

UNIVERZA V NOVI GORICI
VISOKA ŠOLA ZA VINOGRADNIŠTVO IN VINARSTVO

**VPLIV KISIKA IN HRASTOVIH NADOMESTKOV NA
FIZIKALNO-KEMIJSKO SESTAVO IN KAKOVOST
RDEČEGA VINA REFOŠK**

DIPLOMSKO DELO

Iztok KAVREČIČ

Mentorja: doc. dr. Andreja Vanzo, dr. Klemen Lisjak

Nova Gorica, 2014

ZAHVALA

Zahvala gre družini za potrpežljivost in podporo ob študiju.

Zahvaljujem se tudi vsem predavateljem za ponujeno znanje, nasvete in informacije ter sošolcem za lepe trenutke.

Posebna zahvala gre mentorjema doc. dr. Andreji Vanzo in dr. Klemenu Lisjaku za vso pomoč in nasvete pri izvedbi poskusa in pisanju diplomskega dela. Hvala tudi zaposlenim na Kmetijskem inštitutu Slovenije za pomoč pri analizah.

Diplomsko delo posvečam vsem, ki v vinu vidijo in iščejo nekaj več.

POVZETEK

Z raziskavo smo preučili vpliv kisika in hrastovih nadomestkov na fizikalno-kemijsko sestavo in senzorično kakovost rdeče sorte *Vitis vinifera* L. cv 'Refošk' letnika 2009. S pomočjo mikrooksigenacije in dodatka hrastovih nadomestkov smo simulirali zorenje vina v lesenem sodu, ob tem pa spremljali intenziteto in ton barve, skupne polifenole, skupne antociane, nizkomolekularne in visokomolekularne proantocianidine ter senzorično kakovost vina. Vsebnosti polifenolov v spremljanih vzorcih vina sorte 'Refošk' smo primerjali z vini sorte 'Refošk' iz vinorodnega okoliša Slovenska Istra letnika 2009.

Vpliv mikrooksigenacije in dodatka hrastovih nadomestkov se je manj odražal v razlikah v vsebnostih polifenolov in bolj v senzorični kakovosti. Mikrooksigenacija in dodatek hrastovih nadomestkov se lepo skladata s kompleksno sestavo vina sorte 'Refošk', kar se pozitivno odraža v organoleptiki.

Ključne besede: sorta grozdja 'Refošk', kisik, hrastovi nadomestki, mikrooksigenacija, polifenoli, senzorična analiza.

SUMMARY

In our experiment we wanted to study the impact of oxygen and oak substitutes on the physico-chemical composition and on the sensorial quality of the red wine of *Vitis vinifera* 'Refošk' from the vintage 2009. By adding oak substitutes and micro-oxygenation we have been simulating aging in wooden barrels and we have analyzed color intensity, hue, total polyphenols, total anthocyanins, low and high molecular weight proanthocyanidins, and evaluated sensory changes. The content of polyphenols in investigated 'Refošk' variety wines was compared to other 'Refošk' variety wines of vintage 2009 from Slovenian Istria.

The content of polyphenols in our experimental wines did not change as significantly as the sensorial quality. Both, micro-oxygenation and oak substitutes influenced positively on the complex wine structure and had a positive sensorial effect.

Keywords: grape variety 'Refošk', oxygen, oak alternatives, micro-oxygenation, polyphenols, sensory analysis.

KAZALO VSEBINE

ZAHVALA.....	III
POVZETEK.....	V
SUMMARY.....	VI
KAZALO VSEBINE.....	VII
SEZNAM TABEL.....	IX
SEZNAM SLIK.....	X
OKRAJŠAVE.....	XII
1 UVOD	1
1.1 Namen dela.....	2
1.2 Delovna hipoteza.....	2
2 TEORETIČNE OSNOVE	3
2.1 Sorta 'Refošk'	3
2.2 Fenolne spojine v vinu.....	4
2.2.1 FLAVONOIDI.....	4
2.2.2 NEFLAVONOIDI	6
2.2.3 TANINI.....	7
2.3 Mikrooksigenacija	8
2.3.1 FAZE MIKROOKSIGENACIJE.....	10
2.3.2 VPLIV MIKROOKSIGENACIJE NA BARVO VINA	11
2.3.3 VPLIV MIKROOKSIGENACIJE NA OKUS IN AROMO VINA	11
2.3.4 RAZTAPLJANJE KISIKA V FAZI ZORENJA VINA	12
2.4 Hrastovi (leseni) nadomestki – »Čips«	13
2.5 Senzorična analiza	15

2.5.1	VRSTE URADNO PRIZNANIH OCENJEVALNIH METOD.....	15
2.5.2	Vrste uradno priznanih ocenjevalnih metod so (Nemanič, 1996):	15
2.5.3	PRIMERJALNE METODE.....	15
2.5.4	Primerjalne metode so (Nemanič, 1996):	15
2.5.5	TRIANGEL TEST	15
2.5.6	100-TOČKOVNO OCENJEVANJE	16
3	EKSPERIMENTALNI DEL	17
3.1	Predelava grozdja	17
3.2	Poskus hrastovih nadomestkov in kombinacije mikrooksigenacije	20
3.3	Analizne metode.....	21
3.3.1	INDEKS POLIFENOLOV	21
3.3.2	INTENZITETA IN TON BARVE	21
3.3.3	SKUPNI ANTOCIANI.....	21
3.3.4	SKUPNI POLIFENOLI.....	22
3.3.5	NIZKOMOLEKULARNI PROANTOCIANIDINI - VANILIN INDEKS....	23
3.3.6	VISOKOMOLEKULARNI PROANTOCIANIDINI.....	24
3.3.7	FIZIKALNO-KEMIJSKE ANALIZE.....	25
3.4	Senzorične analize	27
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	28
4.1	Primerjava polifenolne sestave kontrolnega vina sorte 'Refošk' z ostalimi.	29
4.2	Rezultati poskusa.....	35
4.3	Rezultati senzoričnih analiz.....	42
5	ZAKLJUČEK.....	48
6	VIRI.....	51
7	PRILOGA	57

SEZNAM TABEL

Tabela 1: Pregled analitičnih metod in naprav, ki se uporabljajo za analize mošta in vina (Comision Regulation., 1990).....	26
Tabela 2: Osnovne fizikalno kemijske analize vina	28
Tabela 3: Analiza polifenolne sestave pred začetkom poskusa.....	29
Tabela 4: Prva degustacija po triangel testu.	42
Tabela 5: Druga degustacija po triangel testu.....	43
Tabela 6: Tretja degustacija po triangel testu.....	44
Tabela 7: Primerjava polifenolne sestave vin iz Slovenske Istre.....	57
Tabela 8: Indeks polifenolov med zorenjem poskusnih vin.....	58
Tabela 9: Intenziteta barve med zorenjem poskusnih vin.....	58
Tabela 10: Ton barve med zorenjem poskusnih vin.....	59
Tabela 11: Vsebnost skupnih polifenolov med zorenjem poskusnih vin.....	59
Tabela 12: Vsebnost skupnih antocianov med zorenjem poskusnih vin.....	60
Tabela 13: Vsebnost nizkomolekularnih proantocianidinov – vanilin indeks med zorenjem poskusnih vin	60
Tabela 14: Vsebnost visokomolekularnih proantocianidinov med zorenjem poskusnih vin	61
Tabela 15: Ocena kvalitete po 100-točkovnem ocenjevanju 11.11.2010, osem degustatorjev.....	62

SEZNAM SLIK

Slika1: Slika 'REFOŠK' (foto Kavrečič).....	3
Slika 2: Strukturna formula dimerov proantocianidinov (Vrhovšek, 2000).....	5
Slika 3 : Strukturna formula antociana v rdečem grozdju in vinu (Vanzo in Vrhovšek, 2005).....	6
Slika 4 :Slika mikrooksigenatorja JUCLAS srl - MicroDuo® (foto Kavrečič,2010).....	9
Slika 5: Primer raztapljanja kisika v vinu pri mikrooksigenaciji in navadnem pretoku med zorenjem rdečega vina (Cagnasso in sod., 2003: 33).....	9
Slika 6 : Priporočena količina dodanega kisika v vino pri različnih temperaturah (Ducournau-Laplace,1998).....	12
Slika 7 : Strukturni vpliv v odvisnosti od začetka mikrooksigenacije (Goals ..., 2001: 8).....	13
Slika 8 : Vrste hrastovih nadomestkov. A- prah(tanin)i, B-manjši čips (oblanci), C- večji čips, D-kocke, E-kubi ter F-doge ali palice (Oak Solution Group (2005-2012), Nadaliè Tonnellerie (2004-2013))	14
Slika 9 : Shema poteka poskusa.....	20
Slika 10: Graf primerjave indeksa polifenolov v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre.....	30
Slika 11: Graf primerjave intenzitete barve v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre	31
Slika 12: Graf primerjave tona barve v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre	31
Slika 13: Graf primerjave skupnih antocianov v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre..	32
Slika 14: Graf primerjave skupnih polifenolov v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre.....	33

Slika 15: Graf primerjave nizkomolekularnih proantocianidinov v vinih sorte ‘Refošk’ letnika 2009 iz Slovenske Istre	34
Slika 16: Graf primerjave visokomolekularnih proantocianidinov v vinih sorte ‘Refošk’ letnika 2009 iz Slovenske Istre... ..	34
Slika 17: Graf dinamike indeksa polifenolov med zorenjem poskusnih vin sorte	35
Slika 18: Graf dinamike intenzitete barve med zorenjem poskusnih vin sorte	36
Slika 19: Graf dinamike tona barve med zorenjem poskusnih vin sorte ‘Refošk’	37
Slika 20: Graf dinamike spreminjanja skupnih polifenolov med zorenjem poskusnih vin sorte ‘Refošk’	38
Slika 21: Graf dinamike skupnih antocianov med zorenjem poskusnih vin sorte.....	39
Slika 22: Graf dinamike nizkomolekularnih proantocianidinov med zorenjem poskusnih vin sorte ‘Refošk’	39
Slika 23: Graf dinamike visokomolekularnih proantocianidinov med zorenjem poskusnih vin sorte ‘Refošk’	40
Slika 24: Graf prikazuje povprečno oceno zaključne degustacije, ocene kvalitete po 100 –točkovnem ocenjevanju poskusnih vin sorte ‘Refošk’ . Odstopanja na grafu ponazarjajo standardni odklon od povprečja.....	45
Slika 25: Graf ocene vonja (rastlinsko-saden) po 100–točkovnem ocenjevanju poskusnih vin sorte ‘Refošk’	45
Slika 26: Graf ocene okusa (grenko-trpko) po 100–točkovnem ocenjevanju poskusnih vin sorte ‘Refošk’	46
Slika 27: Primer listka triangel testa (Kavrečič, 2010).....	63
Slika 28: Primer 100–točkovne degustacije (Kavrečič, 2010).....	64

OKRAJŠAVE

MOX = mikrooksigenacija

BARRIQUE = barrique, barriq., lesen sod 225 l

OIV = mednarodni urad za trto in vino

UIE = metoda mednarodne zveze enologov

DLG = pettočkovna metoda ocenjevanja vin

R.S.D. = relativna standardna deviacija ali relativni standardni odklon

AU = absorbanca

1 UVOD

Vino ima zelo pomembno vlogo v človeški kulturi, zgodovini in vsakdanu. Postalo je predmet mnogih razprav in preučevanj iz tehnološkega, biološko-kemijskega, senzoričnega, zdravstvenega in gastronskega vidika. Je pridelek narave, človeških rok in človeškega znanja. Zgodba z vinom se začne v vinogradu, konča v vinski kleti, od vsega pa nas najbolj zanimata končni rezultat in njegova kakovost.

Pridelava vina poteka v več fazah. Ena najpomembnejših je zorenje oziroma faza dokončnega oblikovanja. V tej fazi je potreben kisik, ki uravnava oksidoredukcijske reakcije zorenja. Ena poglobitnih nalog enologa je, da s pravilnimi tehnološkimi postopki uravnava te procese. Še zlasti rdeča vina, ki vsebujejo več fenolnih snovi, potrebujejo več kisika v fazi zorenja. Če želimo te procese pospešiti, se lahko odločimo za dovajanje manjših količin kisika, kar imenujemo mikrooksigenacija.

O vplivu kisika na zorenje in staranje vina je Louis Pasteur govoril že leta 1873. Z namenom, da bi posnemali naravno zorenje vina v lesenih sodih, so v sredini 90-ih let prejšnjega stoletja v formalno Franciji razvili postopek mikrooksigenacije. Tehnika in metodologija mikrooksigenacije sta v veliki meri zaslug Patricka Ducournau in Thierryja Lemariaea iz francoske družbe Oenodev (Parish in sod., 2000).

Zlasti mlada rdeča vina, ki so izpostavljena počasnemu dovajanju kisika v majhnih količinah, lahko pod določenimi pogoji pridobijo na kakovosti. Namen mikrooksigenacije je vplivati na preoblikovanje polimerizacijskih stopenj polifenolov, kar doprinese k manjši grenkobi in trpkosti, večji stabilnosti barve, izboljšanju arome, zmanjšajo se sulfidne in reduktivne arome, poveča pa se tudi potencial staranja vina. Da bi zagotovili ekstrakcijo lesenih komponent, lahko v vino dodamo tudi dodatke lesa v obliki prahu, oblancev ali manjših dog. S tem lahko pridelamo vina, zelo podobna tistim, ki zorijo v novih lesenih sodih.

Mikrooksigenacija žal nima enotnega recepta. Izkušnje in poznavanje vina so osnovne smernice za pravilno vodenje postopka, pri čemer lahko naletimo na težave, kajti vina se med seboj razlikujejo po sorti in tudi po letnikih. Zato izkušnje igrajo veliko vlogo pri vodenju postopka mikrooksigenacije.

1.1 Namen dela

Namen diplomskega dela je preučiti vpliv kisika v kombinaciji s hrastovimi nadomestki na fizikalno-kemijsko sestavo in senzorično kakovost rdečih vin sorte 'Refošk', ki je v Slovenski Istri ena najpomembnejših sort, saj predstavlja kar 48,9 % delež primorskih sort (Štabuc in sod., 2007).

1.2 Delovna hipoteza

S tehniko mikrooksigenacije v kombinaciji s hrastovimi nadomestki smo želeli potrditi oziroma zavreči hipotezo, da dodajanje mikro količin kisika v kombinaciji s hrastovimi nadomestili vpliva na polifenolno sestavo vina, ki se odraža v izboljšanih senzoričnih lastnostih: boljši stabilnosti in intenziteti barve vina, polnejši strukturi vina ter izboljšani celokupni kakovosti vina. Poskus je bil narejen na industrijskem nivoju in iz tega razloga imamo samo eno ponovitev. Priporočena minimalna višina jeklenih tankov za testiranje učinkov mikrooksigeniranja naj bi bila 2,5 m (du Toit, 2005).

2 TEORETIČNE OSNOVE

2.1 Sorta 'Refošk'

Sorta 'Refošk' zavzema po uradnem sortimentu Republike Slovenije v vinorodnem okolišu Slovenska Istra mesto priporočene sorte. Razširjena je tudi v vinorodnem okolišu Kras, severno-vzhodnem delu Italije in v istrskem delu Hrvaške. Po geografski razvrstitvi *Vitis vinifera* L. spada sorta 'Refošk' v črnomoško geografsko-ekološko skupino *Proles pontica*. Zaradi svojih številnih različkov, o čemer priča tudi veliko število tujih nazivov, povzroča ampelografom veliko težav. Sinonim je teranovka, tuji nazivi pa so refošk starski, teran, istrijanec, Terrano d'Istria, Refosco del Carso, Refosco d'Istria (Hrček in Korošec-Koruza, 1996), Terran noir – Francija, terran blaue – Nemčija, teran črni, istranin (Colnarič in Vrabl, 1991), Dolcetto nero – Bignone, Italija (Doberšek, 1986).



Slika 1: 'Refošk' (foto Kavrečič).

Sorta 'Refošk' je glede na dozorevanje pozna sorta. Grozdje zori v zadnji dekadi septembra (IV. zoritveno obdobje po Pulliatu), vendar se lahko zorenje zavleče do polovice oktobra (Avramov in Briza, 1988). Masa grozdja je povprečno med 150 in 250 g. Trta daje obilen in reden pridelek. Deževno in hladno jesensko vreme ji ni po godu. Skladnost z ameriškimi podlagami je dobra. Sorta 'Refošk' ima krepko in vztrajno rast ter veliko rodnost (Hrček in Korošec-Koruza, 1996). Za grozdni sok sorte 'Refošk' je značilen manjši delež sladkorja in večji delež kislin (Cindrič in sod., 2000).

2.2 Fenolne spojine v vinu

Fenolne spojine so ena najpomembnejših sestavin vina. V vinu so odgovorne za njegovo barvo in deloma tudi okus, predvsem astringenco in trpkost (Margalit, 2004). Zaradi svoje antioksidativne narave imajo v hrani pomemben vpliv na oksidativno in mikrobiološko stabilnost proizvodov in izdelkov (Wang in sod., 1997). Glavnina fenolnih snovi v vinu izvira iz grozdja, njihovo vsebnost pa lahko povečamo tako z zorenjem vina v lesenih sodih med katerim poteka ekstrakcija le-teh iz lesa ali z dodatkom v obliki enološkega sredstva (Vrhovšek, 2000). Po kemijski strukturi so fenolne spojine tiste, ki imajo najmanj en aromatski obroč, nanj pa direktno vezano eno ali več hidroksilnih (-OH) skupin. Vrhovšek (1996) in Košmerl (2011) navajata, da vezava ene ali več hidroksilnih skupin na benzenov obroč pomembno vpliva na antioksidativne lastnosti, ki so za posamezen fenol odvisne od njegove kemijske strukture. Večino fenolov najdemo v naravi zastopanih kot spojine z več aromatskimi obročmi, zato se je tudi širše uveljavilo ime polifenoli (Wang in sod., 1997). Glede na osnovno kemijsko strukturo delimo fenole v vinu v grobem na flavonoide in neflavonoide (Vrhovšek, 1996).

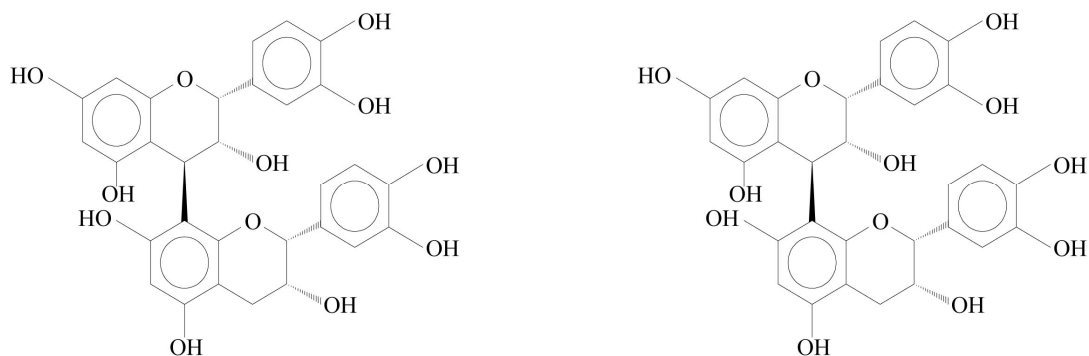
2.2.1 FLAVONOIDI

2.2.1.1 Flavan-3-oli

Najvažnejši fenoli v rdečih vinih so monomerne, oligo in polimerne oblike flavan-3-olov. Flavan-3-ol so najpomembnejši fenoli rdečih vin. Njihova visoka antioksidativna aktivnost je dokazana že dlje časa, vsebnost pa je sortno pogojena lastnost (največ jih

vsebuje sorta Cabernet sauvignon, sledi Modri pinot in Merlot). Večji del se jih nahaja v trdih delih grozdne jagode (kožici in pečkih), medtem ko je v grozdnem soku njihova vsebnost veliko manjša. S podaljševanjem maceracije se njihova vsebnost v vinu močno poveča, zato so v bistveno večjih vsebnostih prisotni v rdečih vinih, saj so ta običajno podvržena daljšim procesom maceracije v primerjavi z belimi (Vrhovšek, 1996).

Flavan-3-ole najdemo v monomerni, oligomerni in polimerni obliki. V to skupino prištevamo monomera katehin in epikatehin in njune di- (slika 2), tri-, tetra-, oligo in polimere, ki jih bolje poznamo pod imenoma proantocianidini ali kondenzirani tanini (Vrhovšek, 2000). V belih vinih se vsebnosti proantocianidinov gibljejo med 20 do 50 mg/L, vrednosti epikatehina dosegajo približno polovico manjše vrednosti. Vsebnosti flavan-3-olov se v rdečih vinih gibljejo od 120 do 3500 mg/L (Vrhovšek, 1996).

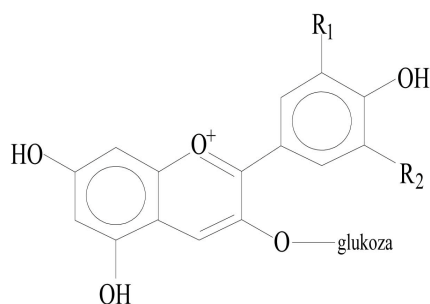


Slika 2: Strukturna formula proantocianidinov (Vrhovšek, 2000).

2.2.1.2 Antociani

Antociani so vodotopna barvila, odgovorna za rdečo barvo vina. Njihova vsebnost je sortno pogojena lastnost in se giblje od 40 mg/L pa do 1300 mg/L, tako v nekaterih sortah dosegajo enake vrednosti kot flavan-3-oli (Cabernet sauvignon), v drugih pa je njihova vsebnost precej manjša (Modri pinot). Barva antocianov je odvisna od pH vrednosti medija, tako da so antociani pri pH 3,5 obarvani rdeče (to je red velikosti pH vrednosti v vinu), z naraščajočim pH pa barva prehaja v modro-vijolično. Najbolj zastopan antocian v vinu je v veliki večini malvidin 3-glukozid, sledi mu peonidin 3-

glukozid. V manjših deležih so zastopani tudi antociani z dvema oziroma tremi prostimi -OH skupinami na B-obroču (delfinidin 3-glukozid, cianidin 3-glukozid, petunidin 3-glukozid, ki pa imajo višjo antioksidativno aktivnost, ki je pogojena s samo strukturo (Vrhovšek, 1996; Košmerl, 2011).



Slika 3: *Strukturna formula antociana v rdečem grozdju in vinu (Vanzo in Vrhovšek, 2005).*

2.2.1.3 Flavonoli

Predvsem v pecljevini in jagodni kožici najdemo najpomembnejša flavonola kvercetin-3-glukuronid in kvercetin-3-glukozid. Njihova vrednost je v belih vinih zaradi postopka vinifikacije običajno pod mejo detekcije, v rdečih vinih pa se vsebnost flavonolov giblje med 2 in 17 mg/L. Tudi vsebnost flavonolov je precej sortno pogojena lastnost (Vrhovšek, 1996; Košmerl, 2011).

2.2.2 NEFLAVONOIDI

V to skupino uvrščamo hidroksicimetne kisline, hidroksibenzojske kisline in stilbene. V grozdnem soku največji delež polifenolov predstavljajo neflavonoidi, saj se nahajajo v celičnih vakuolah in med stiskanjem prehajajo v grozdni sok (Jackson, 2000).

2.2.2.1 Hidroksicimetne kisline

Hidroksicimetne kisline (kaftarna, kutarna, fertarna, kavna, *p*-kumarna in ferulna kislina) so najpomembnejša skupina neflavonoidov v rdečih in belih vinih. Medtem ko so v rdečih vinih najpomembnejši fenoli flavonoidi, so hidroksicimetne kisline najpomembnejši fenoli belih vin (Vrhovšek, 1996), saj so najbolj zastopane v grozdnem soku.

2.2.2.2 Hidroksibenzojske kisline

Glavne proste hidroksibenzojske kisline v rdečem vinu so galna, vaniljeva in siringinska. Galna kislina in njeni estri vsebujejo tri proste -OH skupine, zaradi česar je ta kislina izredno dober antioksidant. Galna kislina je glavna hidroksibenzojska kislina. Estrahira se iz grozdnih pečk in predstavlja glavno hidroksibenzojsko kislino v rdečih vinih. Njene vsebnosti so v rdečih vinih lahko enake vsebnosti *trans*-kaftarne kisline (Vrhovšek, 1996; Košmerl, 2011).

2.2.2.3 Stilbeni

Skupino stilbenov ali skupin resveratrola sestavljajo *cis*-resveratrol, *trans*-resveratrol, ter njuna glukozida: *cis*-piceid in *trans*-piceid.

2.2.3 TANINI

Tanini so polifenolne spojine, ki imajo molekulsko maso večjo od 500 Da. Delijo se na hidrolizabilne in kondenzirane tanine. Hidrolizabilni tanini so produkt galne in elagove kisline s sladkorji (predvsem glukozo) in so poznani kot galotanini ali elagotanini. Kondenzirani tanini oziroma proantocianidini nastanejo s kondenzacijo molekul katehina ali epikatehina (Swanson, 2003).

Tanini povzročajo grenak okus in trpko zaznavo vin, poleg tega pa imajo kot antioksidanti zelo pomembno vlogo za stabilnost vina med staranjem.

Med maceracijo rdečega grozdja je značilno, da se največ barvil (antocianov) ekstrahira pred in v začetku alkoholne fermentacije. Ko je dosežena določena vsebnost alkohola, je

opazno tudi zmanjšanje vsebnosti antocianov v drozgi. V tej fazi je namreč ekstrakcija antocianov praktično končana, vendar potekajo reakcije kondenzacije antocianov s tanini. Tako nastala barvila višjih molekulskih mas so bolj stabilna in niso občutljiva na spremembe pH in SO₂. Ta značilnost je zlasti pomembna pri ohranitvi in stabilizaciji barve med staranjem, še zlasti v prvem letu, ko poteče polimerizacija večine barvil. Tanini iz jagodne kožice se ekstrahirajo hkrati z antociani. Kasneje se zaradi delovanja etanola (kot topila) ekstrahirajo tudi tanini iz pečk, kar je odvisno od časa trajanja in temperature maceracije (Lorenzo in sod., 2005).

2.3 Mikrooksigenacija

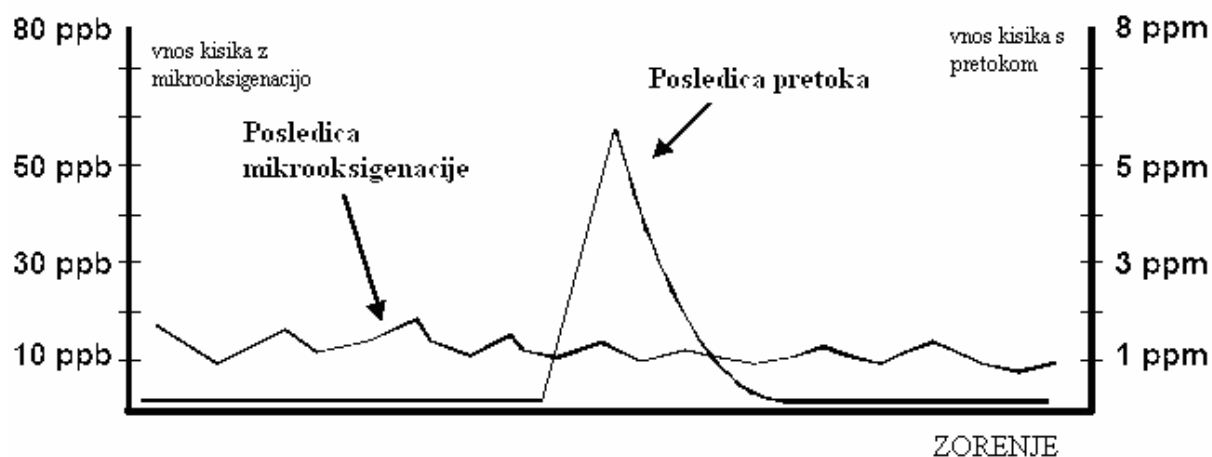
Mikrooksigenacija je postopek dovajanja majhnih količin kisika v vino pri različnih stopnjah pridelave vina. Tehnika mikrooksigenacije temelji na vnosu mikromehurčkov z uporabo keramičnega ali kovinskega mikrodifuzorja. Cano-Lopez in sodelavci (2008) ter Rayne in sodelavci (2007) navajajo, da mora biti ta difuzor z mikronsko prepustnostjo kisika postavljen na dno posode ali tanka. Mehurčki, ki uhajajo in se dvigujejo proti površju, se pri tem raztapljajo, tako da so proti površju vina vse manjši. Na sam potek procesa ima zelo pomemben vpliv tudi vsebnost plina CO₂ v vinu (vrednost naj ne bi presegala 500 mg/L) saj le ta z difuzijo prehaja v mehurčke kisika in s tem pospeši njihovo potovanje na površino, kar ima za posledico manjše raztapljanje kisika. S tem se izgubljajo arome, uvajanje kisika takoj po končani alkoholni fermentaciji, ko je vino še zelo bogato z ogljikovim dioksidom, pa ima za posledico močno penjenje (Cano-Lopez in sod., 2008).

Nameni mikrooksigenacije so izboljšanje okusa, stabilnosti in intenzitete barve, povečanje oksidativne stabilnosti in zmanjšanje reduktivnega karakterja ter vegetativnih arom. Uporablja se predvsem pri rdečih vinih, in sicer v vseh fazah pridelave vina (Rayne, 2007).



Slika 4: Slika mikrooksigenatorja JUCLAS srl - MicroDuo® (foto Kavrečič, 2010).

Faktorji, ki vplivajo na rezultat mikrooksigenacije, so naslednji: trenutek in dolžina uporabe mikrooksigenacije, količina vpihanega kisika in vsebnost fenolov v vinu. Vsa vina so svojevrstna, zato tudi mikrooksigenacija različno vpliva na različna vina. Na vina z manjšo fenolno vsebnostjo je ta učinek manjši (Cano-Lopez in sod., 2008).



Slika 5: Primer raztapljanja kisika v vinu pri mikrooksigenaciji in navadnem pretoku med zorenjem rdečega vina (Cagnasso in sod., 2003).

2.3.1 FAZE MIKROOKSIGENACIJE

Mikrooksigenacijo delimo v tri faze, in sicer so to faza strukturiranja, faza harmonizacije in faza nasičenja (Parish, 2000).

2.3.1.1 Faza strukturiranja

Za to fazo je značilno, da postanejo tanini bolj agresivni, njihova zaznava v ustih je bolj intenzivna, astringenca naraste, hkrati pa postajata manj zaznavna kompleksnost in aromatična struktura vina. V tej fazi zgleda, kot da se vino poslabšuje. Zaključek te faze nastopi tedaj, ko se ta organoleptična zaznava obrne. Čas trajanja faze strukturiranja je nekje med enim in šestimi meseci, odvisen pa je od vrste dejavnikov, kot so: začetna vsebnost fenolov, čas mikrooksigenacije, količina dodanega kisika, temperatura, vsebnosti žveplovega dioksida ter obseg prezračevanja (Parish, 2000).

2.3.1.2 Faza harmonizacije

Za fazo harmonizacije je značilno, da se tanini omehčajo, vino pa postane kompleksnejšo in daljšega pookusa. Optimalna končna točka mikrooksigenacije je dosežena, ko vino izraža svojo maksimalno kompleksnost, prožnost in taninsko mehko. Določitev te točke je zelo zahtevna, saj temelji zgolj na senzorični analizi, s katero poskušamo zaznati te subtilne spremembe v vinu. Upoštevati je treba tudi predvidene nadaljnje enološke postopke vinarja, zato je v primeru načrtovanega zorenja v sodu treba končno točko mikrooksigenacije določiti tako, da se ohrani večino reduktivnega potenciala v vinu (proces mikrooksigenacije je treba nekoliko skrajšati). Pri vinih, predvidenih za takojšnje stekleničenje, se lahko proces izpelje do optimalne končne točke (Parish, 2000).

2.3.1.3 Faza nasičenja

Pretirana oksigenacija vodi do izločanja taninov, njihovega t. i. »suhega« okusa, nepopravljive izgube svežine vina in nastanek oksidacijskih arom. Do enakega učinka pride tudi, če je količina dodanega kisika v fazi harmonizacije prevelika (Parish, 2000).

2.3.2 VPLIV MIKROOKSIGENACIJE NA BARVO VINA

Mikrooksigenacija vpliva na barvo vina. Najbolj zastopani flavonoidi v rdečem vinu so flavan 3-oli (oligomerni in polimerni tanini), sledijo pa jim antociani kot drugi najpomembnejši flavonoidi rdečih vin. Antociani in flavan 3-oli se v vinu kondenzirajo in tako nastanejo barvila višjih molekulskih mas, ki so obstojnejša kot prosti antociani. Na ta način se stabilizira barva rdečih vin (Timberlake in sod., 1976). Kondenzacija poteče direktno ali pa preko acetaldehida. Modro vijolična barva mladih vin se z vezavo antocianov spremeni v rubinasto oziroma opečnato barvo. Na splošno imajo vina z večjo skupno vsebnostjo fenolov, ki jih mikrooksigeniramo, večjo vsebnost novonastalih stabilnih barvil višjih molekulskih mas, ki se tvorijo iz vezave antocianov s proantocianidini ob prisotnosti kisika. Do hitrejšega zorenja vina tako vodi konstantna količina kisika v njem, ki jo imenujemo »kemijska starost«. Po definiciji je ta opredeljena kot razmerje med količino barvnih snovi, ki so odporne na spremembe zaradi dodajanja žvepla, in količino barvnih snovi, ki na dodatek žvepla niso odporne. Bolj kot je rdeča barva stabilna in odporna na spremembe, ki nastajajo ob dodajanju žvepla, večja je kemijska starost vina (Pour-Nikfardjam in sod., 2004).

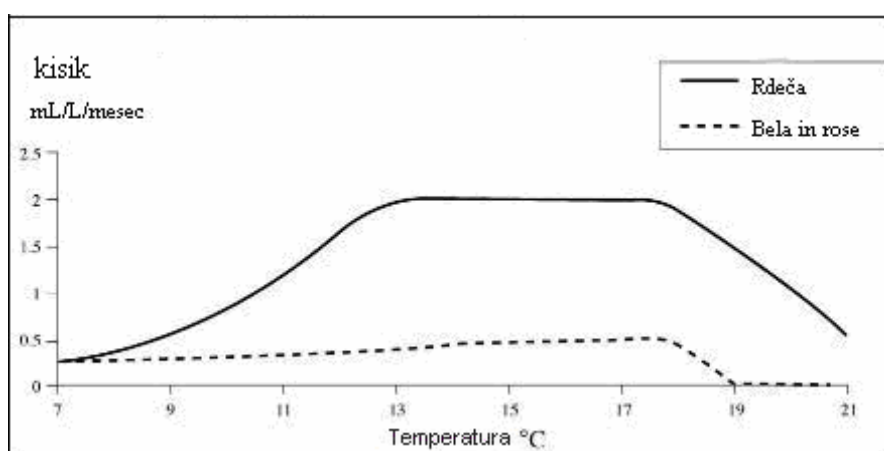
2.3.3 VPLIV MIKROOKSIGENACIJE NA OKUS IN AROMO VINA

Adicija majhnih in kontroliranih količin kisika, kot je to pri mikrooksigenaciji, omogoča razvoj sadnih arom, integrira aromo lesa, zmanjša reduktivne lastnosti (majhna in kontrolirana količina kisika oksidira neželene žveplove komponente – H_2S), prav tako pa lahko zmanjša zelene arome (predvsem pri rdečih vinih). Večja stabilnost fenolne sestave vina ima direkten učinek na aromo vina, ki bi morala biti bolj sveža in sadna (Ortega-Heras in sod., 2008).

V procesu zorenja vina se dogajajo spremembe v dolžini taninskih verig, kar lahko organoleptično opišemo kot zaznavo grenkobe in trpkosti. Značilnost krajših taninskih verig je da prispevajo k bolj grenkemu okusu, medtem ko daljše taninske verige pa kot povečana zaznava trpkosti. Slednje imajo boljši učinek v obliki antioksidacijske zaščite barve in arome, kar posledično pomeni daljšo življenjsko dobo vina (Pour-Nikfardjam in sod., 2004).

2.3.4 RAZTAPLJANJE KISIKA V FAZI ZORENJA VINA

Količina dodanega kisika je zelo pomemben parameter, saj mora biti zadostna za indukcijo reakcij polimerizacije, hkrati pa ne sme biti prevelika, saj to vodi do obarjanja polimerov z visoko molekulsko maso, porjavenja in oksidacije arom. Količino dodanega kisika izražamo v mL/L oziroma mg/L, pri čemer je pomemben podatek, da pri 20°C 1 mg kisika predstavlja 1,5 mL, pri 15°C pa 1 mg kisika predstavlja 1,47 mL (Senese, 2000).

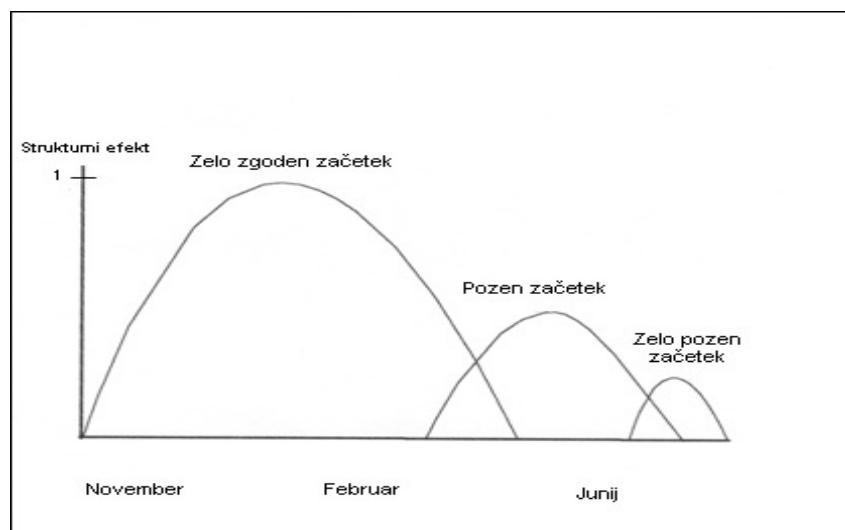


Slika 6: Priporočena količina dodanega kisika v vino pri različnih temperaturah (Ducournau-Laplace, 1998).

Pomemben parameter mikrooksigenacije je temperatura, pri kateri le ta poteka, ker ima na sam proces dvojni vpliv. Pri nižji temperaturi je zaradi topnosti plinov raztapljanje kisika večje, pri višji temperaturi pa se poveča hitrost samih reakcij. V praksi naj bi postopek mikrooksigenacije potekal pri temperaturi, ki naj ne bi bila nižja od 10°C in višja od 25°C, optimalno nekje v temperaturnem razponu med 15 in 18°C. Običajno poteka postopek mikrooksigenacije v zimskem času, ko je temperatura vina nizka, zato se pogosto pojavi nezaželeno kopičenje kisika in v tem primeru je potrebno proces prekiniti (Lesica, 2009).

Poleg postopka mikrooksigenacije je poznan tudi postopek makrooksigenacije, ki je uporaben predvsem za vina z večjo vsebnostjo fenolov, denimo prešance. Uporaben je predvsem v času pred jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo, saj se v tem obdobju pri

rdečih vinih lahko uporablja bistveno večje količine kisika (1–4 mg/L/dan) brez tveganja, da bi vino oksidiralo (du Toit, 2005). V tej fazi se lahko najbolj stabilizira barva rdečih vin, še preden se ta izloči kot oborina. Posebno pozornost ob izvajanju makrooksigenacije pred jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo je potrebno posvetiti rasti kvasovk iz rodu *Brettanomyces* in ocetnokislinskih bakterij (du Toit, 2005 in du Toit in sod., 2006).



Slika 7: Strukturni vpliv v odvisnosti od začetka mikrooksigenacije (Goals, 2001: 8).

Za definiranje potrebne količine kisika, ki jo nameravamo dodati ter dolžino samega postopka mikrooksigenacije v fazi zorenja, je ključno poznavanje kemijske sestave vina. Za dobo od enega do šestih mesecev naj bi bila optimalna količina dovedenega kisika nekje med 1 in 4 mg/L/mesec (du Toit, 2005). Vino bogatejše taninske in antocianske sestave lahko sprejme v obdobju nekaj mesecev bistveno večje količine kisika (npr. 3–4 mg/L). Ta količina kisika je reda velikosti količini, ki bi jo vino sprejelo med zorenjem v hrastovih sodih, zato je smiselno, če se hkrati s procesom mikrooksigenacije poslužujemo še uporabe hrastovih oblancev ali dog. Na letni ravni sprejme vino ob zorenju v lesenem sodu, z vsemi postopki pretakanja, čiščenja in dolivanja, nekje 30–40 mg O₂/L/leto (du Toit, 2005 in du Toit in sod., 2006).

2.4 Hrastovi (leseni) nadomestki – »Čips«

Proces zorenje vina v lesu prinese pozitivne spremembe v kemijskih in senzorični lastnosti vina. Še posebej se zmanjšata trpkost in grenkoba. Nameni zorenja v sodu so

naravno bistrenje nestabilnih koloidov, ekstrakcija polifenolov lesa, ki vplivajo na strukturo in telo vina, ekstrakcija aromatičnih spojin iz lesa, ki izboljšajo vonj in okus, ter počasna postopna oksidacija določenih spojin v vinu. Strukturne komponente lesa so celuloza, hemiceluloza in lignin. Ekstrahilne komponente hrasta pa so enostavni fenoli, elagotanini, laktoni, kumarini in še nekatere druge spojine. Elagotanini, ekstrahirani iz hrasta, so bistveno bolj reaktivni z raztopljenim kisikom v primerjavi z večino polifenolov belega ali rdečega vina (Košmerl in sod., 2011).



Slika 8: Vrste hrastovih nadomestkov: A – prah (tanini), B – manjši čips (oblanci), C – večji čips, D – kocke, E – kubi in F – doge ali palice (Oak Solution Group, 2005–2012 in Nadalie Tonnellerie, 2004–2013).

Na kvaliteto lesa vplivajo izvor lesa, sušenje, skladiščenje, temperatura obdelave, vlažnost in poroznost. Na interakcijo med vinom in lesom pa vplivajo razmerje vino/površina, karakteristika vina, vrsta lesa (botanično in pedoklimatsko poreklo), tehnika obdelave lesa, čas kontakta z vinom in temperatura.

Pri nastanku oziroma oblikovanju lesenih sodov ogromno materiala ostaja. Ti fragmenti lesa se uporabijo pri izdelavi hrastovih nadomestkov (čipsov). Ostankom, manjšim od 3 mm, pravimo prah, nato pa poznamo še fino zrnate čipse (3–10 mm x 0,5–1 mm) in grobo-zrnate dejansko narezane čipse (5–10 mm x 3–30 mm). Sledijo jim še kocke,

večji kosti pa se imenujejo doge (Košmerl in sod., 2011). V zadnjem času se dobijo na tržišču še tanini v tekoči obliki (<http://wineindustrynetwork.com>).

2.5 Senzorična analiza

Senzorična analiza je definirana kot znanstvena disciplina, ki meri, analizira in interpretira reakcije na tiste značilnosti živil, ki jih zaznamo s petimi osnovnimi čuti: z vidom, okusom, vohom, sluhom in tipom oz. dotikom (Stone in Sidel, 1993).

2.5.1 VRSTE URADNO PRIZNANIH OCENJEVALNIH METOD

2.5.2 Vrste uradno priznanih ocenjevalnih metod so (Nemanič, 1996):

- Buxbaumova 20-točkovna metoda, ki smo jo v Sloveniji sprejeli kot uradno;
- Vedelova metoda negativnih točk, ki jo je mednarodni urad za trto in vino v Parizu (OIV) sprejel kot najbolj verodostojno za mednarodna ocenjevanja;
- metoda mednarodne zveze enologov (UIE) je 100-točkovna metoda, ki jo od 14. junija 1994 tudi OIV dopušča za mednarodna ocenjevanja vin;
- nemška DLG 5-točkovna metoda.

2.5.3 PRIMERJALNE METODE

2.5.4 Primerjalne metode so (Nemanič, 1996):

- Duo test;
- Triangel test;
- Duo-trio test.

2.5.5 TRIANGEL TEST

Preizkus triangel je metoda razlikovanja, ki obsega istočasno predstavitev treh kodiranih vzorcev, od katerih sta dva enaka. Preizkuševalec mora izbrati vzorec, ki ga zazna kot

drugačnega. Običajno odgovarja na vprašanje, kateri vzorec se razlikuje od ostalih dveh. Preizkus triangel se priporoča za določanje majhnih razlik med vzorci, ko je na razpolago omejeno število preizkuševalcev, in pri izbiranju in šolanju preizkuševalcev. Ne moremo ga uporabljati za ugotavljanje sprejemljivosti izdelka ali dajanje prednosti enem izmed dveh izdelkov. Pri izvedbi preizkusa triangel imamo za vsak par vzorcev (A in B) šest možnih kombinacij, in sicer: AAB, ABA, BAA, BBA, BAB in ABB. Ob predpostavki, da izdelkov ni mogoče razlikovati, je verjetnost, da bomo pravilno določili izdelek, ki se razlikuje od ostalih dveh, enaka 0,33 ($P_0 = 1/3$). Rezultate ovrednotimo s pomočjo tabel (ISO 4120, 1983 in Golob in sod., 2005).

V okviru diplomskega dela smo trikrat opravili triangel test. Vse vzorce vina smo primerjali med seboj.

2.5.6 100-TOČKOVNO OCENJEVANJE

Na generalni skupščini OIV 14. junija 1994 je bila ta metoda sprejeta kot dovoljena metoda UIE (Union international des oenologues). Med metodama OIV in UIE je bistvena razlika v načinu točkovanja. Metoda OIV z negativnimi točkami kaznuje odmik od idealne kakovosti vina, metoda UIE pa s pozitivnimi točkami nagraduje kakovostno vino. Degustatorski obrazec, ki ga za vsako vino izpolni degustator zelo podrobno, vodi ocenjevalca, da oceni organoleptične značilnosti vina. Pri vsakem mirnem vinu oceni 14 elementov, pri penečih vinih pa 15. Za vsak element je mogoče, glede na kategorijo vina, obkrožiti od 6 do 8 ocen. Največje možno skupno število točk je 100. Na ocenjevalnem listku so tudi okenca za opozorila za vinske napake in bolezni, ki so lastniku v pomoč pri reševanju vina ali izboljšanju tehnološkega postopka. V rubriki komentar je zaželen opis ocenjenega vina v pozitivni ali negativni verziji. Regionalna značilnost vina (tipičnost), do katere lahko pridemo po tej metodi, ni element ocenjevanja na mednarodni ravni, ker je vino predstavljeno brez referenc o sorti in poreklu. Nasprotno, če je znanih več podatkov o vinu (poreklo, sorta, tehnološki postopek), kot je običajno na regionalnih ocenjevanjih, se ocenjujejo tipičnost in vse naslednje zaznave: videz, vonj, okus, napake, vzroki napak in bolezni (Nemanič, 1996).

3 EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 Predelava grozdja

V diplomski nalogi smo uporabili vino sorte 'Refošk' iz vinorodne dežele Primorska, natančneje iz vinorodnega okoliša Slovenska Istra. Za poskus smo izbrali mlado vino letnik 2009 iz Vinske kleti Kavrečič. Vinograd leži na severni strani Miljskega hriba. Trsi so bili posajeni leta 1998, orientacija vrst pa poteka v smeri sever – jug. Tla so lapornata z rahlim naklonom. Gojitvena oblika je enojni Guyot, medtrsna razdalja je 90 cm, višina trsov je 80 cm, medvrstna razdalja pa znaša 180 cm.

Dne 21. 9. 2009 je napočil čas trgatve na omenjeni legi. Sladkorna stopnja je bila povprečno 91 °Oe. Grozdje je bilo obrano ročno v plastične gajbice in nato odpeljano v klet, kjer smo ga specljali ter zdrozgali v dva vinifikatorja po 100 hl, kjer je bilo kasneje macerirano osem dni in hlajeno na 25 °C. Dodali smo kvasni nastavek GrandCru, in sicer 30 g/hl selekcioniranih kvasovk za staranje rdečih vin proizvajalca AEB (Brescia, Italija). Encimov za hitrejše izluževanje barve zaradi daljše maceracije nismo dodali. Uporabljena hrana za kvasovke je Fermaid E proizvajalca Lallemend.

Kronološki pregled poteka vinifikacije:

- 21. 9. 2009: trgatev, pecljanje, kvasni nastavek, hrana za kvasovke (10 g/hl);
- 25. 9. 2009: dodatek druge hrane za kvasovke (15 g/hl);
- 30. 9. 2009: stiskanje v pnevmatski stiskalnici; mošt smo pretočili v 100 ha tank, kjer je fermentiralo do konca; s pomočjo dodatka mlečnokislinskih bakterij smo opravili tudi biološki razkis;
- 26. 10. 2009: smo naredili pred-poskus; vino smo razdelili v 19 jeklenih sodčkov po 25 L, v katerega smo dali 0,5 g/L ter 1 g/L različnih čipsov (hrastovih nadomestkov);
- 8. 12. 2009: smo po 42 dneh senzorično ocenili vzorce iz 19 sodčkov in izbrali hrastov nadomestek senzorično najbolj ocenjenega vina, ki smo ga kasneje uporabili v poskusu, in sicer 'Bois Frais' proizvajalca Seguin Moreau;

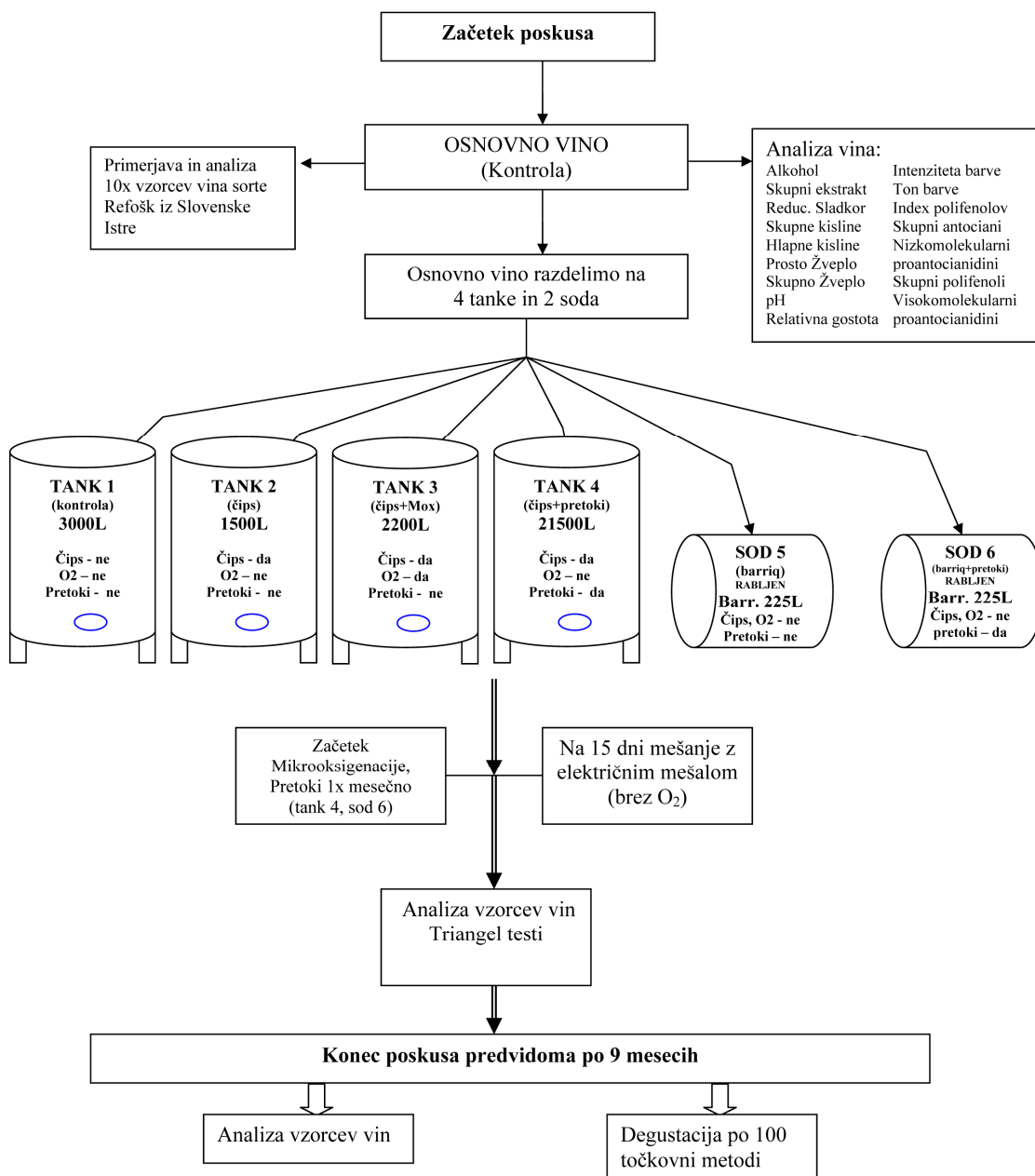
- 5. 1.-15. 1. 2010: Analize primerjave kontrolnega vzorca vina sorte 'Refošk' z vini sorte 'Refošk' ostalih proizvajalcev istega letnika iz vinorodnega okoliša Slovenska Istra.
- 23. 2. 2010: začetek analiz vzorcev poskusa; začeli smo s prvimi analizami osnovnih fizikalno-kemijskih parametrov in polifenolnega profila na Kmetijskem inštitutu Slovenije (intenziteta, ton barve, skupni antociani, skupni polifenoli, nizko in visokomolekularni proantocianidini, žveplo, skupne kisline, pH vrednost, alkohol);
- 23. 2. 2010: vino smo razdelili v 4 tanke in 2 soda;
- SO₂ je bil v času poskusa trikrat izmerjen in po potrebi je bilo vino dožveplano na 30 mg/L prostega SO₂;
- vina so bila v obdobju poskusa vsakih 15 dni premešana z električnim mešalom brez prisotnosti kisika;
- v obdobju poskusa smo v vinih trikrat analizirali polifenolno sestavo, in sicer 23. 2. 2010, 14. 4. 2010 ter 21. 10. 2010, ko smo opravili končno analizo;
- trikrat smo izvedli triangel test, in sicer 10. 5. 2010, 21. 7. 2010 in 20. 10. 2010;
- na koncu smo izvedli še senzorično analizo po 100-točkovni metodi (11. 11. 2010) in zaključili s poskusom.

Opis tretiranj:

- KONTROLA: Tank 1, 3000 L, v katerega ni dodan čips, mikrooksigenacija ni izvajana in tudi zračni pretoki niso izvedeni;
- ČIPS: Tank 2, 1500 L, v katerega je dodano 0,8 g/L čipsa, mikrooksigenacija ni izvajana in zračni pretoki niso izvedeni;
- ČIPS + MOX: Tank 3, 2200 L, v katerega je dodano 0,8 g/L čipsa, mikrooksigenacija je izvajana (prvih 60 dni 2 ml/l/mesec, kasneje pa 1 ml/l/mesec do konca poskusa), zračni pretoki pa niso izvedeni;

- ČIPS + PRETOKI: Tank 4, 1500 L, v katerega je dodano 0,8 g/L čipsa, mikrooksigenacija ni izvajana, zračni pretoki pa so izvedeni enkrat mesečno;
- BARRIQUE: Sod 5, 225 L, rabljen, v katerega ni dodan čips, dodatna mikrooksigenacija ni izvajana in zračni pretoki niso izvedeni;
- BARRIQUE + PRETOKI: Sod 6, 225 L, rabljen, v katerega ni dodan čips, dodatna mikrooksigenacija ni izvajana, zračni pretoki pa so izvedeni enkrat mesečno.

3.2 Poskus hrastovih nadomestkov in kombinacije mikrooksigenacije



Slika 9: Shema poteka poskusa.

3.3 Analizne metode

3.3.1 INDEKS POLIFENOLOV

Indeks skupnih polifenolov (OD 280) smo določili po metodi, opisani v Sommersu (1971). Vzorec smo 100-krat razredčili in izmerili absorbanco v 10 mm kvarčni kiveti pri 280 nm. Rezultat smo pomnožili s faktorjem redčenja in podali brez enot. Relativna standardna deviacija (R.S.D.) metode je bila 3,30 %.

3.3.2 INTENZITETA IN TON BARVE

Intenziteta in ton barve sta bila merjena s pomočjo 0,1 cm kvarčne kivete pri valovnih dolžinah 420, 520 in 620 nm. Intenziteta je bila določena kot seštevek vseh treh absorbank, pomnoženih z 10. R.S.D. metode je bila 0,68 %. Ton barve vina je bil preračunan kot kvocient absorbance, izmerjene pri 420 in 520 nm, ki nakazuje prehod barve rdečih vin k oranžnim tonom, ki jih v praksi povezujemo z oksidirano oziroma zrelejšo barvno noto. R.S.D. metode je bila 0,42 %. Mlada vina imajo ton barve v območju od 0,2 do 0,3, starejša vina pa v območju od 1,2 do 1,4, vendar so številke odvisne tudi od posamezne sorte (Sternad Lemut in sod., 2010).

3.3.3 SKUPNI ANTOCIANI

V rdečem vinu jih določamo na osnovi maksimalne absorbance v vidnem območju med 536 in 542 nm.

Vzorec vina razredčimo v 0,5 M H_2SO_4 (5–20-krat; izmerjena absorbanca vzorca mora biti v območju med 0,3 in 0,6). SEP-PAK kolono (Waters, C 18 Cartridges)* aktiviramo tako, da jo speremo najprej z 2 ml metanola in nato še s 5 ml 5 mM H_2SO_4 . Na aktivirano kolono naneseemo 5 ml razredčenega vzorca in ga počasi potiskamo z brizgalko skozi kolono. Kolono nato (ravno tako počasi) speremo še z 2 ml 5 mM H_2SO_4 . Antociane iz kolone eluiramo v 20 mililitrsko kalibrirano bučko s 3 ml metanola, dodamo približno 0,1 ml koncentrirane HCl (3 kapljice) in do meniskusa napolnimo z raztopino etanola, vode in HCl v razmerju 70 : 30 : 1. Izmerimo

absorbanco proti slepemu vzorcu (raztopini etanola, vode in HCl v razmerju 70 : 30 : 1) in direktno iz absorbance izračunamo količino skupnih antocianov.

*SEP-PAK C 18 (Waters, Milford, MA, 0,5 g) kolone so namenjene ekstrakciji s pomočjo trdne faze (solid-phase extraction) in jih uporabljamo za pripravo vzorca. Z njimi odstranimo organske kisline, ostanke sladkorja, proteine, aminokisline, prosti SO₂ in druge hidrofilne komponente, ki bi lahko vplivale na rezultat. Poleg tega damo fenolne spojine iz vodnega v metanolni medij pred analizo. Polarne komponente spiramo pri nizkem pH zaradi kislih in bolj polarnih fenolnih spojin, kot je npr. galna kislina.

$$\text{Skupni antociani (mg/L)} = A * 26,6 * R * 4$$

A = absorbanca pri absorpcijskem maksimumu

R = razredčitev vzorca

Vsebnost antociani v vinu je izražena kot povprečna absorbanca zmesi antocianov (povprečna molekulska masa je 500), ekstrahiranih iz grozdja sorte Cabernet sauvignon s predpostavko, da je povprečen molekularni ekstinkcijski koeficient zmesi enak 18800 M⁻¹cm⁻¹ (Glories, 1984, di Stefano in sod., 1989b). Ta numerična vrednost se lahko pretvori v druge pogoste enote s pomočjo absorbance standarda, ki ga imamo (eksperimentalne vrednosti v raztopini etanol-voda-HCl 70 : 30 : 1 = 32200, 540 nm za malvidin-3,5-diglukozid klorid = 30100, 542 nm za malvidin-3-monoglukozid klorid = 22940, 530 nm za peonidin-3- monoglukozid klorid = 22940, 530 nm. R.S.D. metode je bila 1,39 %) (di Stefano in sod., 1989b; Rigo in sod., 2000).

3.3.4 SKUPNI POLIFENOLI

Polifenole določamo z redukcijo kislin oziroma oksidacijo fenolov (Folin-Ciocalteu reagent, Folin in Denis, 1912) v modre pigmente, ki jih tvorijo fenolne spojine v alkalnem mediju (Di Stefano in Guidoni, 1989a). Vino razredčimo z 0,5 M H₂SO₄. Rdeče vino navadno razredčimo 10–20-krat (odvisno od sorte). Izmerjena absorbanca mora biti v območju med 0,3 in 0,6. Vzorec previdno z brizgalko nanašamo na kolono, da ga ne izgubljamo (zaradi majhne razredčitve je prisotnega še veliko etanola, ki nam

lahko izpere posebej tiste polifenolne spojine, ki so bolj polarne in se manj močno vežejo na kolono – npr. galna kislina). 1 ml razredčenega vzorca nato počasi spuščamo skozi že aktivirano (2 ml metanola, 5 ml 5 mM H₂SO₄) SEP-PAK kolono. Polarne spojine speremo iz kolone z 2 ml 5 mM H₂SO₄. Fenolne spojine eluiramo v 20 ml kalibrirano bučko z 2 ml metanola in 5 ml destilirane vode. Dodamo 1 ml Folin-Ciocalteu (Merck) reagenta ter po 3–4 minutah še 4 ml 10 % vodne raztopine Na₂CO₃ (v alkalnem mediju se fenolne spojine modro obarvajo). Takoj, ko dodamo Na₂CO₃, dopolnimo bučko do meniskusa z destilirano vodo, da se vzorec ne zmotni. Po 90 minutah vzorec in slepi vzorec filtriramo skozi 0,45 µm filter (Sartorius, cellulose nitrate filter) in nato izmerimo absorbanco proti slepemu vzorcu pri 700 nm v kiveti z 10 mm optično potjo. Slepí vzorec je pripravljen enako, le da je namesto vzorca vzeta destilirana voda. R.S.D. metode je bila 2,45 % (Di Stefano in sod., 1989a; Rigo in sod., 2000).

$$\text{Skupni polifenoli (mg/L (+) katehina)} = 186,5 * A * R/V$$

$$\text{Skupni polifenoli (mg/L galne kisline)} = 196,8 * A * R/V$$

A = izmerjena absorbanca pri 700 nm

R = razredčitev vzorca

V = volumen razredčenega vzorca, nanesen na kolono (1 ml)*

*Če nanašamo več vzorca na kolono, izgubljamó nekatere fenolne snovi in tako dobimo nižje rezultate.

3.3.5 NIZKOMOLEKULARNI PROANTOCIANIDINI – VANILIN INDEKS

Nizkomolekularni katehini in proantocianidini reaktivni na vanilin se določajo po optimizirani vanilin-HCl metodi (Broadhurst in Jones, 1978), ki je bila izpopolnjena (Di Stefano in sod., 1989b). Rdeče vino 2–10-krat razredčimo z 0,5 M H₂SO₄, da je izmerjena absorbanca v območju med 0,2 in 0,4. Na aktivirano SEP-PAK kolono

(aktivacija s 5 ml metanola in 2 ml 5 mM H₂SO₄) nanese 2 ml razredčenega vzorca. Kolono nato speremo z 2 ml 5 mM H₂SO₄. Nizkomolekularne proantocianidine nato eluiramo s 5 ml metanola v epruveto, ki jo takoj zamašimo s parafilmom, da vsebina ne hlapi. 1 ml metanolne raztopine vzorca damo v bučko (50 ml posoda, ovita v alu folijo), kjer imamo 6 ml čistega metanola (slepi vzorec), in 1 ml v bučko, kjer imamo 4 % metanolno raztopino vanilina (vzorec). Pazljivo dodamo 3,0 ml koncentriranega HCl (najprej slepemu vzorcu in nato vzorcu v vsaj enominutnem razmiku, da ju lahko izmerimo enega za drugim) in takoj damo bučko v termostat na 20 °C. Točno 15 minut po dodatku kisline merimo absorbanco roza kompleksa pri 500 nm v kiveti z 10 mm optično potjo proti slepemu vzorcu, pripravljenem na popolnoma enak način, le brez vanilina.

Koncentracijo izračunamo kot (+) katehin v mg/L iz povprečne kalibracijske krivulje. R.S.D. metode je bila 3, 54 % (Di Stefano in sod., 1989b; Rigo in sod., 2000).

$$\text{Vanilin indeks (mg/L (+) katehina)} = A * 290,8 * R$$

A = absorbanca, izmerjena pri valovni dolžini 500 nm

R = razredčitev vzorca

3.3.6 VISOKOMOLEKULARNI PROANTOCIANIDINI

Visokomolekularni proantocianidini so izraženi preko transformacije v cianidin (Di Stefano in sod., 1989b). Metoda je bila razvita iz metode, ki sta jo razvila Swain in Hillis leta 1959, kjer se je delalo z nakisanim butanolom. Metodo so optimizirali z dodatkom železovih soli kot katalizatorjem, ki poveča ponovljivost metode in izkoristek pretvorbe v cianidin, ter z zamenjavo topila (strupenega n-butanola z etanolom). Vzorec vina razredčimo (navadno 10–20-krat) s 5 mM H₂SO₄. 2 ml razredčenega vzorca počasi nanašamo na aktivirano SEP-PAK kolono (aktivacija s 5 ml metanola in 2 ml 5 mM H₂SO₄). Kolono speremo s 5 mM H₂SO₄. Proantocianidine eluiramo iz kolone s 3 ml metanola v 50 ml bučke z brušenim zamaškom. V te bučke, ki jih zaradi zaščite pred svetlobo ovijemo z alu folijo, predhodno damo 9,5 ml absolutnega etanola. V bučko (9,5 ml etanola in 3 ml eluata iz kolone) dodamo 2,5 ml FeSO₄ * 7H₂O (300 mg/L v

koncentrirano HCl). To grejemo na 100 °C 50 minut na povratnem hladilniku. Po 50 minutah gretja ohladimo na 20 °C v vodni kopeli, kjer pustimo vzorce 10 minut in nato merimo absorbanco vzorca skozi kiveto z 10 mm optično potjo. Posnamemo celoten spekter od 380 do 700 nm in iz njega izračunamo absorbanco vzorca. Potegnemo tangento skozi minimum spektra in nato pravokotnico (ne pravokotnico na tangento) skozi maksimum (okrog 550 nm). Iz razmerij med celotno zajeto absorbanco in dolžino pravokotnice med maksimumom ter presekom s tangento in dolžino od nič do tja, kjer smo vzeli maksimalno absorbanco, izračunamo realno absorbanco vzorca.

Naravne antociane, prisotne v vzorcu, moramo odšteti. Odštejemo jih tako, da pripravimo iste vzorce še enkrat na enak način, vendar jih damo na 0 °C, namesto da jih kuhamo. Tako izmerjeno absorbanco nato odštejemo od prejšnje.

$$\text{Proantocianidini (mg/L cianidina)} = (A_{\text{vroče}} - A_{\text{hladno}}) * 1162,5 * R/V$$

$A_{\text{vroče}}$ = absorbanca, izmerjena po 50 minutah vrenja vzorca pod povratnim hladilnikom

A_{hladno} = absorbanca vzorca, ki je bil 50 min na ledu

R = razredčitev vzorca

V = volumen razredčenega vzorca, ki smo ga nanegli na kolono SEP-PAK (2 ml rdečega vina; 6 ml belega vina)

Pri belih vinih in pripravljenih ekstraktih pečk (v katerih ravno tako določamo polimerne tanine) ne delamo hladne reakcije, ker ne vsebujejo antocianinov. Vzorce pripravimo na enak način in jih 50 minut prekuhavamo pod povratnim hladilnikom.

$$\text{Proantocianidini (mg/L cianidina)} = A_{\text{vroče}} * 1162,5 * R/V$$

V takšnih pogojih je povprečen izkoristek metode ocenjen na 20 % (Di Stefano in sod., 1989b). Vsebnost proantocianidinov v vzorcu (mg/L) je nato izračunana kot petkratna količina formiranega cianidina (pri povprečni kalibracijski krivulji s cianidin kloridom, ki je 34,700). R.S.D. metode je 2,74 % (Di Stefano in sod., 1989b; Rigo in sod., 2000).

3.3.7 FIZIKALNO-KEMIJSKE ANALIZE

Analize vključujejo pH, skupne kisline, alkohol, ostanke sladkorja, hlapne kisline, skupni ekstrakt ter prost in skupni SO₂. Različne metode so bile uporabljene v različnih

laboratorijih. Standardna analiza vina, pridelanega v Sloveniji, je bila izdelana v skladu z Uradnim listom Evropske skupnosti. Uredba Komisije ECC metode za vino je bila vzpostavljena in akreditirana na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

Tabela 1: Pregled analitičnih metod in naprav, ki se uporabljajo za analize mošta in vina (Comision Regulation, 1990).

Parameter	Analitična metoda	Naprave	Reference
Relativna gostota	Merjenje gostote pri 20 °C	Resonančna U-cev	EGS, št. 55/2005
Alkohol	Destilacija in meritev gostote	Resonančna U-cev	EGS, št. 355/2005
Žveplov dioksid	Direktna jodometrična titracija	/	EGS, št. 2676/90
Reducirajoči sladkorji	Iodometrija	/	EGS, št. 2676/90
pH	Potenciometrična	Mettler Toledo DL 53	ECC, št. 2676/90
Skupne kisline	Potenciometrična	Mettler Toledo DL 53	ECC, št. 2676/90
Hlapne kisline	Destilacija in titracija	Oenoextracteur Chenard (APA 107)	ECC, št. 2676/90
Skupni ekstrakt	Izračun iz gostote	/	ECC, št. 2676/90
Suha snov	Refraktometrična	Refraktometer	ECC, št. 2676/90

3.4 Senzorične analize

V okviru diplomskega dela smo trikrat opravili triangel test in zaključno ocenitev po 100-točkovni metodi.

Vsa vina smo primerjali med seboj po različnih zaporedjih. Na treh degustacijah triangel testov (10. 5. 2010, 21. 7. 2010 in 20. 10. 2010) je sodelovalo po sedem degustatorjev. Degustacije so potekale na Univerzi v Novi Gorici. Panel degustatorjev iz Visoke Šole za Vinogradništvo in Vinarstvo na Univerzi v Novi Gorici je bil sestavljen iz študentov, ki so imeli izkušnje in opravljene ustrezne izpite ter dodatna izobraževanja iz področja degustacije vina. Na začetku vsake degustacije smo izvedli t. i. kalibracijo na osnovni vzorec. V tem delu je šlo za potrošniško degustacijo, katere namen je bil ugotoviti razlike med posameznimi vzorci..

Pri triangel testu smo statistično razliko podali pri 5 % stopnji tveganja po BS ISO 4120:2004 (Sensory analysis – Methodology – Triangle test). Kombinacije smo izbrali naključno.

Degustacija po 100-točkovni metodi je potekala na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Številčno oceno in zaključno oceno je podala komisija osmih izšolanih degustatorjev. Po 100-točkovni metodi ocenjevanja smo na koncu poskusa skupno ocenili vina. Pri ocenjevanju je sodelovalo osem degustatorjev. Dodatno smo še ocenili vonj in okus z ocenami od ena do pet, kjer je ena najmanj in pet največ. Pri vonju smo izpostavili rastlinsko in sadno lastnost, pri okusu pa grenkobo in trpkost.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Tabela 2: Osnovne fizikalno-kemijske analize vina.

Kemijska analiza vina – KONTROLA		
PARAMETER	Rezultat	Enote
Dejanski alkohol	12,86	Vol %
Skupni ekstrakt	30,9	g/L
Reducirajoči sladkor	1,9	g/L
Skupne kisline	6,2	g/L
Hlapne kisline	0,55	g/L
Prosto žveplo	19	mg/L
Skupno žveplo	56	mg/L
pH vrednost	3,45	
Relativna gostota	0,99517	

Glede na pH vrednost in skupne kisline sklepamo, da je biološki razkis že potekel.

Tabela 3: Analiza polifenolne sestave pred začetkom poskusa.

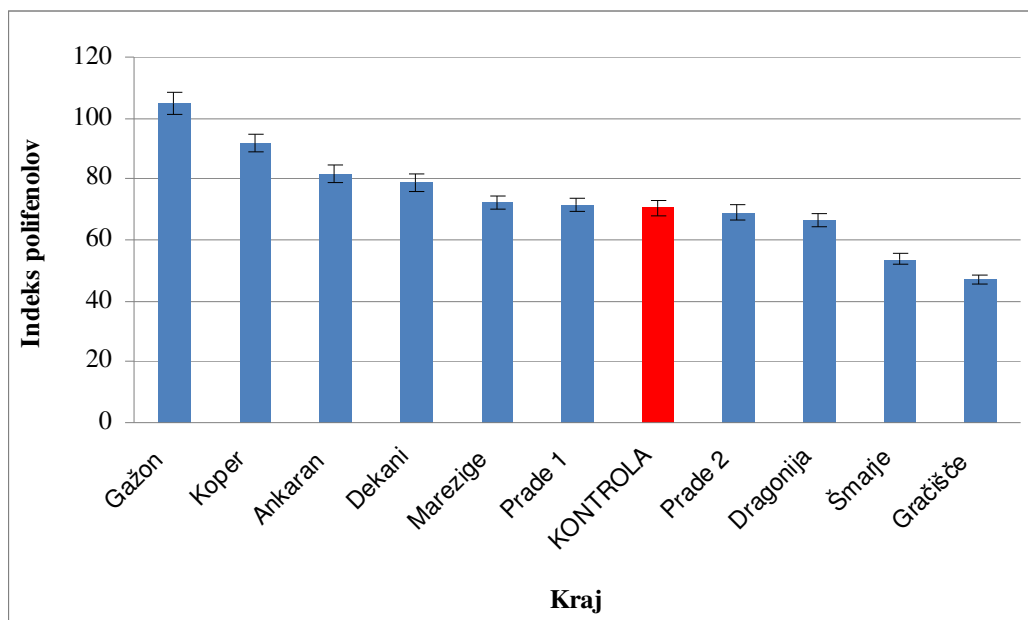
Vzorec KONTROLA			
PRAMETER		Rezultat	Enote
Intenziteta		27,86	Absorbanca [AU]
Ton		0,47	
Indeks polifenolov		70,56	
Skupni antociani		1177	mg/L
Nizkomolekularni proantocianidini		757	mg/L – (+) katehin
Skupni polifenoli		1833	mg/L – (+) katehin
Visokomolekularni proantocianidini		1936	mg/L – cianidin

4.1 Primerjava polifenolne sestave kontrolnega vina sorte 'Refošk' z ostalimi vzorci vin sorte 'Refošk' iz Slovenske Istre

V okviru diplomskega dela smo primerjali polifenolno sestavo našega kontrolnega vina sorte 'Refošk' z drugimi vini sorte 'Refošk' istega letnika iz istega vinorodnega okoliša. S primerjavo obravnavanega vzorca z ostalimi smo dokazali, da je ta vzorec po polifenolni sestavi primerljiv z vini 'Refošk' ostalih proizvajalcev. Iz podatkov je razvidno, da ima naše kontrolno vino ustrezen polifenolni potencial in predstavlja primeren vzorec za naš poskus. V prilogi je za vsak graf posebej izdelana tabela, ki vsebuje dejanske vrednosti.

Na sliki 10 so predstavljeni vzorci vin sorte 'Refošk' iz Slovenske Istre. Merili smo indeks polifenolov (AU). Med 11 vzorci je KAVREČIČ na sedmem mestu po lestvici

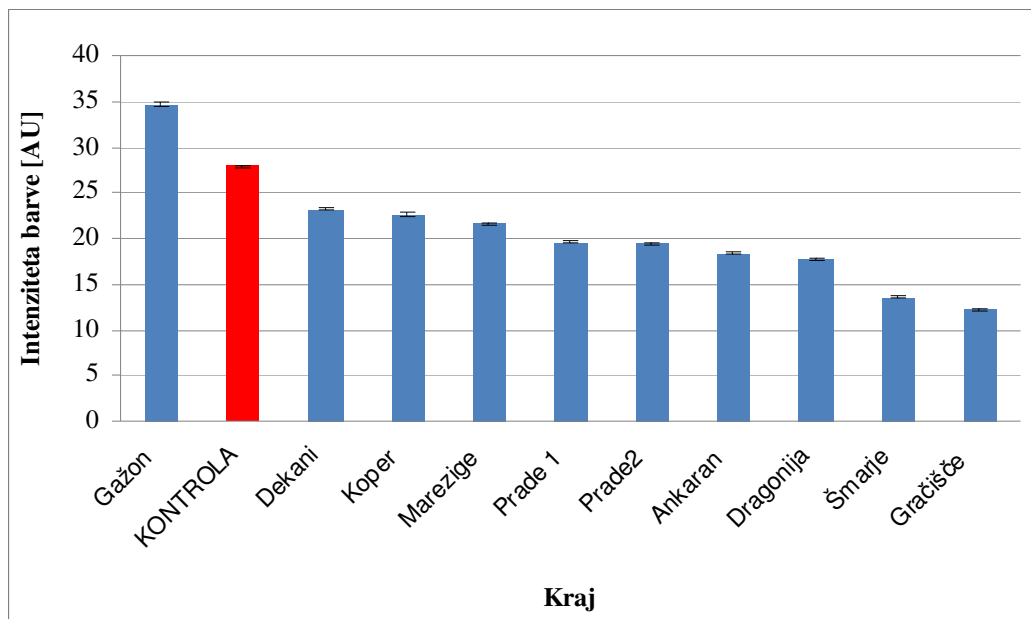
od največ do najmanj. To je vzorec KONTROLA, ki predstavlja poskusni vzorec brez tretiranja. Na prvem mestu je vzorec iz Gažona, zadnji pa je vzorec iz Gračišča.



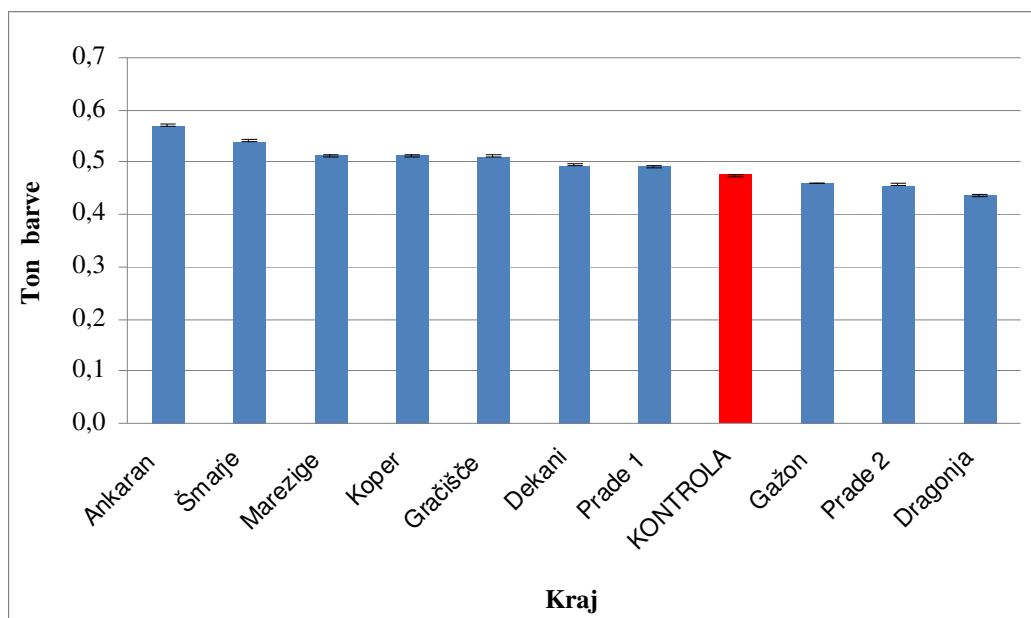
Slika 10: Graf primerjave indeksa polifenolov v vinih sorte ‘Refošk’ letnika 2009 iz Slovenske Istre (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja indeksa polifenolov).

Na sliki 11 so predstavljeni rezultati intenzitete barve vzorcev vin sorte ‘Refošk’ iz Slovenske Istre. Med 11 vzorci je vzorec KAVREČIČ – KONTROLA na drugem mestu po lestvici od največ do najmanj. Vzorec KONTROLA predstavlja poskusni vzorec na začetku tretiranja. Vzorec ima ustrezno intenziteto barve glede na ostale vzorce vina sorte ‘Refošk’. Na prvem mestu je vzorec iz Gažona, zadnji pa je vzorec iz Gračišča.

Na sliki 12 so predstavljeni vzorci vin sorte ‘Refošk’ iz Slovenske Istre. Analizirali smo ton barve. Med 11 vzorci je vzorec KAVREČIČ – KONTROLA na osmem mestu po lestvici od največ do najmanj. Vzorec predstavlja poskusni vzorec brez tretiranja. Med vzorci ni velike razlike, tako da so si vzorci po tonu barve zelo podobni. Na prvem mestu je vzorec iz Ankarana, zadnji pa je vzorec iz Dragonje.

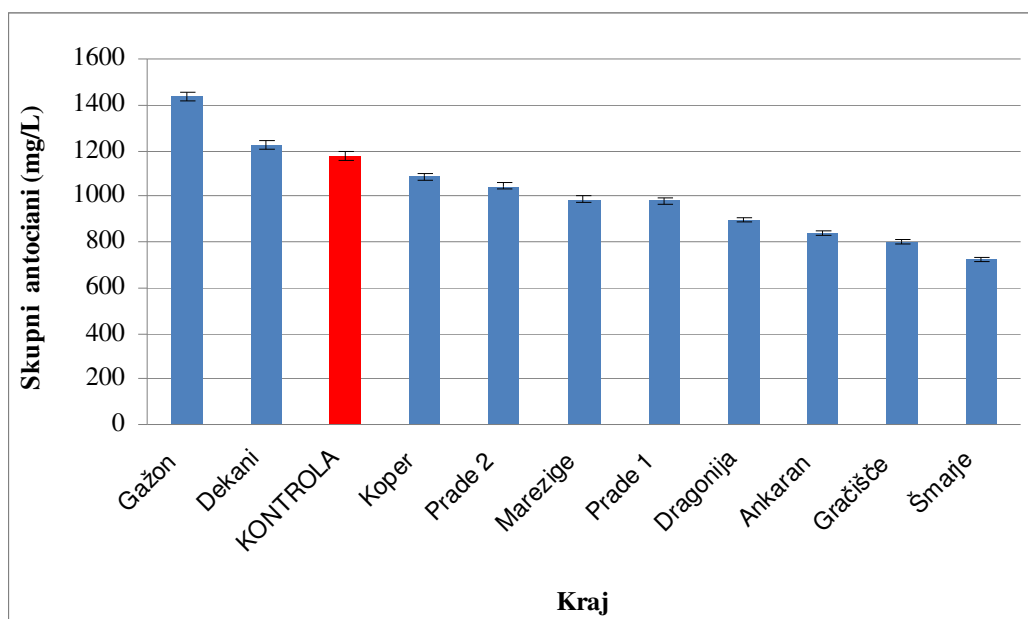


Slika 11: Graf primerjave intenzitete barve v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja intenzitete barve).



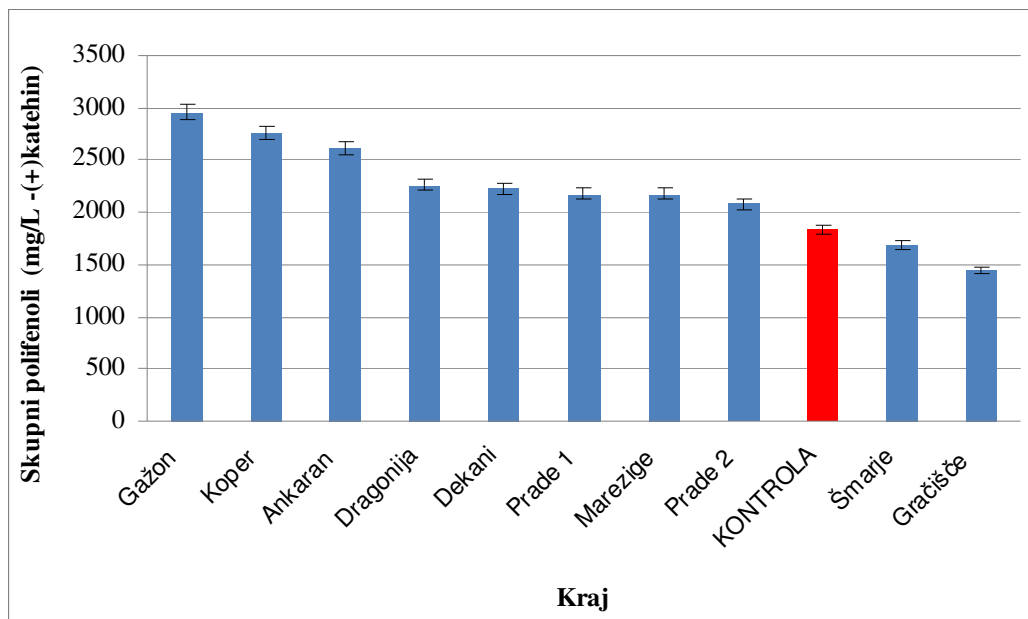
Slika 12: Graf primerjave tona barve v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja tona barve).

Na sliki 13 so predstavljeni vzorci vin sorte 'Refošk' iz Slovenske Istre, kjer smo analizirali skupne antociane. Vrednosti skupnih antocianov v mladih vinih letnika 2009 so znašale od 719 mg/L do 1435 mg/L. Med 11 vzorci je poskusni vzorec na tretjem mestu po lestvici od največ do najmanj. Vzorec KONTROLA predstavlja poskusni vzorec brez tretiranja. Med vzorci so velike razlike v vsebnosti skupnih antocianov. Na prvem mestu je vzorec iz Gažona, zadnji pa je vzorec iz Šmarij.



Slika 13: Graf primerjave skupnih antocianov v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja skupnih antocianov).

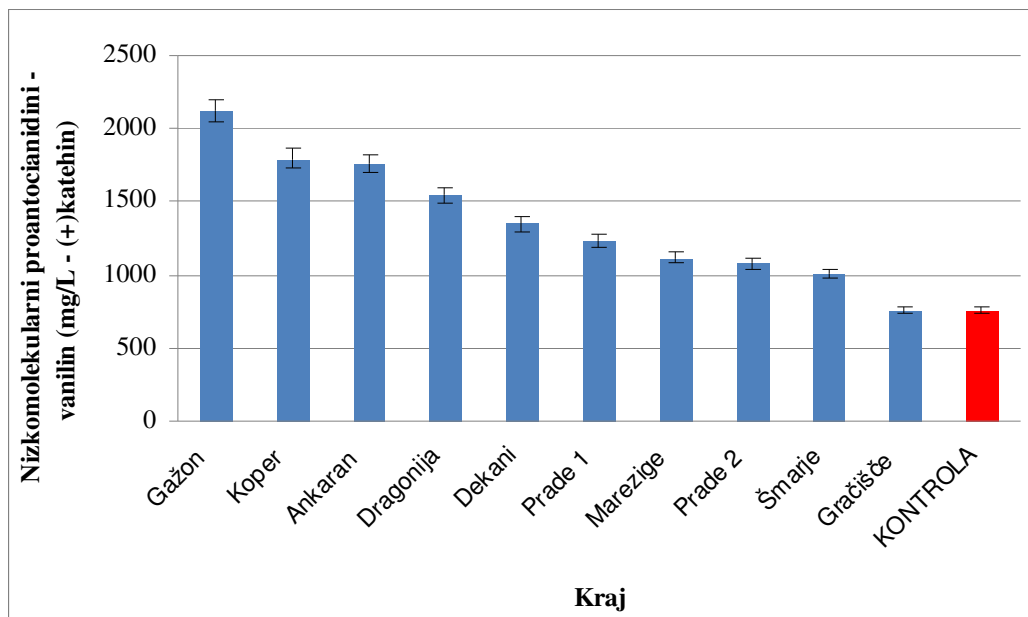
Na sliki 14 so predstavljeni vzorci vin sorte 'Refošk' iz Slovenske Istre. Analizirali smo skupne polifenole. Med 11 vzorci je poskusni vzorec na devetem mestu po lestvici od največ do najmanj. Med vzorci so velike razlike v vsebnosti skupnih polifenolov, in sicer znašajo od 1451 mg/L do 2954 mg/L. Na prvem mestu je vzorec iz Gažona, zadnji pa je vzorec iz Gračišča.



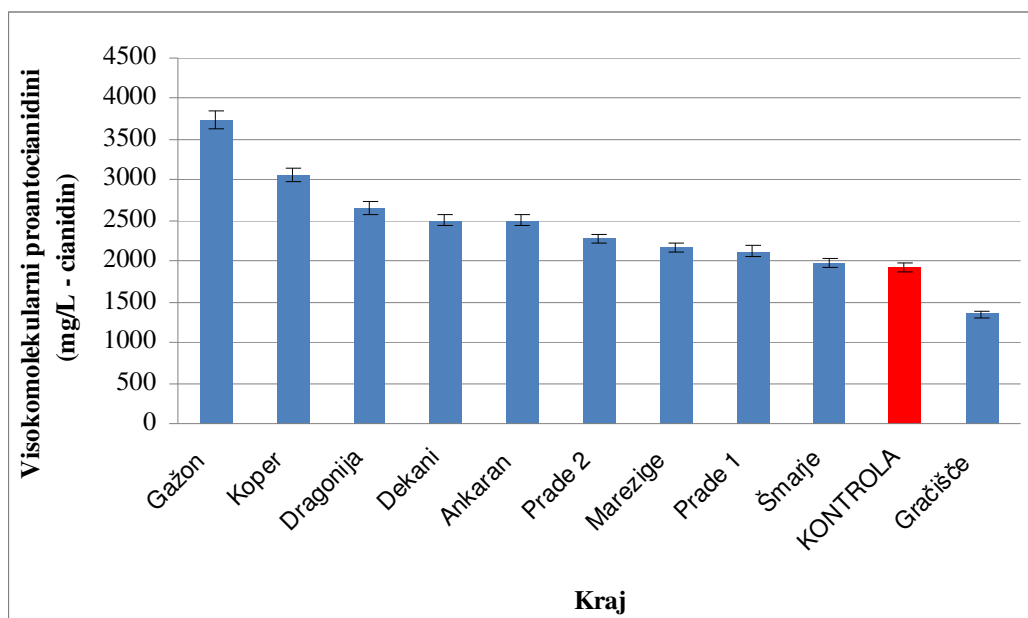
Slika 14: Graf primerjave skupnih polifenolov v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja skupnih polifenolov).

Na sliki 15 so predstavljene vrednosti nizkomolekularnih proantocianidinov za vzorce vin sorte 'Refošk' iz Slovenske Istre. Med 11 vzorci je naš poskusni vzorec KONTROLA na zadnjem (enajstem) mestu po lestvici od največ do najmanj, kar pomeni, da je bilo grozdje zelo dozorelo in vsebnost nizkomolekularnih proantocianidinov zelo nizka glede na ostale vzorce. Med vzorci so velike razlike v vsebnosti nizkomolekularnih proantocianidinov, kar je izraženo predvsem v grenkobi vina. Na prvem mestu je vzorec iz Gažona.

Na sliki 16 so predstavljeni vzorci vin sorte 'Refošk' iz Slovenske Istre. Merili smo visokomolekularne proantocianidine. Med 11 vzorci je poskusni vzorec KONTROLA na desetem mestu po lestvici od največ do najmanj. Nižje vrednosti visokomolekularnih proantocianidinov nakazujejo, da je bilo grozdje fenolno zelo dozorelo, saj se z dozorevanjem tanini v grozdju zmanjšujejo. Na prvem mestu je vzorec iz Gažona.



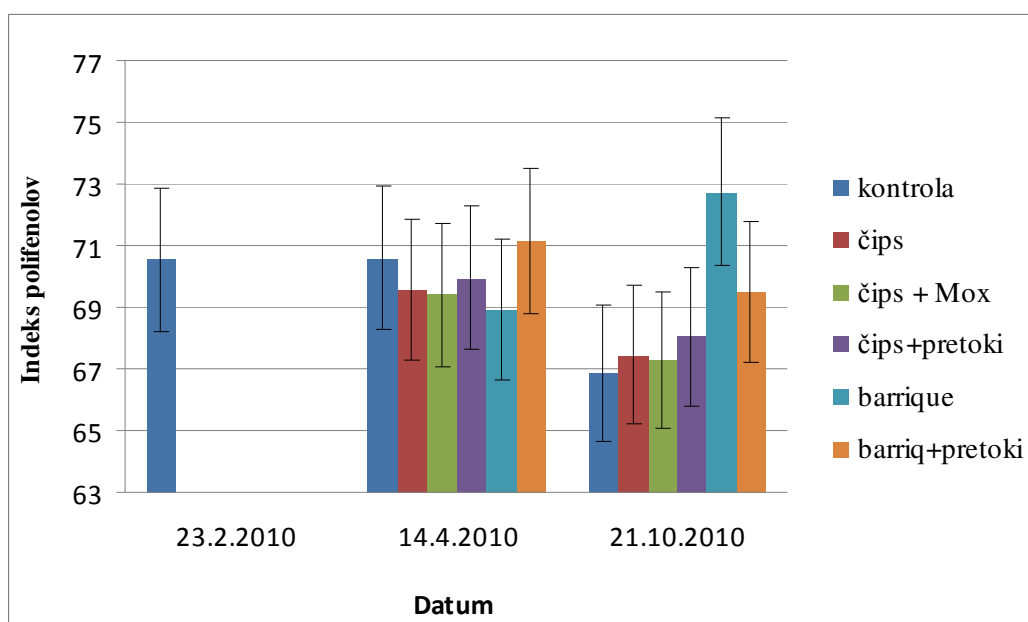
Slika 15: Graf primerjave nizkomolekularnih proantocianidinov v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja nizkomolekularnih proantocianidinov).



Slika 16: Graf primerjave visokomolekularnih proantocianidinov v vinih sorte 'Refošk' letnika 2009 iz Slovenske Istre (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja visokomolekularnih proantocianidinov).

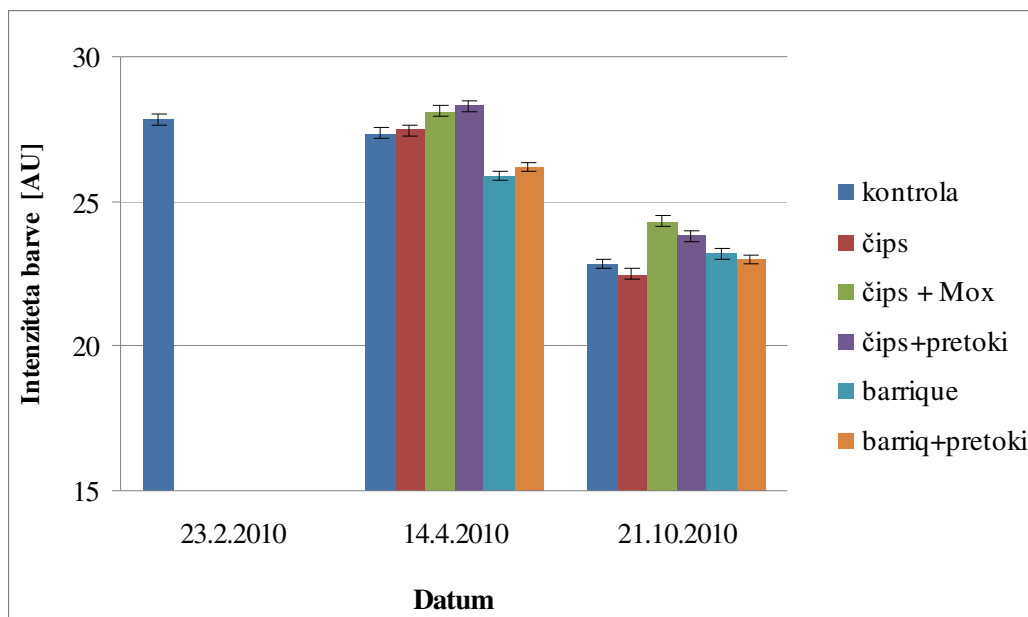
4.2 Rezultati poskusa

Grafi (slike 17–23) v nadaljevanju predstavljajo analizirane vrednosti naših parametrov. Ponazorjeni so trije termini. Prvi termin (23. 2. 2010) je dan pretoka v posode. Vrednosti parametrov za prvo vzorčenje so prikazane kot en vzorec, ki je imel na dan začetka iste vrednosti. Drugi termin (14. 4. 2010) je bil po preteku slabih dveh mesecev. V tretjem terminu (21. 10. 2010) so bile izmerjene končne vrednosti po preteku obdobja osem mesecev. V prilogi je za vsak graf posebej izdelana tabela, ki vsebuje dejanske vrednosti. Meritve smo v eni ponovitvi izvajali zato, ker je bil obseg zastavljenega poskusa industrijsko velik. Predmet naše študije je bila dinamika spreminjanja polifenolne sestave med obravnavanji.



Slika 17: Graf dinamike indeksa polifenolov med zorenjem poskusnih vin sorte ‘Refošk’ (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja indeksa polifenolov).

Na sliki 17 vidimo graf dinamike indeksa polifenolov. Z dozorevanjem vina se indeks zmanjšuje, čeprav razlike niso statistično značilne. Najbolj se je indeks zmanjšal pri kontroli (za 5,2 %), najmanj pa v sodih (za dobre 3 %). Vrednost pri vzorcu barrique je narasla, kar je najverjetneje napaka pri odvzemu vzorca.

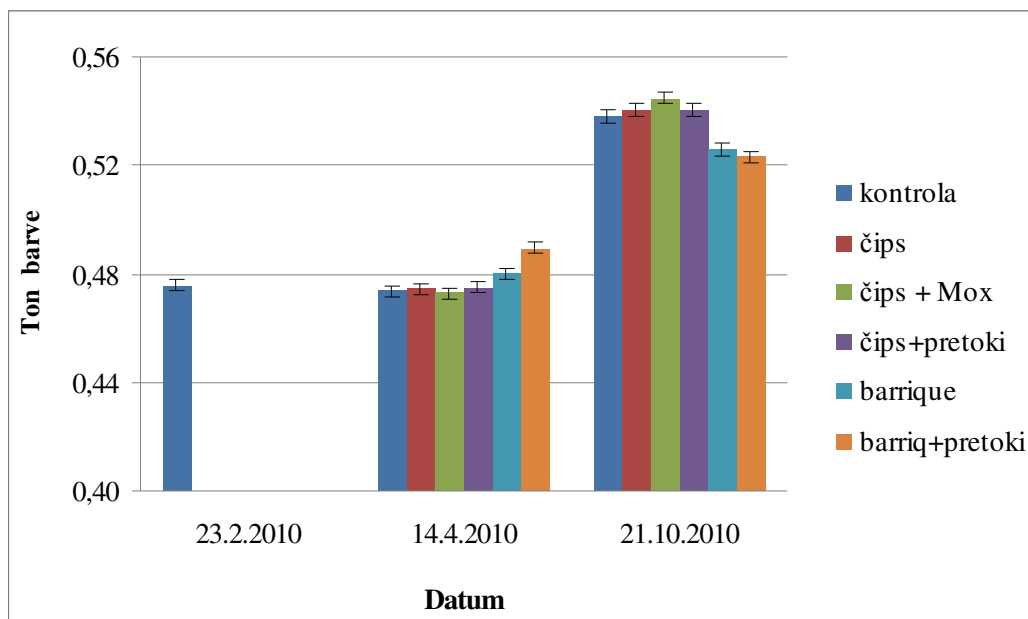


Slika 18: Graf dinamike intenzitete barve med zorenjem poskusnih vin sorte ‘Refošk’ (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja intenzitete barve).

Na sliki 18 vidimo graf dinamike intenzitete barve. Z dozorevanjem vina se intenziteta barve zmanjšuje, ker se prosti antociani izločijo oziroma vežejo s tanini. V povprečju se je zmanjšala intenziteta barve za 16,5 % (odstotek predstavlja zmanjšanje povprečja intenzitete barve vseh šestih vzorcev ob zadnjem vzorčenju glede na kontrolo ob prvem vzorčenju). Najbolj se je intenziteta barve zmanjšala pri vzorcu čips (za 19,2 %), najmanj pa pri vzorcu čips + Mox (za 12,7 %). Vzorcju čips + Mox sledijo vzorci, pri katerih je bil prisoten kisik. S pretoki, mikrooksigenacijo ali pretokom kisika skozi les sodov je najverjetneje prišlo do polimerizacije antocianov, kar pomeni, da je intenziteta barve obstojnejša (Rayne, 2007).

Na sliki 19 vidimo dinamiko spreminjanja tona barve. Z dozorevanjem vina se ton barve povečuje. Kisik pospeši tvorbo polimernih antocian-taninskih kompleksov ter značilno poveča rjavkasto-rdeč ton barve kot posledica nastajanja kompleksov (Llaudy in sod., 2006). Barva prehaja iz modro-vijolične v bolj dozorelo opečno-rjavo barvo. Ob zadnjem vzorčenju ni razlik med vzorci: barrique in barrique s pretoki. Ton barve

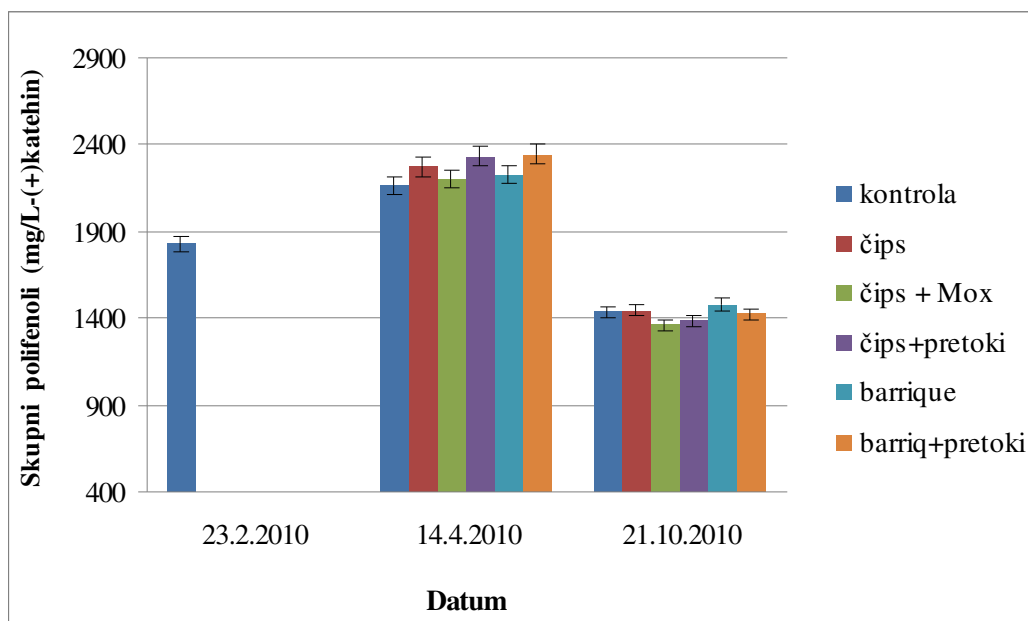
vzorcev barrique in barrique s pretoki je manjši od ostalih štirih vzorcev iz cistern. Povprečen dvig tona barve je 12,6 % (odstotek predstavlja povečanje povprečja tona barve vseh šestih vzorcev ob zadnjem vzorčenju glede na kontrolo ob prvem vzorčenju). Najbolj se je ton povečal pri vzorcu čips + Mox (za 14,4 %), najmanj pa pri vzorcu barrique + pretoki (za 10 %).



Slika 19: Graf dinamike tona barve med zorenjem poskusnih vin sorte 'Refošk' (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja tona barve).

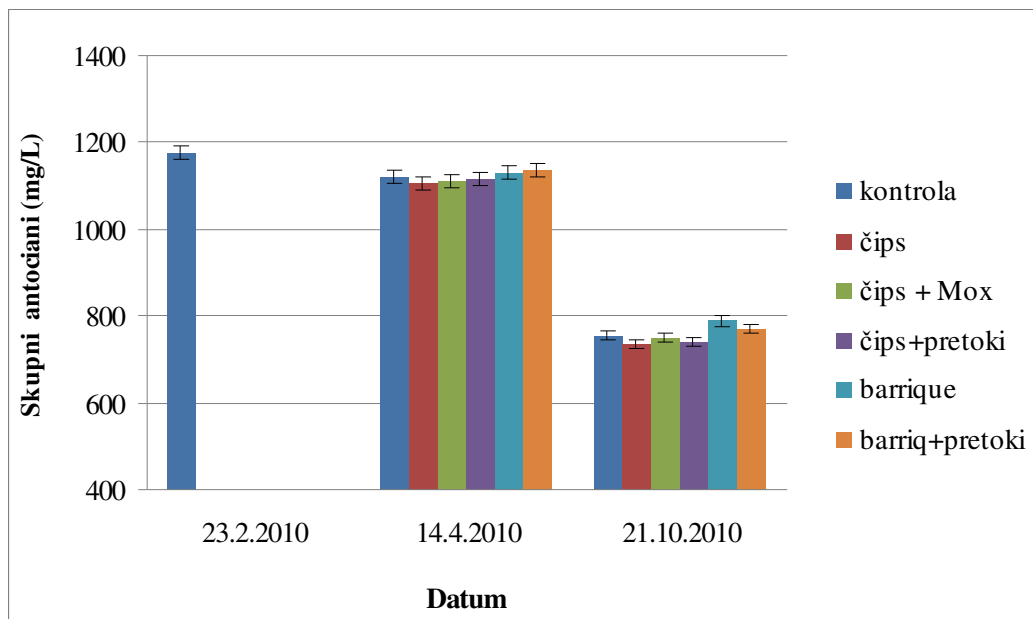
Na sliki 20 vidimo graf dinamike spreminjanja vsebnosti skupnih polifenolov. Z dozorevanjem vina se vsebnost skupnih polifenolov zmanjšuje, najverjetneje zaradi oksidacije in delnega izločanja visokomolekularnih proantocianidinov. V fazi strukturiranja vina lahko večja količina kisika povzroči večje število polimernih in kondenziranih reakcij, kar vpliva na zmanjšanje antioksidativne sposobnosti fenolnih spojin in s tem na zmanjšanje skupnih fenolov, kar je tudi razvidno pri naših vzorcih, ki so bili deležni kisika (Ortega-Heras in sod., 2008). Ob zadnjem vzorčenju med vzorci ni razlik, največja vsebnost skupnih polifenolov je bila v vzorcu barrique. Povprečni padec vsebnosti skupnih polifenolov je 22,4 % glede na začetno vrednost (odstotek predstavlja

zmanjšanje povprečne vsebnosti skupnih polifenolov vseh šestih vzorcev ob zadnjem vzorčenju glede na kontrolo ob prvem vzorčenju). Najbolj se je zmanjšala vsebnost skupnih polifenolov pri vzorcu čips + Mox (za 25,9 %), najmanj pa pri vzorcu barrique (za 19,2 %).

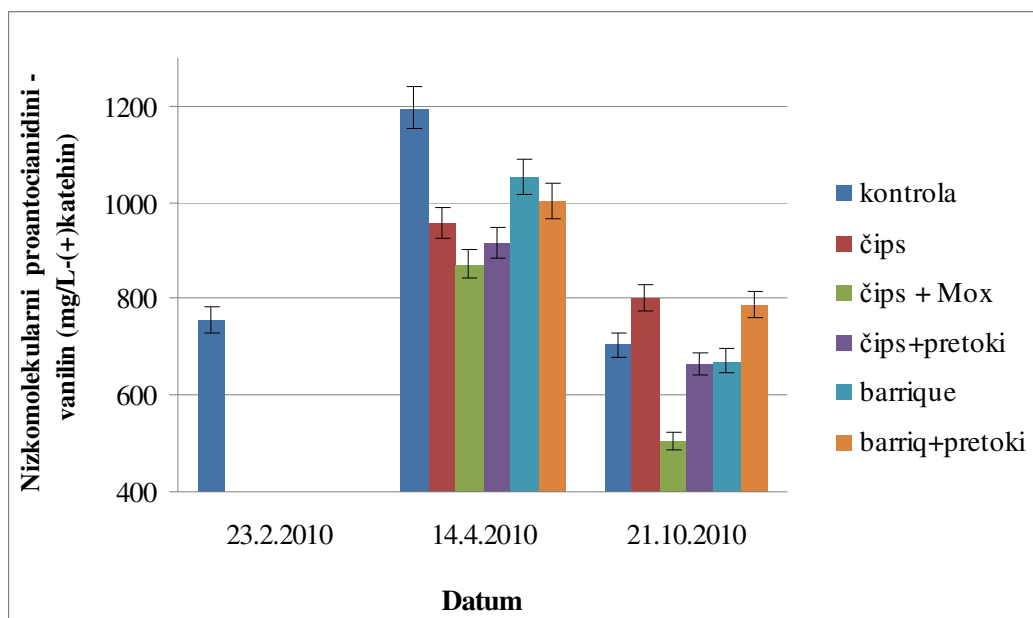


Slika 20: Graf dinamike spreminjanja skupnih polifenolov med zorenjem poskusnih vin sorte 'Refošk' (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja skupnih polifenolov).

Na sliki 21 vidimo graf dinamike vsebnosti skupnih antocianov. Z dozorevanjem vina se vsebnost skupnih antocianov v vinih zmanjšuje, ker prihaja do oksidacije le-teh ali pa do polimerizacije antocianov s tanini, kar privede do nastanka polimernih pigmentov z večjo molekulsko maso (Pèrez-Mangarino in sod., 2006). V povprečju se je vsebnost skupnih antocianov zmanjšala za 35,7 % od prvega do zadnjega vzorčenja (odstotek predstavlja zmanjšanje povprečne vsebnosti skupnih antocianov vseh šestih vzorcev ob zadnjem vzorčenju glede na kontrolo ob prvem vzorčenju). Najbolj se je zmanjšala vsebnost antocianov v vzorcu čips (za 37,6 %), najmanj pa v vzorcu barrique (za 33 %).

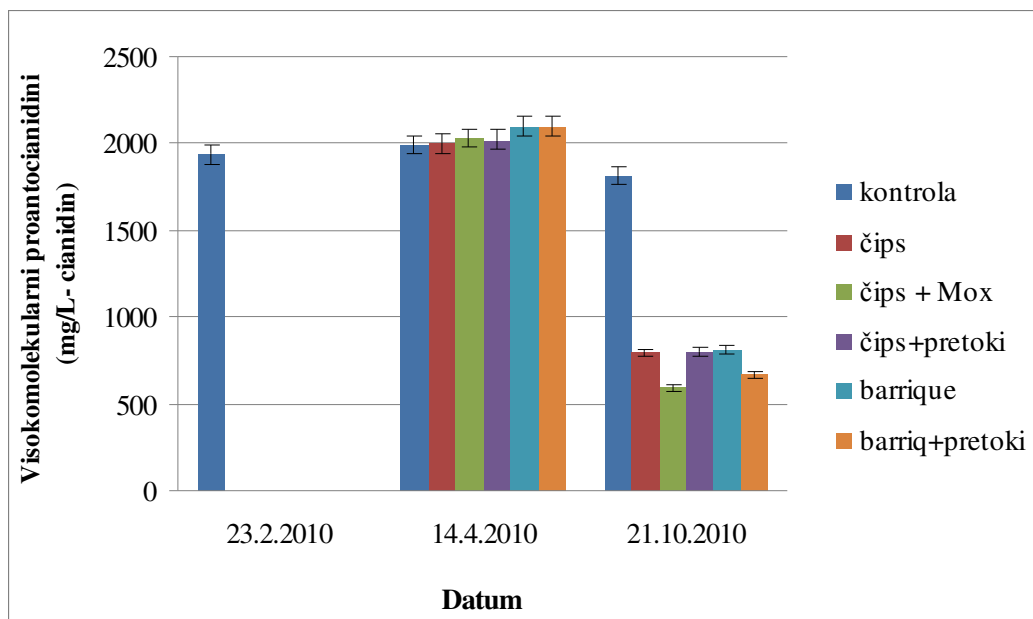


Slika 21: Graf dinamike skupnih antocianov med zorenjem poskusnih vin sorte 'Refošk' (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja skupnih antocianov).



Slika 22: Graf dinamike nizkomolekularnih proantocijanidinov med zorenjem poskusnih vin sorte 'Refošk' (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja nizkomolekularnih proantocijanidinov).

Na sliki 22 vidimo graf dinamike vsebnosti nizkomolekularnih proantocianidinov. Z dozorevanjem vina se vsebnost nizkomolekularnih taninov zmanjšuje, med drugim zaradi polimerizacije taninov. V našem primeru se je vsebnost najprej povečala, nato pa zmanjšala. To lahko pripišemo napaki pri vzorčenju ali analizi ob prvem datumu (pred začetkom poskusa), ali kot navajajo Parish (2000) ter Dykes in Kilmartin (2007), se iz neznanega vzroka v fazi strukturiranja vina oziroma v začetni fazi dodajanja kisika, zaznava grenkobe poveča. Večje količine nizkomolekularnih proantocianidinov oziroma krajše taninske verige povečajo zaznavo grenkobe (Sternad, 2010). Ob zadnjem vzorčenju se je vsebnost nizkomolekularnih proantocianidinov zelo zmanjšala pri vzorcu čips + Mox (za 33,4 %) in je bila manjša od vseh ostalih vzorcev. Vsebnost nizkomolekularnih proantocianidinov je bila največja v vzorcu čips in vzorcu barrique s pretoki.



Slika 23: Graf dinamike visokomolekularnih proantocianidinov med zorenjem poskusnih vin sorte 'Refošk' (interval zaupanja predstavlja relativno standardno deviacijo metode določanja visokomolekularnih proantocianidinov).

Na sliki 23 vidimo graf dinamike spreminjanja vsebnosti visokomolekularnih proantocianidinov v spremljanih vinih. Z dozorevanjem vina se vsebnost zmanjšuje, najverjetneje zaradi izločanja prevelikih molekul. Vina s preveliko količino visokomolekularnih proantocianidinov oziroma taninsko daljšimi verigami zaznamo v senzoriki kot trpka ali astringentna (Pour-Nikfardjam in sod.; 2004; Košmerl, 2011). Kontrolni vzorec je imel ob koncu poskusa minimalno zmanjšanje vsebnosti visokomolekularnih proantocianidinov glede na kontrolo ob prvem vzorčenju, in sicer se je zmanjšal le za 6,2 %. To bi lahko pripisali dejstvu, da ni bil v stiku s kisikom in se je iz tega razloga manj pospešeno staral. Pri ostalih je razlika zmanjšanja očitna in v povprečju znaša 62,1 % (odstotek predstavlja zmanjšanje povprečne vsebnosti visokomolekularnih proantocianidinov v vzorcih: čips, čips+mox, čips+pretoki, barrique in barrique+pretoki ob zadnjem vzorčenju glede na kontrolo ob prvem vzorčenju). Najbolj je razlika očitna pri vzorcu čips + Mox oziroma pri kontroliranem dodajanju kisika in čipsa (69,4 %). Zanimivo je, da tudi v vzorcu v jekleni posodi z dodatkom čipsa brez oksigenacije vsebnost visokomolekularnih taninov ob zadnjem vzorčenju močno pade v primerjavi s kontrolo. Tanini lesa vplivajo na polimerizacijske procese proantocianidinov (Keulder, 2006).

4.3 Rezultati senzoričnih analiz

Na prvem degustacijskem triangel testu (Tabela 4) 10. 5. 2010 oziroma po preteku 3 mesecev so degustatorji pri vseh testih statistično značilno zaznali različen vzorec. Degustatorji so opravili pet degustacij.

Tabela 4: Prva degustacija triangel testa.

TRIANGEL test – PRVA degustacija				Datum: 10. maj 2010		
				Število degustatorjev: 7		
Zaporedje testov	VZOREC			REZULTATI		
	1	2	3	Pravilno	Nepravilno	Statistična razlika*
1	kontrola	kontrola	čips	5	2	DA
2	čips	čips + pretoki	čips	6	1	DA
3	čips + pretoki	čips + pretoki	čips + Mox	6	1	DA
4	čips + Mox	čips + Mox	čips	6	1	DA
5	barrique + pretoki	barrique + pretoki	barrique	7	0	DA
*Statistična razlika pri 5 % stopnji tveganja.						

Rezultati so zanimivi, saj smo ob prvem vzorčenju našli le minimalne razlike v fenolni sestavi, z izjemo vsebnosti nizkomolekularnih taninov, ki je bila značilno manjša v tretiranih vinih kot v kontroli (slike 16–22). Iz tega lahko sklepamo, da se organoleptična analiza ne dopolnjuje vedno z analizo polifenolne sestave, saj so degustatorji zaznali tudi razlike med vzorci, ki niso vsebovali kontrole.

Tudi na drugem degustacijskem triangel testu (Tabela 5) 21. 6. 2010 oziroma po preteku 5 mesecev so degustatorji pri vseh testih (z izjemo tretjega) statistično značilno

zaznali različen vzorec. Vsi vzorci, razen dveh: čips + Mox in čips + pretoki, so odražali razlike. To lahko pripišemo podobnemu učinku kisika kontroliranega in nekontroliranega dodajanja. Na drugi degustaciji je sodelovalo sedem degustatorjev s šestimi degustacijami.

Tabela 5: Druga degustacija triangel testa.

TRIANGEL test – DRUGA degustacija				Datum: 21. julij 2010		
				Število degustatorjev: 7		
Zaporedje testov	VZOREC			REZULTATI		
	1	2	3	Pravilno	Nepravilno	Statistična razlika*
1	kontrola	kontrola	čips	7	0	DA
2	čips	čips + pretoki	čips	6	1	DA
3	čips + pretoki	čips + pretoki	čips + Mox	4	3	NE
4	čips + Mox	čips + Mox	kontrola	5	2	DA
5	čips+pretoki	Kontrola	kontrola	7	0	DA
6	barrique	čips + pretoki	barrique	7	0	DA
*Statistična razlika pri 5 % stopnji tveganja.						

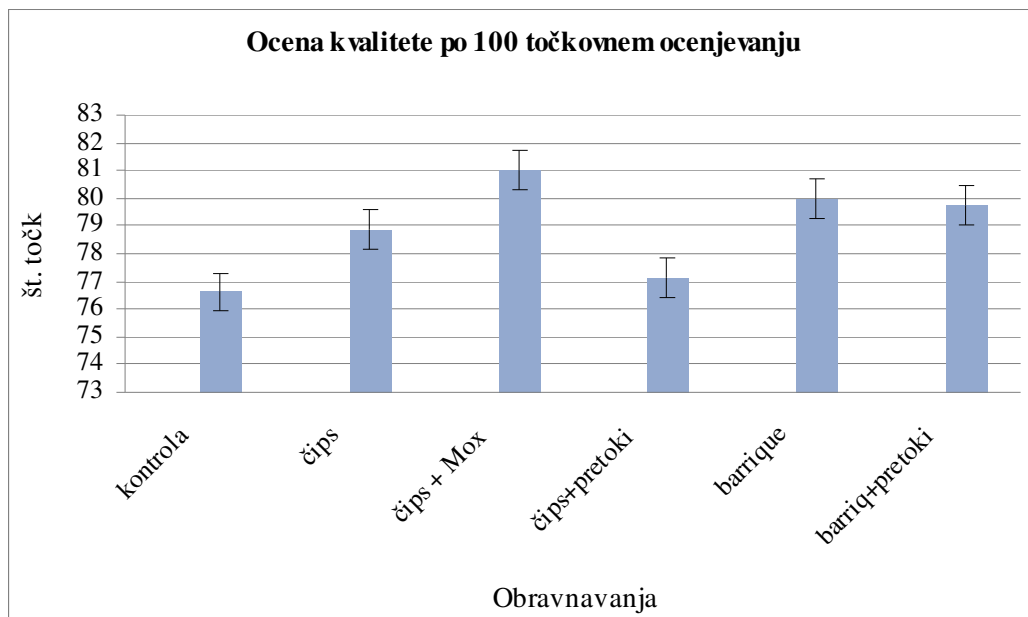
Na tretjem (zadnjem) degustacijskem triangel testu (Tabela 6) je sodelovalo sedem degustatorjev s šestimi degustacijami. Po 8 mesecih poskusa na zadnji degustaciji triangel testa (20. 10. 2010) so degustatorji pri večini testov statistično značilno zaznali različen vzorec, razen med kontrolnim vzorcem in vzorcem čips ni bilo ugotovljene statistične razlike. Vzorca nista bila tretirana s kisikom, kar je verjetno doprineslo k temu, da se v fazi strukturiranja nista znatno senzorično spremenila.

Tabela 6: Tretja degustacija po triangel testu.

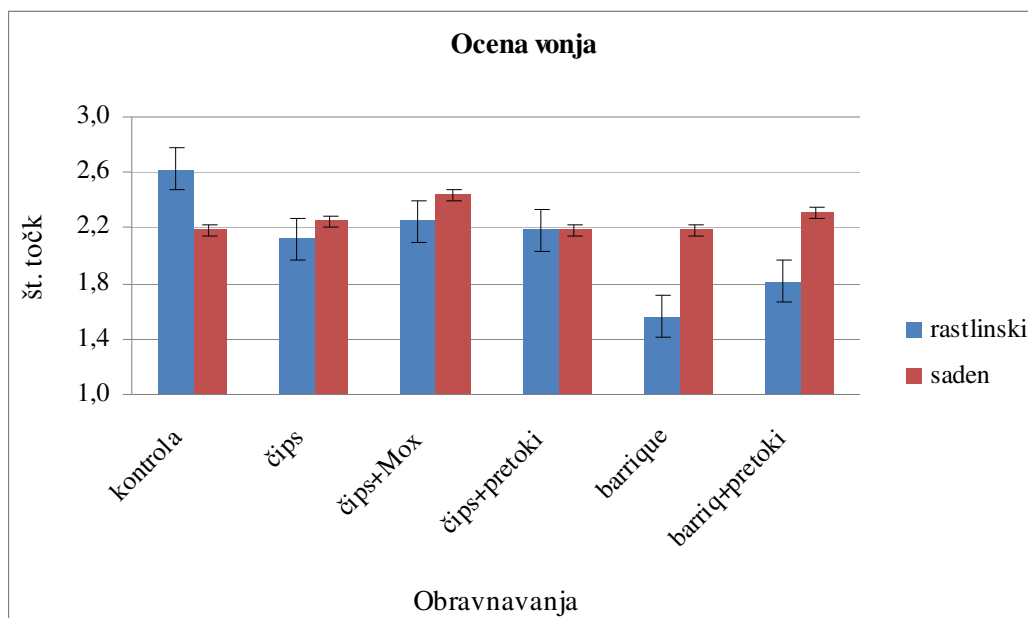
TRIANGEL test – TRETJA degustacija				Datum: 20. oktober 2010		
				Število degustatorjev: 7		
Zaporedje testov	VZOREC			REZULTATI		
	1	2	3	Pravilno	Nepravilno	Statistična razlika*
1	kontrola	kontrola	čips	4	3	NE
2	čips	čips + pretoki	čips	6	1	DA
3	čips + pretoki	čips + pretoki	čips + Mox	5	2	DA
4	čips + Mox	čips + Mox	čips	5	2	DA
5	čips + pretoki	kontrola	kontrola	7	0	DA
6	barrique	barrique + pretoki	barrique	7	0	DA

*Statistična razlika pri 5 % stopnji tveganja.

Pri končni 100-točkovni degustaciji (11. 11. 2010) je sodelovalo osem degustatorjev. Najvišjo oceno (81,0 točk) je dobilo vino s čipsom in kontroliranim dodajanjem kisika (čips + Mox), ki je odražalo polnost, več svežine in mehkobe, občutno manj pa trpkosti (astringence) in grenkobe (slika 24). To bi lahko prepisali hrastovim komponentam in kontroliranemu dodajanju kisika, saj ta dva parametra pripomoreta k boljši polimerizaciji fenolnih spojin. Sledijo vina iz hrastovih sodov (barrique (80,0) in barrique + pretoki (79,8)). Vino barrique z oceno (80,0) se statistično značilno ni razlikovalo od vina čips + Mox, vsi ostali vzorci pa so bili od vzorca čips+Mox statistično značilno slabše ocenjeni. Najslabše je bilo ocenjeno kontrolno vino (s 76,6 točkami), podobno pa je bilo ocenjeno še vino z nekontrolirano količino kisika (čips + pretoki), kjer je bil kisik dodan v nekontrolirani (pogosto preveliki) količini, kar pripomore k hitrejši oksidaciji, kar ponovno odraža trpkost in grenkobo.

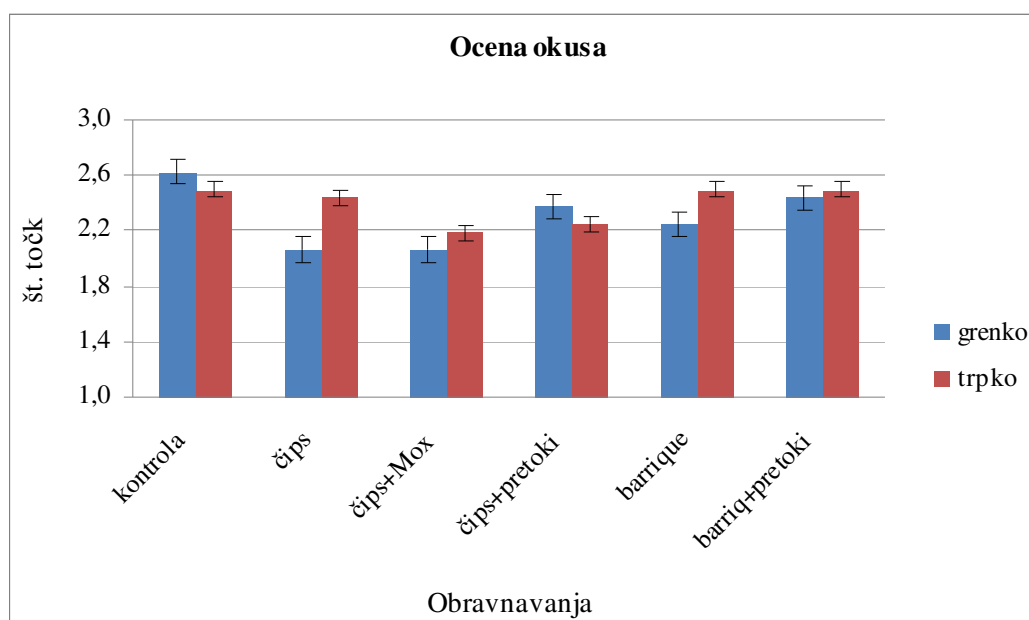


Slika 24: Povprečna ocena zaključne degustacije; ocene kvalitete po 100-točkovnem ocenjevanju poskusnih vin sorte 'Refošk' (interval zaupanja na grafu ponazarja standardni odklon ocene od povprečja).



Slika 25: Graf ocene vonja (rastlinski ali saden) po 100-točkovnem ocenjevanju poskusnih vin sorte 'Refošk' (interval zaupanja na grafu ponazarja standardni odklon od povprečja).

Pri ocenjevanju vonja smo ocenjevali rastlinski in sadni vonj z ocenami od ena (najmanj) do pet (največ). Pri kontroli prevlada rastlinski oziroma vegetativni vonj (slika 25). Vzorci z dodatkom čipsa so v senzoričnem ravnotežju med rastlinskimi in sadnimi vonji. V vzorcih v sodih prevladuje sadna nota pred rastlinsko. Največ sadne note so degustatorji zaznali v vzorcu z dodatkom čipsa s kontroliranim dodajanjem kisika (čips+Mox). Ravnovesje oziroma prevlado sadnih aromatičnih spojin lahko pripišemo prisotnosti majhnih količin kisika (Ortega-Heras in sod., 2008).



Slika 26: Graf ocene okusa (grenko ali trpko) po 100-točkovnem ocenjevanju poskusnih vin sorte 'Refošk' (interval zaupanja na grafu ponazarja standardni odklon od povprečja).

Pri ocenjevanju okusa smo ocenili grenkobo in trpkost z ocenami od ena (najmanj) do pet (največ). Največ grenkobe so degustatorji zaznali v vzorcu Kontrola (slika 26), pri katerem zaradi efekta redukcije (odsotnost kisika) ni prišlo do polimerizacijskih reakcij, ki bi zmanjšale zaznavo grenkobe. V povprečju so degustatorji močnejše zaznali grenkobo od trpkosti v vzorcih kontrole in čips s pretoki. Najmanjšo zaznavo trpkosti in grenkobe (z izjemo obravnavanja čips) so degustatorji zaznali v obravnavanju dodatek

čipsa s kontroliranim dodajanjem kisika. Zanimivo je, da je ta vzorec dobil največjo oceno po 100-točkovni metodi. Iz tega sklepamo, da je vzorec odražal senzorično najbolj kvalitetno sestavo taninov.

5 ZAKLJUČEK

Namen diplomskega dela je bil preučiti vpliv kisika v kombinaciji s hrastovimi nadomestki (čipsom) na fizikalno-kemijsko sestavo in senzorično kakovost rdečih vin sorte 'Refošk'. Pri 10 mesecev trajajočem poskusu smo želeli ugotoviti, kako vplivajo dodatek hrastovih nadomestkov, kontrolirano dodajanje kisika ter pretoki vina na kvaliteto vin sorte 'Refošk' v cisternah. Poleg tega smo ugotavljali, kakšna je kakovost vina sorte 'Refošk' v rabljenem barrique sodu v primerjavi z zorenjem v rabljenem barrique sodih, kjer smo opravili zračne pretoke. Obe obravnavanji barrique smo primerjali z obravnavanji v cisternah. Namen diplomske naloge je bil ugotavljanje tehnologij, ki bi bile najbolj primerne za zorenje vin sorte 'Refošk'. V različnih časovnih intervalih v obdobju od februarja do novembra 2010 smo spremljali polifenolno sestavo v obravnavanih vinih. Vina smo tudi senzorično primerjali in ocenili. Poskus je bil narejen na industrijskem nivoju in iz tega razloga imamo samo eno ponovitev vsake tehnologije.

Ugotovili smo, da je bil na končni 100-točkovni degustaciji med vsemi spremljanimi vzorci v povprečju najbolje ocenjen vzorec z dodatkom čipsa in kontroliranega dodajanja kisika (čips + Mox) v jeklenem tanku (81,0 točk). Ta vzorec je ob zadnjem vzorčenju vseboval 1358 mg/L skupnih polifenolov, 752 mg/L skupnih antocianov, 504 mg/L nizkomolekularnih in 592 mg/L visokomolekularnih taninov. Vsebnosti skupnih polifenolov in skupnih antocianov se minimalno razlikujejo od ostalih vzorcev, vendar je ta vzorec, v primerjavi z ostalimi analiziranimi vzorci, ob zadnjem vzorčenju vseboval precej manj nizkomolekularnih taninov, ki vplivajo na zaznavo grenkobe vina. Vseboval je tudi manj visokomolekularnih taninov, kar vpliva na manjšo zaznavo trpkosti vina. Glede na rezultate senzorične analize ugotavljamo, da mikrooksigenirana vina z dodatkom čipsa lepše dozoriijo. Najverjetneje je vzrok boljša polimerizacija taninov, kar je tudi razvidno v nižji vsebnosti nizkomolekularnih taninov. To se odraža tudi v okusu vina. Vino je pridobilo na polnosti ter izgubilo del neprijetne trpkosti in grenkobe. Lahko zaključimo, da je kontroliran postopek mikrooksigenacije hkrati z dodatkom čipsa v jeklene tanke zelo primerljiv postopek zorenju vin v lesenih sodih.

Na zaključni 100-točkovni degustaciji mikrooksigeniranemu vzorcu z dodanim čipsom sledita vzorca iz rabljenih barrique sodov: barrique (80,0 točk) in barrique + pretoki (79,8 točk). Vzorec barrique je vseboval 1481 mg/L skupnih polifenolov, 788 mg/L skupnih antocianov, 672 mg/L nizkomolekularnih in 811 mg/L visokomolekularnih taninov. Vzorec barrique + pretoki je vseboval 1423 mg/L skupnih polifenolov, 772 mg/L skupnih antocianov, 789 mg/L nizkomolekularnih in 672 mg/L visokomolekularnih taninov. Lahko zaključimo, da so razlike v vsebnosti skupnih polifenolov, skupnih antocianov ter nizkomolekularnih in visokomolekularnih taninov v primerjanih vinih sorte 'Refošk' manjše kot razlike v senzorični kakovosti. Dodati je treba, da se rabljeni barrique sodi z leti »iztrošijo« (ekstrakcija taninov iz lesa). Cena, zlasti novih sodov, pa težko opraviči razmerje med ceno soda in ceno vina. Ravno tako rabljeni sodi z leti izgubijo poroznost, z mikrooksigenacijo pa imamo konstanten in kontroliran vnos kisika v vino.

V povprečni senzorični oceni 100-točkovne metode zaključne degustacije sledijo vina, tretirana v jeklenem tanku z dodatkom čipsa (78,9 točk), nato vino v jeklenem tanku z uporabo pretoka (77,1 točk) ter nazadnje kontrola v jeklenem tanku (76,6 točk).

Ker je senzorična analiza še vedno najbolj celovita ocena vina in je nepogrešljiva pri ugotavljanju kvalitete vina, zaključujemo, da se je v našem poskusu pri vinu sorte 'Refošk' najboljše odrezal postopek z dodatkom čipsa in kontroliranega dodajanja kisika v jeklenem tanku (čips + Mox).

- Na senzoriki se to pozitivno odraža predvsem v kvaliteti vonja in okusa s pridobljeno polnostjo, mehkobo in svežino ter v zmanjšanju zaznave astringence in grenkobe.
- Dobro je opravičen strošek vložka z doseženo ceno na trgu. S takim postopkom lahko tretiramo večje količine vina z manjšimi stroški, kar nam povrne konkurenčnost, hkrati pa je pridelano vino višje kakovosti.
- Higiena je boljša v jeklenih tankih kot v rabljenih sodih. Čiščenje sodov je zelo težko ročno opravilo in ne vedno učinkovito, zato obstaja nevarnost mikrobioloških okužb, ki jih lahko z leti prenašamo na naslednja vina.

- Z uporabo jeklenih tankov in dodajanjem novih hrastovih nadomestkov (čips, doge, oblanci, prah ipd.) ter uvajanjem mikro količin kisika imamo vedno kontroliran proces z enako interaktivnostjo lesa in vina ter kontroliranim dodatkom kisika (mikrooksigenacija), kar pri sodih ne velja, ker se le-ti z leti iztrošijo.
- Poudariti je treba, da je za mikrooksigenacijo pomembna ustrezna višina tankov. Le-ta naj bi bila vsaj 2,5m (du Toit, 2005). Zato je ta postopek primeren za uporabo v večjih oziroma višjih tankih. To omogoča, da se mikro mehurčki med dviganjem dobro raztopijo in tako pospešijo polimerizacijo taninskih spojin. V primeru, da so tanki prenizki, se mehurčki ne raztopijo, ampak se kopičijo na vrhu, kar lahko privede do oksidacije vina.
- Mikrooksigenacija v tankih je v današnjem času postopek, s katerim lahko zadovoljivo nadomestimo zorenje v sodih. Vendar bo v prihodnosti treba še veliko izkušenj za doseg kakovosti vina, ki bi bila primerljiva ali celo boljša kot vina, zorjena v novih ali rabljenih lesenih sodih.

»Potrebno je veliko znanja, prakse in izkušenj, da ugotovimo, kaj se kateremu vinu prilega!«

6 VIRI

- Avramov L., Briza K. (1988). Posebno vinogradništvo (Ampelografija). Novi Sad, Univerzitet u Novem Sadu. Str. 367.
- Broadhurst, R. B., Jones, W. T. *Analysis of condensed tannins using acidified vanilin. J. Sci. Food Agric.* (1978). Str. 28, 788–794.
- Cagnasso E., Gerbi V., Caudana A. (2003). *Miglioramento della qualita dei vini rossi: valutazione della maturita fenolica e applicazione della microossigenazione.* Agricoltura e Qualità, 36. Str. 33.
- Cano-Lopez M., Pardo-Minguez F., Schmauch G., Saucier C., Teissedre P. L., Lopez-Roca J. M., Gomez-Plaza E. (2008). *Effect of micro-oxygenation on colour and anthocyanin related compounds of wines with different phenolic content.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, 14. Str. 5932–5939. Chemistry, 69. Str. 61–69.
- Cindrić P., Korać N., Kovač V. (2000). *Sorte vinove loze: metode i rezultati izpitivanja.* Novi Sad, Poljoprivedni fakultet, Prometej. Str. 440.
- Colnarič J., Vrabl S. (1991). *Vinogradništvo.* Ljubljana, Kmečki glas. Str. 327.
- Di Stefano, R., Guidoni, S. *The analysis of total polyphenols in musts and wines. Vigne vini* (1989a). 1/2, Str. 47–52.
- Di Stefano, R., Cravero, M. C., Gentilini, N. *Methods for the study of wine polyphenols. L'Enotecnico.* (1989b). 5. Str. 83–89.
- Doberšek T. (1986). *Vinogradništvo.* Ljubljana, Državna založba Slovenije. Str. 318.
- Du Toit W. J. (2005). *Oxygen in winemaking: part 1 and 2.* Suider Paarl, WineLand. Wynboer: A Technical Guide for Wine Producers: Pridobljeno dne 12. 8. 2011 s spletne strani:
<http://www.wynboer.co.za/recentarticles/200706micro.php3>,
<http://www.wynboer.co.za/recentarticles/200707micro.php3>.

- Du Toit W. J., Marais J., Pretorius I. S., Du Toit M. (2006). *Oxygen in must and wine: a review*. South African Journal of Enology and Viticulture, 27, 1. Str. 76–94.
- Dykes S., Kilmartin P. (2007). *Micro-oxygenation – optimizing the maturation process*. Australian & New Zealand Wine Industry Journal, 22, 5. Str. 31–45.
- EEC 355/2005. (2005). Commission Regulation (EEC) No. 2676/90 *Determining Community methods for the analysis of wines*. Official of the European Union, 272: Str. 1–192.
- EEC 355/2005. (2005). Commission Regulation (EEC) No. 335/200 Amending regulation (EEC) No 2676/90 *Determining Community methods for wines*. Official Journal of the European Union 56: Str. 1–5.
- EGS 2676/90. (1990). Uredba Komisije (ES) št. 2676/90. *Odločilna metoda Skupnosti za analizo vin*. Uradni list Evropske unije, 272. Str. 1–192.
- EGS 355/2005. (2005). Uredba Komisije (ES) št. 335/200 o spremembi Uredbe (EGS) št. 2676/90. *Odločilna metoda Skupnosti za analizo vin*. Uradni list Evropske unije 56. Str. 1–5.
- *Elaborat o rajonizaciji vinogradniškega območja republike Slovenije o sortah vinske trte, ki se smejo saditi in o območjih za proizvodnjo kakovostnih vin*. (1998). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije. Str. 96.
- Folin, O., Denis, W. *On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents*. J. Biol. Chem. (1912). 12. Str. 239–243.
- Glories, Y. *La couleur des vins rouges*. Connais. Vigne Vin. (1984). 18. Str. 195–217.
- Golob T., Jamnik M., Bertonec J., Doberšek U. (2005). *Senzorična analiza: Metode in preskuševalci*. Ljubljana.
- Hrček L., Korošec-Koruza Z. (1996). *Sorte in podlage vinske trte*, SVA Veritas. Str. 191.
- Jackson R. S. (2000). *Wine science: principles, practice, perception*. San Diego, Academic Press. Str. 648.

- Keulder D. (2006).). *The influence of commercial tannin additions on wine composition and quality*. Thesis of Master of Agricultural of Science at Stellenbosc Universityh. Str. 18.
- Košmerl T. (2011). *Delitev fenolnih snovi – 1. del*. Revija SAD, letnik XXII, Marec 2011, št. 3. Str. 23–24.
- Košmerl T. (2011). *Neflavonoidi, tanini in barva vina*. Revija SAD, letnik XXII, April 2011, št. 4. Str. 21–23.
- Košmerl T., Kobal B. (2011). *Barrique tehnologija pridelave belih in rdečih vin*. Pridobljeno dne 20. 8. 2012 s spletne strani:
<http://www.bf.uni-lj.si/knjiznice/knjiznica-odd-za-zivilstvo.html>.
- Lesica M. (2009). *Vpliv vpihovanja kisika na zorenje rdečih vin*. Magistrsko delo. Ljubljana. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo. Str. 3–23.
- Llaudy M. C., Canals R., Gonzalez-Manzano S., Canals J. M., Santos-Buelga C., Zamora F. (2006). *Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and colour of red wine*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54. Str. 4246–4250.
- Lorenzo C., Pardop F., Zalacin A., Alonso G. L., Salinas M. R. (2005). Effect of red grapes co-winemaking in polyphenols and color of wines. Journal of Agricultural an Food Chemistry, 53, 19. Str. 7609–7616.
- Margalit Y. (2004). Concepts in wine chemistry. 2nd ed. San Francisco, The Wine Appreciation Guild. Str. 97.
- Nadaliè Tonnellerie (2004–2013). Pridobljeno dne 15. 8. 2012 s spletne strani:
<http://www.nadalie.fr>.
- Nel L. (2000). *The use of the micro-oxygenation technique*. Wynboer: A technical guide for wine producers. Pridobljeno dne 11. 8. 2011 s spletne strani:
<http://www.wynboer.co.za/recentarticles/0101technique.php3>.
- Nemanič J. (1996). *Spoznajmo vino*. Ljubljana: Kmečki glas. Str. 86–111.

- Nemanič J. (2002). *Mikrooksidacija vin v sodčkih in cisternah*. Kmečki glas, 59, 45. Str. 8.
- Oak Solution Group. (2005–2012). Pridobljeno dne 15. 8. 2012 s spletne strani: <http://oaksolutionsgroup.com>.
- Ortega-Heras M., Rivero-Perez M. D., Perez-Magarino S., Gonzales-Huerta C., Gonzales-Sanjose M. L. (2008). *Changes in the volatile composition of red wines during ageing in oak barrels due to microoxygenation treatment applied before malolactic fermentation*. European Food Research & Technology, 226, 6. Str. 1485–1493.
- Parish M., Wollan D., Paul R. (2000). *Micro-oxygenation: a review*. Australian Grapegrower & Winemaker, 438a. Str. 47–50.
- Pérez-Mangariño S., Sánchez-Iglesias M., Ortega-Heras M., Gonzáles-Huerta C., Gonzáles-Sanjosé M. L. (2007). Colour stabilization of red wines by microoxygenation treatment before malolactic fermentation. Food Chemistry, 101. Str. 881–893.
- Pour-Nikfardjam M. S., Creasy G. L. (2004). *Micro-oxygenation: where do we go from here?* Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker, 480. Str. 57–58.
- Pravilnik o seznamu geografskih označb za vina in trsnem izboru. Uradni list RS, št. 49/07.
- Rayne S. (2007). *Micro-oxygenation impacts on wine colour*. Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker, 525. Str. 75–79.
- Rigo, A., Vianello, F., Clementi, G., Rosetto, M., Scarpa, M., Vrhovsek, U., Mattivi, F. *Contribution of the proanthocyanidins to the peroxi-radical scavenging capacity of some Italian red wines*. J. Agric. Food. Chem. 2000, 48. (1996–2002).
- Senese F. A. (2000), Gaseous equation of state calculator, Pridobljeno dne 12. 8. 2011 s spletne strani: <http://antoine.fsu.umd.edu/chem/senese/javascript/realgas.shtml>.

- Sensory analysis-Methodology-Triangle test. (British standard) BS ISO 4120. (2004).
- Somers T. C. (1971). The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry*, 10. Str. 2175–2186.
- Sternad Lemut M., Trošt K., Lisjak K. (2010). *Polifenolni profil Slovenskih modrih pinotov in primerjava s povezanimi senzoričnimi lastnostmi*. Vinarski dan. (2010). Str. 29–32.
- Stone H., Sidel, J. L. (1993). *Sensory evaluation practices*. Academic Press. London. Str. 311.
- Swain, T., Hillis, W. E. *The phenolic constituents of Prunus domestica. I. The quantitative analysis of phenolic compounds*. *J. Sci. Food Chem.* (1959). 10. Str. 63–68.
- Swanson B. G. (2003). Tannins and polyphenols. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Vol. 9. 2nd ed. Caballero B., Trugo L. C., Finglas P. M. (eds.). Amsterdam, Academic press, Elsevier Science. Str. 5729–5733.
- Štabuc R., Hauptman S., Škvarč A., Brdник M., Maljevič J., Novak E., Vršič S., (2007). *Slovenske trte in vina v Evropski uniji*. 3. Slovenski vinogradniško-vinarski kongres. Maribor, 15. do 16. 11. 2007. Maribor, Grafiči studio. Str. 1–17.
- Timberlake C.F. and P. Bridle. *Interaction between antocyanins, phenolic compounds and acetaldehyde and their significance in red wines*. *American Journal of Enology and Viticulture* 1976. št.:27, Str. 97-105.
- Vanzo A., Vrhovšek U. (2005). Antocianini – bioaktivne spojine v vinu. Slovenski kemijski dnevi 2005. Maribor, 22. in 23. september 2005. Glavič P., Brodnjak – Vončina D. (ur). Maribor, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Mariboru. Str. 1/8–8/8.
- Vrhovšek U. (1996). *Fenoli kot antioksidanti v vinu*. Zbornik referatov 1. Slovenskega vinogradniško-vinarskega kongresa, Portorož od 4. do 6. decembra 1996. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas. Str. 124–134.

- Vrhovšek U. (2000). Bioaktivne polifenolne spojine grozdja in vina. Strokovni posvet: Vino – hrana, zdravje 2000, Ljubljana, 5. 4. 2000. Celje, Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo Slovenije. Str. 42–56.
- Wang H., Cao G., Prior R. L. (1997). Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45. Str. 304–309.
- Wine Industry Networks, Beverage Supply Group. (2007): Pridobljeno dne 15. 8. 2012 s spletne strani:
<http://wineindustrynetwork.com/uploads/about/supplierspotlight-bsg-3.pdf>.

7 PRILOGA

Tabela 7: Primerjava polifenolne sestave vin iz Slovenske Istre.

Vzorec	Indeks polifenolov	Intenziteta Absorbanca (AU)	Ton	Skupni polifenoli mg/L + katehin	Skupni antociani mg/L	Nizkomolekularni proantocianidini mg/L + katehina	Visokomolekularni proantocianidini mg/L + cianidin
Gažon	104,66	34,78	0,460	2954	1435	2118	3744
Koper	91,75	22,64	0,513	2757	1086	1798	3070
Dragonja	66,24	17,75	0,438	2262	897	1546	2659
Dekani	78,78	23,23	0,495	2230	1227	1349	2507
Ankaran	81,75	18,33	0,571	2607	839	1756	2497
Prade 1	71,58	19,62	0,493	2176	979	1237	2125
Prade 2	68,98	19,46	0,456	2079	1041	1083	2278
Marezige	72,24	21,66	0,514	2175	988	1116	2169
Šmarje	53,69	13,54	0,541	1689	719	1010	1969
Gračišče	47,15	12,23	0,512	1451	802	758	1342
KONTROLA	70,56	27,86	0,476	1833	1177	757	1936

Tabela 8: Indeks polifenolov med zorenjem poskusnih vin.

Datum vzorčenja	23. 2. 2010	14. 4. 2010	21. 10. 2010
Vzorec	Indeks polifenolov	Indeks polifenolov	Indeks polifenolov
Kontrola	70,56	70,58	66,86
Čips	70,56	69,56	67,46
Čips + Mox	70,56	69,39	67,30
Čips + pretoki	70,56	69,96	68,06
Barrique	70,56	68,92	72,73
Barrique + pretoki	70,56	71,14	69,48

Tabela 9: Intenziteta barve med zorenjem poskusnih vin.

Datum vzorčenja	23. 2. 2010	14. 4. 2010	21. 10. 2010
Vzorec	Intenziteta barve (AU)	Intenziteta barve (AU)	Intenziteta barve (AU)
Kontrola	27,86	27,37	22,83
Čips	27,86	27,46	22,50
Čips + Mox	27,86	28,12	24,32
Čips + pretoki	27,86	28,30	23,80
Barrique	27,86	25,89	23,19
Barrique + pretoki	27,86	26,20	23,00

Tabela 10: Ton barve med zorenjem poskusnih vin.

Datum vzorčenja	23. 2. 2010	14. 4. 2010	21. 10. 2010
Vzorec	Ton barve	Ton barve	Ton barve
Kontrola	0,476	0,474	0,538
Čips	0,476	0,474	0,541
Čips + Mox	0,476	0,473	0,545
Čips + pretoki	0,476	0,475	0,540
Barrique	0,476	0,480	0,526
Barrique + pretoki	0,476	0,489	0,523

Tabela 11: Vsebnost skupnih polifenolov med zorenjem poskusnih vin.

Datum vzorčenja	23. 2. 2010	14. 4. 2010	21. 10. 2010
Vzorec	Skupni polifenoli (mg/L (+) katehin)	Skupni polifenoli (mg/L (+) katehin)	Skupni polifenoli (mg/L (+) katehin)
Kontrola	1833	2161	1437
Čips	1833	2273	1446
Čips + Mox	1833	2204	1358
Čips + pretoki	1833	2333	1384
Barrique	1833	2226	1481
Barrique + pretoki	1833	2343	1423

Tabela 12: Vsebnost skupnih antocianov med zorenjem poskusnih vin.

Datum vzorčenja	23. 2. 2010	14. 4. 2010	21. 10. 2010
Vzorec	Skupni antociani (mg/L)	Skupni antociani (mg/L)	Skupni antociani (mg/L)
Kontrola	1177	1120	755
Čips	1177	1105	735
Čips + Mox	1177	1111	752
Čips + pretoki	1177	1116	739
Barrique	1177	1132	788
Barrique + pretoki	1177	1136	772

Tabela 13: Vsebnost nizkomolekularnih proantocianidinov – vanilin indeks med zorenjem poskusnih vin.

Datum vzorčenja	23. 2. 2010	14. 4. 2010	21. 10. 2010
Vzorec	Nizkomolekularni tanini (mg/L (+) katehin)	Nizkomolekularni tanini (mg/L (+) katehin)	Nizkomolekularni tanini (mg/L (+) katehin)
Kontrola	757	1197	704
Čips	757	957	800
Čips + Mox	757	873	504
Čips + pretoki	757	918	663
Barrique	757	1054	672
Barrique + pretoki	757	1003	789

Tabela 14: Vsebnost visokomolekularnih proantocianidinov med zorenjem poskusnih vin.

Datum vzorčenja	23. 2. 2010	14. 4. 2010	21. 10. 2010
Vzorec	Visokomolekularni tanini (mg/L cianidin)	Visokomolekularni tanini (mg/L cianidin)	Visokomolekularni tanini (mg/L cianidin)
Kontrola	1936	1994	1816
Čips	1936	1999	795
Čips + Mox	1936	2030	592
Čips + pretoki	1936	2023	798
Barrique	1936	2100	811
Barrique + pretoki	1936	2097	672

Tabela 15: Ocena kvalitete po 100-točkovnem ocenjevanju 11. 11. 2010, osem degustatorjev.

Vzorci	1	2	3	4	5	6	7	8	Povprečje
Kontrola	77	77	76	77	77	78	78	73	76,6
Čips	77	77	79	79	81	74	82	82	78,9
Čips + Mox	84	75	81	82	83	73	84	86	81,0
Čips + pretoki	81	69	77	73	79	83	78	77	77,1
Barrique	80	74	85	76	83	79	78	85	80,0
Barrique + pretoki	83	88	79	77	76	74	81	80	79,8

Datum: 20.10.2019

TRIANGEL TEST 1 R

Od treh vzorcev vina, sta dva vzorca enaka, eden pa različen. Obkrožit kateri vzorec vina se razlikuje od drugih dveh.

1

2

3

TRIANGEL TEST 2

Od treh vzorcev vina, sta dva vzorca enaka, eden pa različen. Obkrožit kateri vzorec vina se razlikuje od drugih dveh.

1

2 bolj saden

3

TRIANGEL TEST 3

Od treh vzorcev vina, sta dva vzorca enaka, eden pa različen. Obkrožit kateri vzorec vina se razlikuje od drugih dveh.

1

2

3 manj kisline

Slika 27: Primer listka triangel testa (Kavrečič, 2010).

100

2003

Ref: 2

1500 L

0 1 3 5

0 1 3 5

Trgatev Vintage	Tank Tank	Litri Litres	Vonnj / Smell	Nezadovoljivo Unsatisfactory	Zadovoljivo Satisfactory	Dobro Good	Prav dobro Very good	Odlično Excellent
Bistro Limpidity	5	1	Rastinski Vegetal	1	5	5	5	5
Barva Colour	6	2	Zelišni Herbal	2	4	6	8	10
Pristnost, odkritost Genuineness	4	2	Saden Fruity	2	3	4	5	6
Intenzivnost Intensity	6	2	Višnja, češnja Cherry	2	4	6	7	8
Kvaliteta Quality	12	8	Marmalada Marmalade	8	10	12	14	16
Pristnost, odkritost Genuineness	4	2	Suho sadje Dried fruits	2	3	4	5	6
Intenzivnost Intensity	6	2	Vkus / Taste	2	4	6	7	8
Perzistenca Persistence	6	4	Kislo Acid	4	5	6	7	8
Kvaliteta Quality	16	10	Sladko Sweet	10	13	16	19	22
Slošna ocena Overall Judgement	9	7	Generálna ocena Overall Judgement	7	8	9	10	11

Napake / Defects

vinna kislina acidity

ar taint

myces

nek

ašek

Eliminacija / Elimination

pluta cork taint

oksidirano oxidation

acetaldehid acetaldehyde

jabolčna kis. malic acid

Da/Yes

maslo buttery

drugi def. other

H₂S

hyd.sulphi

plesen mould

Ne/No

pluta cork taint

oksidirano oxidation

acetaldehid acetaldehyde

jabolčna kis. malic acid

Harmonija Harmony

Telo Body

74

kompleksnost complexity

potencial potential

2,5

3

Točke Points

74

Datum Date

11.11.10

Ime in priimek Name & Surname

Andrej Lenar

Opomba