^{ème} siècle. *Revue des Oenologues*, 86: 15-15
- Jackson R. S. 2000. Wine science: principles, practice, perception. San Diego, Academic Press: 648 str.

- Kapš P. 1997. Vino in zdravje: ugotovitve zdravnika o zdravilnih učinkih vina na človeka. Novo Mesto, Erro: 26-27
- Košmerl T., Kač M. 2004. Osnove kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 2. izdaja. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.
- Košmerl T. 2004. Postopki čiščenja, nege in stekleničenja vina: laboratorijske vaje za predmet Enologija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 54 str.
- Kralj P., Kralj Cigić I., Pompe M., Guček M., Levart A., Kleber I., Veber M. 2006. Analizna kemija: navodila za laboratorijske vaje. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Katedra za analizno kemijo: 56 str.
- Llaubères R. M., Dubourdieu D., Villettaz J.C. 1987. Exocellular polysaccharides from *Saccharomyces* in wine. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 41: 277-286
- Lefebvre D. 2001. Sur blancs, contre le tartre. *Viti*, 261: 26-27
- Mannino M., Triulzi G. 2006. Tartrate stability: positive effects of gum arabic addition. Napa Valley, California, WINETECH.
<http://www.winetech.us/PDF/Technical%20Literature/Gum%20Arabic%20and%20tartaric%20stability.pdf> (12. avg. 2006): 12 str.
- Margalit Y. 2004. Concepts in wine chemistry. 2nd ed. San Francisco, The Wine Appreciation Guild: 445 str.
- Maujean A., Sausy L., Vallée D. 1995. Détermination de la sursaturation en bitartrate de potassium d'un vin : Quantification des effets colloïdes protecteurs. *Revue Française d'Enologie*, 143 : 43-53
- McKinnon A. J., Scollary G. R., Solomon D. H., Williams P. J. 1995. The influence of wine components on the spontaneous precipitation of calcium L(+) tartrate in a model wine solution. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46: 509-517
- Moine-Ledoux V., Dubordieu D., Trioné D. 2005. La stabilisation des précipitations tartriques : mise en évidence du mécanisme d'inhibition par une mannoprotéine spécifique. V: Vinitech Chine, Quingdao, 31. oktober 2005. Congrès et Exposition de Bordeaux; http://www.bordeaux-expo.com/vinitech/chine/pdf_center/stabilisation_precip_tartriq.pdf (avgust 2006): 6 str.
- Moine-Ledoux V., Perrin A., Paladin I., Dubourdieu D. 1997. Premiers résultats de stabilisation tartrique des vins par addition de mannoprotéines purifiées (MANNOSTAB). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 331, 1: 23-31
- Moine-Ledoux V., Dubourdieu D. 2002. Rôle des mannoprotéines de levures vis à vis de la stabilisation tartrique des vins. *Bulletin de l'OIV*, 75, 857-858: 471-482
- Ough C. S., Amerine M. A. 1988. Acidity and individual acids. *Methods for analysis of musts and wines*. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons: 50-60

- Pilone B. F., Berg H. W. 1965. Some factors affecting tartrate stability in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 195-211
- Perin J. 1977. *Compte rendu de quelques essais de refrigeration des vins. Le Vigneron Champenois*, 98, 3: 97-101
- Peynaud E. 1983. *Connaissance et travail du vin: Procédés de stabilisation de vins*. Paris, Dunod, 285-318. Cit. po : Escudier J. L., Moutounet M. 1998. *Introduction generale. V: Œnologie: Fondements scientifiques et technologiques*. Flanzy C. (ed.) 1998. Paris, Technique & Documentation: 921-935
- Racman K. 2001. *Uporaba konduktometrije za odstranjevanje kalijevega hidrogentartrata pri tehnologiji vin*. Diplomsko delo. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 86 str.
- Rankine B. C. 1998. *Making good wine: a manual of winemaking for Australia and New Zealand*. Sydney, Pan Macmillian Australia: 154-170
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Duburdiou D. 2004. *Traité d'oenologie. Vol. 2. Chimie du vin, stabilisation et traitements*. 5^{ème} éd. Paris, *Pratiques Viti-Vinicoles*: 3-40
- Rotter B. 2006. *Fining*. Vancouver, Canada. Vancouver Amateur Winemakers Association. <http://www.brsquared.org/wine/Articles/fining.htm> (julij 2006): 14 str.
- Saint Pierre B., Batlle J. L., Escudier J. L., Moutounet M., 1998. *L'instabilité tartrique des vins: problématique, évaluation, méthodes et techniques de stabilisation*. V: *Œnologie: Fondements scientifiques et technologiques*. Flanzy C. (ed.). Paris, Technique & Documentation: 921-935
- Somers T.C., Ziemelis G. 1985. *Flavonol haze in white wines*. *Vitis*, 24: 43-50
- Wucherpfennig K., Ratzka P. 1967. *SWK Machines Inc., Technical File Veber die Verzögerung der Weinsteinausscheidung durch polymere Substanzen des Weines, Weinberg und Keller*, 14: 499-509
- Wurdig G., Muller T., Friedrich G. 1980. *Studies on tartrate stability: determination of saturation temperature of wines by conductometry*. *Die Weinwirtschaft*, 116: 720-726, 728
- Wurdig G., Muller T., Friedrich G. 1982. *Method of establishing the tartrate stability of wine by determining saturation temperature*. *Bulletin de l'O.I.V.*, 55: 220-229
- Zoecklein B. W. 1988. *A review of potassium bitartrate stabilization of wines*. Blacksburg, Virginia Polytechnic Institute and State University, Department of Horticulture: Publication 463-013
<http://www.fst.vt.edu/extension/enology/downloads/PotBitar.pdf> (junij 2006): 14 str.
- Zoecklein B. W. 2002. *Bitartrate stability*, Blacksburg, Virginia, Department of Food Science and Technology at Virginia Tech. *Enology notes*, 37, January 2002
<http://www.fst.vt.edu/extension/enology/EN/37.html> (junij 2006): 1 str.

ZAHVALA

Mentorici doc. dr. Tatjani Košmerl se zahvaljujem za vodstvo, številne strokovne nasvete ter pomoč pri oblikovanju diplomske naloge.

Prav tako se zahvaljujem prof. dr. Mariji Bešter-Rogač iz Katedre za fizikalno kemijo na Fakulteti za Kemijo in kemijsko tehnologijo za uporabo aparature za merjenje prevodnosti in pomoč pri samem merjenju.

Posebna zahvala gre tudi Katedri za analizo kemijo Fakultete za Kemijo in kemijsko tehnologijo, v prvi vrsti gospodu Vojmirju Francetiču za pomoč pri realizaciji poskusa in za dragocene nasvete pri interpretaciji rezultatov.

Za pregled diplomske naloge se zahvaljujem doc. dr. Rajku Vidrihu. Iskrena hvala tudi gospe Zdenki Zupančič za vodstvo pri laboratorijskem delu.

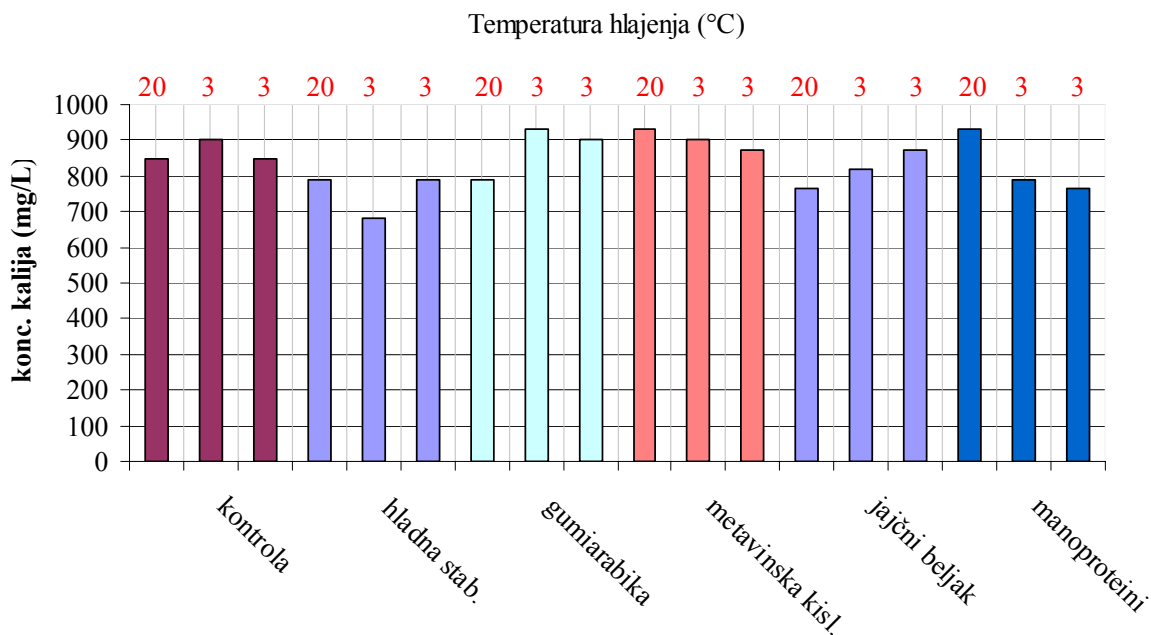
Za pomoč pri iskanju literature se zahvaljujem gospema Ivici Hočevar in Barbari Slemenik.

Iskrena hvala moji družini za vso podporo, razumevanje in spodbudo.

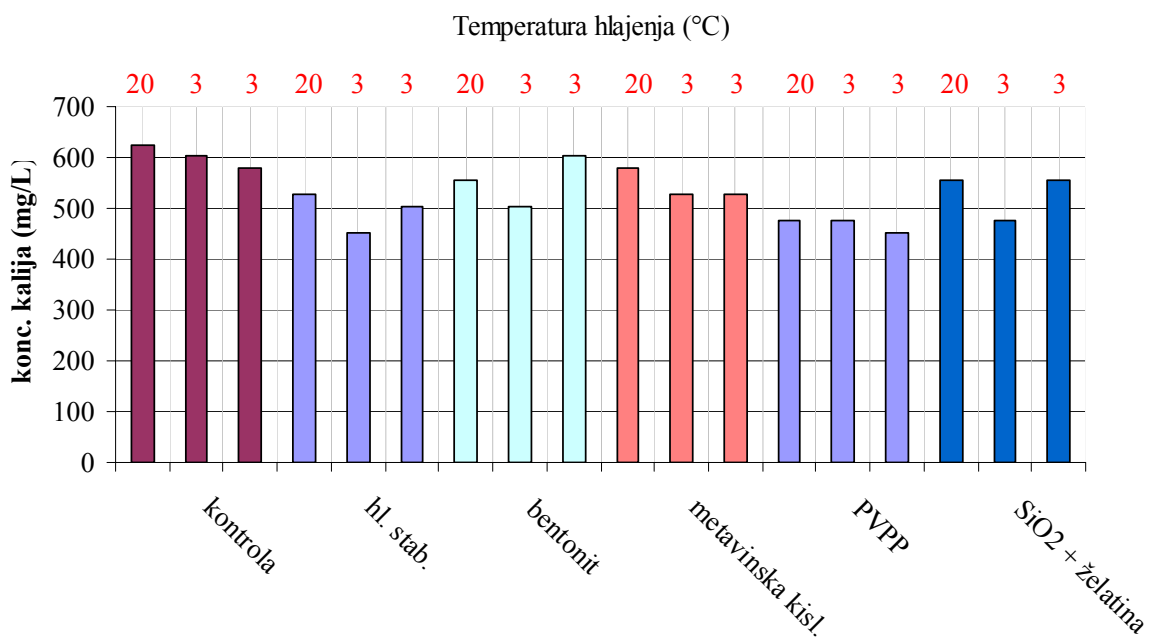
Hvala sošolkam in sošolcem za prijetna študijska leta ter vsem ostalim, ki so tako ali drugače prispevali k mojemu študiju.

PRILOGE

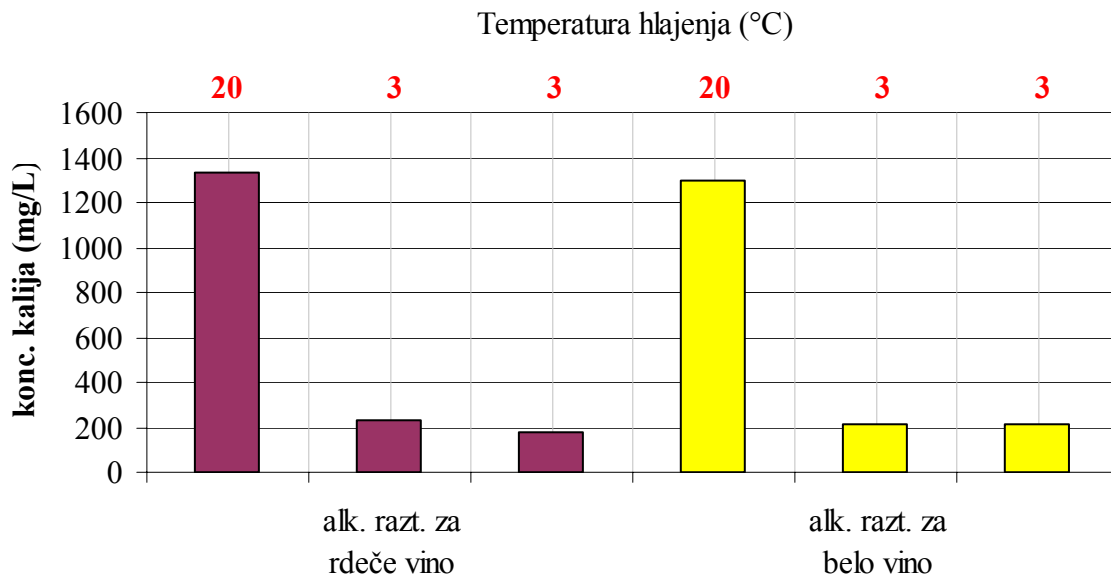
Priloga A: Vsebnosti kalija pri vzorcih rdečega vina z dodatki različnih enoloških sredstev pri različnih temperaturah hlajenja



Priloga B: Vsebnosti kalija pri vzorcih belega vina z dodatki različnih enoloških sredstev pri različnih temperaturah hlajenja



Priloga C: Vsebnosti kalija modelnih alkoholnih raztopin za rdeče in belo vino pri različnih temperaturah hlajenja



Priloga D: Delež (%) rdeče barve, tj. prostih in vezanih antocijaninov v obliki flavilijevega kationa in delež (%) barve pri posameznih valovnih dolžinah v vzorcih rdečega vina

