

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Simona MATE

KINETIKA IZLOČANJA VINSKEGA KAMNA

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

THE KINETICS OF POTASSIUM HYDROGEN TARTRATE PRECIPITATION

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2008

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Katedri za vinarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, del instrumentalnih analiz pa v laboratorijh Katedre za fizikalno kemijo in Katedre za analizo kemijo na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala doc. dr. Tatjano Košmerl, za recenzenta pa doc. dr. Rajka Vidriha.

mentorica: doc. dr. Tatjana Košmerl

recenzent: doc. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Simona Mate

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 663.256:54-38(043)=863
- KG vino / vinski kamen / kalijev hidrogentartrat / stabilizacija vina / kristalizacija tartratov / indukcijski čas / modelne alkoholne raztopine / električna prevodnost
- AV MATE, Simona
- SA KOŠMERL, Tatjana (mentorica) / VIDRIH, Rajko (recenzent)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška Fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2008
- IN KINETIKA IZLOČANJA VINSKEGA KAMNA
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XI, 56 str., 10 pregl., 30 sl., 5 pril., 34 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AL Kalijev hidrogentartrat (KHT) je naravno prisotna sol v vinih. Če se želimo izogniti pojavu kristalov vinskega kamna v steklenicah, bodisi zaradi transporta ali izpostavljenosti nizkim temperaturam, je vina potrebno stabilizirati. Namen poskusa je bil ugotoviti vpliv različnega prenasíčenja modelnih alkoholnih raztopin ter temperature hladne stabilizacije vina na kinetiko in indukcijski čas kristalizacije kalijevega hidrogentartrata (KHT). Z dodatkom kalijevega hidrogentartrata (2,0; 4,0 in 6,0 g/L) je bila dosežena različna stopnja prenasíčenja raztopin. Meritve smo opravili tudi na osnovnem in prenasíčenih vzorcih belega nestabiliziranega vina pri različnih temperaturnih režimih ohlajanja. Prenasíčenje smo dosegli z dodatkom 0,5, 1,0 in 4,0 g KHT/L v vzorcih vina letnika 2004 oziroma 2,0 g KHT/L v vzorcih mladega vina letnika 2005. Izločanje KHT smo ugotavljali z merjenjem specifične električne prevodnosti in vsebnosti kalija, medtem ko smo modelne alkoholne raztopine in vzorce vina hladili iz 20 °C na 5 °C in segrevali nazaj na 20 °C. Pred in po kristalizacijem eksperimentu smo vzorcem določili tudi vrednost pH in vsebnost titrabilnih kislin. Pri poskusih na modelnih alkoholnih raztopinah prenasíčenih s KHT je v nasprotju s poskusi na vzorcih vina prišlo do večjega obsega izločanja KHT med postopkom hlajenja.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Dn
- DC UDC 663.256:54-38(043)=863
- CX wines / tartrates /potassium hydrogentartrate / wine stabilization / tartrate crystallization / induction period / model water-ethanol solutions / electrical conductivity
- AU MATE, Simona
- AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor) / VIDRIH, Rajko (reviewer)
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2008
- TI THE KINETICS OF POTASSIUM HYDROGEN TARTRATE PRECIPITATION
- DT Graduation thesis (University studies)
- NO XI, 56 p., 10 tab., 30 fig., 5 ann., 34 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Potassium hydrogen tartrate (KHT) is a natural occurring salt in wines, which can crystallize out after bottling, during transportation or at low temperature. This can be unacceptable for some costumers, that is why wine should be necessarilly stabilized before bottling. The effect of temperature, different rate of supersaturation on crystallization (induction period) were investigated. The work was done on model water-ethanol solutions, which were supersaturated by dissolving potassium hydrogen tartrate (2.0; 4.0 and 6.0 g/L). We have also measured the control and oversaturated samples of unstabilized white wines at different temperature regimes of cooling and heating. Oversaturation was achived with addition of KHT at 0.5; 1.0 and 4.0 g/L in wine of vintage 2004 and at 2.0 g/L in young wine of vintage 2005. The precipitation of KHT was investigated by the measurements of specific electrical conductivity and content of potassium ion during the refrigeration proces (cooling from 20 °C to 5 °C and warming back to 20 °C) in model water-ethanol solutions and wines. Before and after crystalization experiment the pH value and content of titratable acids were measured. The experiments on model water-ethanol solutions that were saturated with KHT showed contary to the experiments on wine samples, a precipitation of KHT in a grater extent during the chilling process.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA.....	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA.....	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 VINSKI KAMEN	3
2.1.1 Kalijev hidrogentartrat	4
2.1.2 Kalcijev tartrat.....	5
2.1.3 Rast kristalov in prenasíčenje.....	6
2.1.4 Pufrna kapaciteta	8
2.2 POMEN ELEKTRIČNE PREVODNOSTI PRI DOLOČANJU IZLOČANJA VINSKEGA KAMNA	9
2.3 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA HITROST IZLOČANJA VINSKEGA KAMNA	10
2.3.1 Vpliv zaščitnih koloidov	10
2.3.2 Polisaharidi in polifenoli	11
2.3.3 Beljakovine.....	12
2.3.4 Minerali	12
2.3.5 Vrednost pH, koncentracija alkohola in temperatura.....	13
2.4 POSTOPKI STABILIZACIJE VINA	14
2.4.1 Fizikalna stabilizacija	14
2.4.2 Kemijska stabilizacija	17
2.5 TESTI ZA DOLOČITEV STABILNOSTI VINA NA VINSKI KAMEN (Saint Pierre in sod., 1998).....	19
2.5.1 Test z zmrzovanjem	19
2.5.2 Določanje indeksa tartratne stabilnosti (ITS).....	19
2.5.3 Testi na osnovi temperature prenasíčenja	20
3 MATERIAL IN METODE	22
3.1 NAČRT DELA.....	22
3.2 METODE DELA	22
3.2.1 Določanje vrednosti pH, pufrne kapacitete in titrabilnih kislin	22
3.3 IZVEDBA POSKUSA.....	25
3.3.1 Prvi del eksperimenta	25
3.3.2 Drugi del eksperimenta	25

3.3.3	Tretji del eksperimenta.....	26
4	REZULTATI.....	27
4.1	REZULTATI MERJENJA SPECIFIČNE ELEKTRIČNE PREVODNOSTI IN VSEBNOSTI KALIJA.....	27
4.1.1	Prvi del eksperimenta.....	27
4.1.2	Drugi del eksperimenta.....	33
4.1.3	Tretji del eksperimenta.....	39
4.2	REZULTATI DOLOČANJA VREDNOSTI pH IN SKUPNIH KISLIN.....	43
5	RAZPRAVA.....	47
6	SKLEPI IN POVZETEK.....	49
6.1	SKLEPI.....	49
6.2	POVZETEK.....	50
7	VIRI.....	51
	ZAHVALA.....	54
	PRILOGE.....	55

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Topnost KHT (g KHT/100 mL) v alkoholnih raztopinah (Berg in Keefer, 1958)	5
Preglednica 2:	Testi za razlikovanje med kristali kalijevega hidrogenartrata (KHT) in kalcijevega tartrata (CaT) (Rodež, 1983)	6
Preglednica 3:	Vpliv različnih enoloških postopkov in sredstev na zaščitne koloide (Berta, 1993)	11
Preglednica 4:	Vpliv dodatka kristalov KHT (velikost 40 μm) na koncentracijo vinske kisline (g/L), kalijevega iona (mg/L) in na koncentracijski produkt ($\text{CP} \cdot 10^{-5}$) pri temperaturi 0 °C (Blouin in sod., 1982)	16
Preglednica 5a:	Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija v modelnih alkoholnih raztopinah (AR1–AR6)	24
Preglednica 5b:	Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija v osnovnem vinu (A–D)	24
Preglednica 5c:	Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija v osnovnem vinu (E–F)	24
Preglednica 5d:	Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija v mladem vinu (MV1–MV4)	25
Preglednica 6:	Koncentracije kalija (mg/L) v alkoholni raztopini (12 vol.% EtOH) z različnimi dodatki KHT	28
Preglednica 7:	Koncentracije kalija (mg/L) in električna prevodnost ($\mu\text{S}/\text{cm}$) v raztopinah s 4 g KHT/L in različnimi dodatki etanola	30
Preglednica 8:	Vrednosti pH in koncentracije kalija (mg/L) v vzorcih belega vina (osnovno vino in dodatek treh koncentracij KHT)	33
Preglednica 9:	Koncentracija kalija (mg/L) in električna prevodnost ($\mu\text{S}/\text{cm}$) v vzorcih belega vina z različnimi dodatki KHT	34
Preglednica 10:	Koncentracija kalija (mg/L) in električna prevodnost ($\mu\text{S}/\text{cm}$) v vzorcih A, E in F pri različni hitrosti ohlajanja	37

KAZALO SLIK

Slika 1:	Odvisnost relativne koncentracije disociacijskih oblik vinske kisline od vrednosti pH (Jackson, 2000)	13
Slika 2:	Reakcija poliestifikacije metavinske kisline (Ribéreau-Gayon in sod., 2004)	18
Slika 3:	Strukturna zgradba molekule karboksimetilceluloze (Ribéreau-Gayon in sod., 2004)	18
Slika 4:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR1 (alkoholna raztopina z 12 vol.% etanola, 4 g/L KHT in 2 g/L vinske kisline)	28
Slika 5:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR2 (alkoholna raztopina z 12 vol.% etanola in 4 g/L KHT)	29
Slika 6:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR3 (alkoholna raztopina z 12 vol.% etanola in 2 g/L KHT)	29
Slika 7:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR4 (alkoholna raztopina z 12 vol.% etanola in 6 g/L KHT)	30
Slika 8:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR5 (alkoholna raztopina s 4 g KHT/L in 10 vol.% etanola)	31
Slika 9:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR6 (alkoholna raztopina s 4 g KHT/L in 14 vol.% etanola)	31
Slika 10:	Primerjava časovne odvisnosti električne prevodnosti in temperature alkoholnih raztopin z 12 vol.% etanola in 4 g/L KHT s filtracijo in brez filtracije ter z dodatkom 2 g/L vinske kisline (filtriran)	32
Slika 11:	Primerjava časovne odvisnosti električne prevodnosti in temperature alkoholnih raztopin z 12 vol.% etanola in 4 g/L KHT s filtracijo in brez filtracije ter z dodatkom 2 g/L vinske kisline (filtriran)	33
Slika 12:	Primerjava začetne in končne električne prevodnosti ($\mu\text{S}/\text{cm}$) pri temperaturi 20 °C med vzorci belega vina brez in z različnimi dodatki KHT	34
Slika 13:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v osnovnem vzorcu belega vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 1,5 ure)	35
Slika 14:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu belega vina z dodatkom 0,5 g KHT/L	35
Slika 15:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu belega vina z dodatkom 1,0 g KHT/L	36
Slika 16:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu belega vina z dodatkom 4,0 g KHT/L	36

Slika 17:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v osnovnem vzorcu vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 2 uri)	37
Slika 18:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v osnovnem vzorcu vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 2,5 uri)	38
Slika 19:	Primerjava električne prevodnosti vzorcev belega vina brez dodatka KHT, ki so bili ohlajeni v 100, 120 in 150 minutah	38
Slika 20:	Časovna odvisnost električne prevodnosti vzorca mladega vina sorte chardonnay brez in z dodatkom KHT (2 g/L)	39
Slika 21:	Primerjava koncentracij kalija (mg/L) med vzorcema mladega belega vina brez in z dodatkom KHT pri različnih temperaturah	40
Slika 22:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu mladega vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 1,5 ure)	41
Slika 23:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu mladega vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 2 uri)	41
Slika 24:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu mladega vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 2,5 uri)	42
Slika 25:	Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu mladega vina z dodatkom 2 g KHT/L (trajanje ohlajanja 1,5 ure)	42
Slika 26:	Vrednosti pH vzorcev modelnih alkoholnih raztopin, izmerjene pred in po postopku	43
Slika 27:	Vrednosti pH vzorcev belega vina brez in z različnimi dodatki KHT, izmerjene pred in po postopku merjenja prevodnosti	44
Slika 28:	Vrednosti pH vzorcev mladega vina brez in z dodatkom KHT, izmerjene pred in po postopku merjenja prevodnosti	45
Slika 29:	Vsebnosti titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) belega vina brez in z dodatki KHT, izmerjene pred in po postopku merjenja prevodnosti	45
Slika 30:	Vsebnosti titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) mladega belega vina, izmerjene pred in po postopku merjenja prevodnosti	46

KAZALO PRILOG

Priloga A:	Vsebnosti kalija v vzorcih modelnih alkoholnih raztopin z 12 vol.% etanola in z dodatki različnih koncentracij KHT pri različnih temperaturah	54
Priloga B:	Vsebnosti kalija v vzorcih modelnih alkoholnih raztopin s 4 g KHT/L in z dodatki različnih koncentracij etanola pri različnih temperaturah	54
Priloga C:	Vsebnosti kalija v vzorcih belega vina letnika 2004 z dodatki različnih koncentracij KHT pri različnih temperaturah	55
Priloga D:	Vsebnosti kalija v vzorcih belega vina letnika 2004, hlajenih v različnih časovnih režimih na določeno temperaturo	55
Priloga E:	Vsebnosti kalija v vzorcih mladega belega vina letnika 2005, hlajenih v različnih časovnih režimih na določeno temperaturo	56

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

χ – specifična električna prevodnost

[H₂T] – koncentracija vinske kisline

[HT⁻] – koncentracija kalijevega hidrogenartrata iona

[K⁺] – koncentracija kalijevega iona

alk. razt., AR – alkoholna raztopina

B – konstanta celice

CaT – kalcijev hidrogenartrat

CP – koncentracijski produkt

h – ura

ITS – indeks tartratne stabilnosti vina

K₀ – prevodnost pri referenčni temperaturi

KHT – kalijev hidrogenartrat

kITS – kritični indeks tartratne stabilnosti vina

konc. – koncentracija

K_{SP} – topnostni produkt

K_t – prevodnost pri določeni temperaturi

l – razdalja med elektrodama

min – minuta

R – upornost celice

S – Siemens

S_e – presek elektrod

T₀ – referenčna temperatura

T_{CS} – temperatura kristalizacije

T_{sat} – temperatura prenasičenja

T_t – merjena temperatura

vz. – vzorec

α – delež HT⁻ ionov pri danih pogojih

α_0 – temperaturni koeficient spremembe prevodnosti pri referenčni temperaturi

ρ – specifična upornost

1 UVOD

Motnost in/ali usedlina vina je pojav, ki povzroča enologom in kletarjem nemalo preglavic. S preprečevanjem motnosti vin so se in se še ukvarjajo mnogi znanstveniki in praktiki. Neprijetno, nestrokovno in neekonomično je, če vino v steklenici postane motno, čeprav je bilo ob polnjenju kristalno čisto. Za pridobitev kakovostnih vin se porabi mnogo časa, materiala in dela ter ob nepravilnem tretiranju vina se vsi elementi dela izničijo, če ga predhodno ne stabiliziramo. Motno vino po stekleničenju izgubi svojo kakovost in ekonomsko vrednost.

Vzroki motnosti in usedline oz kristalizacije so zelo različni. Največkrat jo povzročajo:

- železove spojine,
- alkoholna in jabolčno-mlečnokislinska fermentacija,
- termolabilne beljakovine,
- vinski kamen.

Pojav usedline vinskega kamna pri vinih z naravno kemijsko sestavo je neizogiben. Stabilizacija vinskega kamna je zato pomemben enološki ukrep. Vinski kamen – kalijev hidrogentartrat – se izloča v steklenicah, če ležijo v prehladni kleti, če jih prevažamo ob hladnem vremenu in zaradi visoke stopnje alkohola. Posebno rad se izloča v vinu, ki je bilo razkisano, rezano z drugim vinom ali modro čiščeno, pa po teh postopkih ni odležalo, da bi oddalo sestavine, ki ne sodijo v novo nastalo harmonijo.

Po fizikalno-kemijskih zakonih je topnost tartratov v alkoholni raztopini odvisna od koncentracij kalija, kalcija in vinske kisline ter temperature. Ob prenasičenju raztopine se del soli izloči. Pri vinu je seveda ta proces bolj kompliciran, ker na kristalizacijo vinskega kamna vplivajo še druge sestavine vina, skratka na izločanje kamna vpliva vsakokratna kemijska sestava vina.

Dokler se izločajo čisti kristali kalijevega hidrogentartrata, ne vplivajo v večji meri na kakovost vina in njegovo senzorično vrednost. Slabše pa je, če se dodatno vežejo z beljakovinami ali celo s taninskimi snovmi, kar lahko znatno pokvari okus, predvsem pa videz vina.

1.1 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je bil ugotoviti vpliv različnih hitrosti ohlajanja na temperaturno odvisnost izločanja, kinetiko in indukcijski čas kristalizacije kalijevega hidrogentartrata (KHT) v nestabiliziranih belih vinih. Predvidevali smo, da spreminjanje temperature med eksperimentom vpliva na prenasičenje, na indukcijski čas in na prevodnost raztopine. Indukcijski čas smo spremljali z merjenjem električne prevodnosti prenasičenih alkoholnih raztopin. Poskus smo izvedli na modelnih alkoholnih raztopinah, prenasičenih s KHT in nato še na realnem vzorcu nestabilnega vina (osnovno vino), saj je kinetika v vinu precej drugačna in odvisna predvsem od njegove fizikalno-kemijske sestave.

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Domnevamo, da vplivajo različne hitrosti ohlajanja, vol.% etanola, temperatura hlajenja in stopnja prenasičenja na indukcijski čas kristalizacije prenasičenih alkoholnih raztopin in vina. Modelnim alkoholnim raztopinam z 12 vol.% etanola (EtOH) smo dodali različne količine KHT (2,0; 4,0; 6,0 g/L) ter raztopini s 4 g KHT/L dodali različne koncentracije etanola (10; 12; 14 vol.% EtOH). Vzorce osnovnega vina smo tudi ohlajali iz sobne temperature (20 °C) na 5 °C različen čas (1,5; 2,0; 2,5 h). Dodatek KHT naj bi skrajšal indukcijski čas kristalizacije. Na osnovi dobljenih rezultatov bomo lahko sklepali na časovni potek stabilizacije vina na izločanje vinskega kamna pri različnih temperaturah.

2 PREGLED OBJAV

2.1 VINSKI KAMEN

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

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

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

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

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

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

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

Dvojni kalij-kalcijev tartrat ter kalcijev tartaromalat tvorita slabo topno oborino pri pH nad 4,5. Se pa razlikujeta glede topnosti, saj je dvojni kalijev in kalcijev tartrat bolj topen, medtem ko je kalcijev tartaromat relativno netopen in kristalizira v obliki igel. Ta mešana sol se lahko

uporabi za odstranitev jabolčne kisline, bodisi delno, bodisi v celoti. Največ težav glede izločanja kristalov v vino pa povzročata kalijev hidrogentartrat (KHT) in kalcijev tartrat (CaT) (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).

Izločanje kristalov soli vinske kisline ali tartratov v vinu je odvisno od številnih dejavnikov, zlasti od: vsebnosti kalija in vinske kisline, koncentracije alkohola, pH, prisotnosti inhibitorjev (zaščitni koloidi), vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta, notranjega ravnotežja in zunanjih vplivov, kot so temperatura, UV svetloba in tresenje (Rodež, 1983).

Možnosti stabilizacije vina na vinski kamen je več, a med njimi so najpogosteje v uporabi fizikalne metode, kot so stabilizacija s hlajenjem, uporaba ionskih izmenjevalcev, obratna ali reverzna osmoza in membranska elektroliza. Kemijske tehnike se poslužujejo dodatka zaščitnih koloidov, metavinske kisline in karboksimetilceluloze, a jih uporabljajo redkeje, saj se časa stabilnosti ne da vnaprej napovedati, poleg tega je vprašljiv predvsem poseg v kemijsko sestavo vina (Bolčina, 2002).

2.1.1 Kalijev hidrogentartrat

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

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

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

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

v kateri pomeni $[\text{K}^+]$ koncentracijo K^+ ionov v vinu pri danih pogojih v molih, $[\text{HT}^-]$ koncentracijo hidrogentartratnih ionov v vinu pri danih pogojih v molih, $[\text{H}_2\text{T}]$ celokupno koncentracijo vinske kisline pri danih pogojih v molih in α delež HT^- ionov pri danih pogojih, ki je odvisen od konstant disociacije vinske kisline in od pH vina.

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

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

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

Iz preglednice 1 je razvidno, da je KHT topen v vodi in slabo topen v alkoholu. Topnost KHT je večja pri višji temperaturi.

2.1.2 Kalcijev tartrat

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

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

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

Optično se kristali CaT ločijo od kristalov KHT. Pod mikroskopom jih vidimo kot velika prozorna romboidna telesa z gladkimi površinami ter ravnimi in ostro začrtanimi robovi. Se ne združujejo, ampak rastejo v večje prosojne kristale (Rodež, 1983).

Preglednica 2: Testi za razlikovanje med kristali kalijevega hidrogenatratata (KHT) in kalcijevega tartrata (CaT) (Rodež, 1983)

Test	KHT	CaT
dodatek H ₂ SO ₄	raztapljanje kristalov	snežno bela barva kristalov
spiranje z vodo	kiselkast okus	brez okusa
plamenska reakcija	vijoličast plamen	oranžno rdeč plamen

2.1.3 Rast kristalov in prenasičenje

Proces kristalizacije se odvija v treh stopnjah (Košmerl in sod., 2003):

- nukleacija – nastanek jeder,
- rast kristalov,
- sekundarne spremembe, ki so posledica aglomeracije, staranja kristalov in rekristalizacije.

Poznanih je več vrst nukleacije. Spontana ali primarna nukleacija se pojavlja v raztopini, prenasičeni s KHT, kjer so razlog za začetek kalijevi in hidrogenatratni ioni. Vzrok za sekundarno nukleacijo so lahko delci KHT – homogena nukleacija, ali kristali tujega izvora, ki le pospešijo začetek kristalizacije KHT – heterogena nukleacija (Dunsford in Boulton, 1981). Takoj po nastanku prvih nukleusov se prične rast kristalov, ki poteka v dveh stopnjah. V prvi stopnji gre prehod (difuzija) delcev iz raztopine na površino nukleusov, pri čemer morajo delci preiti mirujočo plast tekočine ob površini nukleusa. Stopnja prehoda je linearno odvisna od difuzijskega koeficienta (**D**), površine kristala (**A**) in stopnje prenasičenja (**C-C***) in obratno sorazmerna od debeline plasti tekočine ob površini (**δ**), kar prikazuje relacija 2 (Dunsford in Boulton, 1981).

$$-\frac{ds}{dt} = \frac{k_D \cdot D \cdot A \cdot (C - C^*)}{\delta} \quad (2)$$

V drugi stopnji gre predsem za integracijo delcev na površino kristala. Po transportu delcev na površino se ne vključijo takoj v mrežo kristala, ampak se še nekaj časa prosto gibljejo po površini, vse dokler ne pride do aktivne rasti kristala – relacija 3. (Dunsford in Boulton, 1981).

$$-\frac{ds}{dt} = k_S \cdot A \cdot (C - C^*)^n \quad (3)$$

V relaciji 3 pomeni **k_S** koeficient površinske integracije in **n** red reakcije na površini kristala, katerega vrednost se giblje od 2 do 5.

Kinetiko nastanka nukleusov najlažje določimo z merjenjem indukcijskega časa. To je čas, ki poteče od vzpostavitve prenasičenja do prve spremembe fizikalnih lastnosti raztopine, ki so posledica nastanka nove faze. V splošnem lahko razdelimo čas indukcije na tri medsebojno povezane časovne dele (Košmerl in sod., 2003):

- čas, ki je potreben za preureditev strukture raztopine;
- čas, ki je potreben za formiranje skupkov ionskih parov;
- čas, ki je potreben za razvoj teh skupkov do jeder vidne velikosti.

Indukcijski čas lahko določimo s spremljanjem pojava vidne motnosti, spremembe prevodnosti, itd. Indukcijski čas (t_{ind}) je torej vsota časa, ki poteče do nastanka nukleusa (t_i) in časa, ki poteče, da nastane do velikosti, ki jo lahko zaznamo z izbrano metodo merjenja (t_g) (Košmerl in sod., 2003).

$$t_{ind} = t_i + t_g \quad (4)$$

Iz relacije 4 je razvidno, da ločimo tri različne primere, ki lahko nastopijo pri eksperimentalnem določanju časa indukcije (Košmerl in sod., 2003):

- čas, ki poteče do nastanka kritičnega nukleusa, je mnogo daljši od časa rasti nukleusa do vidne velikosti: $t_i > t_g$
- čas, ki poteče do nastanka kritičnega nukleusa, je mnogo krajši od časa rasti nukleusa do vidne velikosti: $t_i < t_g$
- časa sta približno enaka: $t_i \approx t_g$

Glede na potek kristalizacije sklepamo, da gre v primeru alkoholnih raztopin in vina za indukcijski čas, kjer je $t_i > t_g$.

Relacija (5) opisuje odvisnost t_{ind} od stopnje prenasičenja in temperature (Košmerl in sod., 2003):

$$\log t_{ind} = \frac{B}{T^3 \cdot (\log S)^2} - A \quad (5)$$

V relaciji 5 pomenijo: **A** in **B** empirični konstanti, ki sta odvisno od pogojev eksperimenta, **T** temperaturo, pri kateri poteka eksperiment in **S** stopnjo prenasičenja pri pogojih eksperimenta.

Obseg kristalizacije je odvisen od stopnje prenasičenja in temperature. Mošt je že med stiskanjem v stanju prenasičenja. Kdaj bo prišlo do izločanja kristalov, je odvisno predvsem notranjega ravnotežja, alkoholne stopnje, pH, prisotnosti inhibitorjev in temperature. V stanju prenasičenja se tvorijo kristali, ki vodijo v sedimentacijo (Bolčina, 2002).

Berg in Keefer sta 1958 na modelu raztopin voda/alkohol opisala topnost KHT pri različnih temperaturah in koncentracijah alkohola (preglednica 1). Topnost KHT v vodnih raztopinah je odvisna le od temperature in vsebnosti alkohola, toda v vinu je določitev topnostnega produkta dosti bolj kompleksna, saj je topnost poleg temperature in stopnje alkohola odvisna še od vrednosti pH, ionskih moči in prisotnosti ostalih raztopljenih snovi (Racman, 2001).

Za določitev koncentracijskega produkta KHT v vinu so potrebni podatki o vrednosti pH, vsebnosti alkohola in skupne vinske kisline, na podlagi katerih določimo iz ustreznih tabel vrednost HT^- (%). Iz teh podatkov z relacijo 6 izračunamo koncentracijski produkt **CP** (mol^2/L^2) (Berg in Keefer, 1958):

$$CP = c_{K^+} \cdot c_{H_2T} \cdot \left(\frac{HT^-}{100} \right) \quad (6)$$

kjer pomeni: c_{K^+} koncentracijo kalijevega iona (mol/L), c_{H_2T} koncentracijo vinske kisline (mol/L) in HT^- delež hidrogenartrata iona (%).

Količino **KHT** (g/L) izračunamo z relacijo 7 (Berg in Keefer, 1958):

$$\text{KHT} = \text{CP}^{\frac{1}{2}} \cdot 188,177 \quad (7)$$

Na podlagi izračunane količine **KHT** v vinu in količine **KHT** v prenasičenju pri dani temperaturi, izračunamo preko relativnega prenasičenja (δ) stopnjo prenasičenja (**S**), ki je bistvena za potek kristalizacije:

Velikost prenasičenja podajamo kot (Košmerl in Francetič, 2002):

$$\text{relativno prenasičenje: } \delta = \frac{c - c_0}{c_0} = \frac{\Delta c}{c_0} \quad (8)$$

$$\text{stopnjo prenasičenja: } S = \frac{c}{c_0} \quad (9)$$

V relacijah 8 in 9 pomenita **c** trenutno izmerjeno molsko koncentracijo (mol/L) in **c₀** ravnotežno molsko koncentracijo (mol/L).

2.1.4 Pufrna kapaciteta

Pufrna kapaciteta povečuje fizikalno-kemijsko in mikrobiološko stabilnost vina. Definiramo jo kot množino H_3O^+ ali OH^- ionov, ki jih moramo dodati enemu litru vzorca, da se njegova vrednost pH spremeni za eno enoto. Opiše nam lastnost vina ali mošta, kako se njegova vrednost pH ob dodatku kisline ali baze spremeni in jo lahko ocenimo na osnovi vsebnosti posameznih kislin in konstante disociacije posamezne kisline. Definiramo jo z relacijo 10 (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

$$\beta = \frac{\Delta B}{\Delta \text{pH}} = 2,303 \cdot \frac{[\text{HA}] \cdot [\text{A}^-]}{[\text{HA}] + [\text{A}^-]} \quad (10)$$

V relaciji 10 pomenijo β pufarno kapaciteto; ΔpH spremembo vrednosti pH zaradi dodatka močne baze (ΔB); $[\text{HA}]$ koncentracijo kisline in $[\text{A}^-]$ koncentracijo aniona kisline.

Podatek o pufni kapaciteti je nujno potreben pri razkisu ali dokisu vina, da se izognemo nepotrebnim ekstremnim vrednostim pH. V primerjavi z moštom ima vino višjo vrednost pH, zato se raje poslužujemo posegov glede kislin šele v vinu. Dodatek vinske kisline poveča pufarno kapaciteto, tako lahko pričakujemo, da se le-ta med stabilizacijo vina na vinski kamen zmanjša (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

2.2 POMEN ELEKTRIČNE PREVODNOSTI PRI DOLOČANJU IZLOČANJA VINSKEGA KAMNA

Električna prevodnost je sposobnost raztopine, da prevaja električni tok. Je obratno sorazmerna upornosti raztopine. Wurdig in Muller (1980) sta prva začela obravnavati vino kot elektrolit oziroma kot prevodno raztopino in ocenila izločanje vinskega kamna s pomočjo merjenja električne prevodnosti. Med samim izločanjem vinskega kamna preide kalijev hidrogentartrat kot prevodnik električnega toka iz raztopljenega, ioniziranega stanja v kristalizirano stanje, ko se izloči in ni več vključen v reakcije električne prevodnosti (relacija 11):



Princip merjenja prevodnosti je osnovan na nastanku električnega privlaka med elektrodama znotraj vina in v geometričnem smislu definiran kot razdalja **1** med obema platinastima elektrodama s presekom S_e . Upornost **R** (v Ohmih) celice, ki si jo predstavljamo med obema elektrodama lahko podamo z relacijo 12, ki velja za prevodne žice (Ribéreau-Gayon in sod., 2004):

$$R = \rho \cdot \left(\frac{1}{S_e} \right) \quad (12)$$

V relaciji 12 pomeni ρ specifično upornost raztopine, ki je obratno sorazmerna specifični električni prevodnosti (χ , $\mu\text{S}/\text{cm}$). Specifična upornost $\rho = R \cdot (S_e/l)$ obsega izraz S_e/l , znan tudi kot konstanta celice **B** (relacija 13). Ta konstanta je značilna za vsako celico posebej in se lahko nekoliko spreminja med dolgotrajno uporabo zaradi izrabe elektrod (Ribéreau-Gayon in sod., 2004).

$$\rho = \frac{1}{\chi} = R \cdot \frac{S_e}{l} = R \cdot B \quad (13)$$

Če vzorcu vina dodamo fino zmlate kristale KHT (10 g/L), se nanje med hlajenjem vežejo ioni kalija in vinske kisline. Zaradi vezave kalijevih ionov se posledično zmanjšuje prevodnost vzorca. Ves čas med postopkom hlajenja vzorec mešamo in merimo spreminjanje električne prevodnosti, vse dokler ne dosežemo konstantne vrednosti. Ko je končna prevodnost manjša od začetne za manj kot 5 %, smatramo vzorec kot stabilen. Vzorci, ki uspešno opravijo omenjeni test, so stabilni le pri temperaturi testa in višjih temperaturah. V praksi se opravlja test za bela vina pri 0 °C, za rdeča vina pa pri 4–5 °C. Vsekakor izberemo najnižjo temperaturo, ki je nižja od temperature vina po stekleničenju (Zoecklein, 1988).

Na rezultate testa lahko vplivajo tudi druge raztopljene snovi v vinu. Pomembna je stalna temperatura med testom, saj sta temperatura in prevodnost linearno sorazmerna (Zoecklein, 1988).

2.3 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA HITROST IZLOČANJA VINSKEGA KAMNA

2.3.1 Vpliv zaščitnih koloidov

Koloidi so delci oziroma molekule velikosti 10^{-9} – 10^{-6} m. Lahko hidrofilnega ali hidrofobnega značaja. Med slednje štejemo predvsem agregate molekul kristalinične strukture, barvne koloidne spojine in sedimente, ki lahko zaradi svoje nestabilnosti pomembno vplivajo na kristalizacijo (Bolčina, 2002).

Kristali KHT vsebujejo aktivna mesta, kamor se vežejo ioni in s tem povzročijo rast kristalov. Prav tako se lahko na ta mesta vežejo tudi zaščitni koloidi, sestavljeni iz polisaharidnih, beljakovinskih in glikoproteinskih polimerov, kvasnega ali grozdnega izvora, ter s tem vplivajo na rast kristalov le do določene mere. Najučinkovitejši so koloidi z molekulsko maso 1000 kDa. Znani inhibitorji kristalizacije so pektini in drugi polisaharidi, kot je glukan iz grozdja, okuženega s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* (Zoecklein, 1988). Pri doseganju stabilnosti se v vinarstvu uporabljajo manani kvasovk, galaktani, arabani, gumiarabika, škrob, dekstran in karboksimetilceluloza (Bolčina, 2002).

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

Z grobimi obdelavami, kot je tangencialna mikrofiltracija, povzročimo spremembe koloidne sestavine vina, kar vodi v večjo nestabilnost. Koncentracija naravno prisotnih zaščitnih koloidov in njihov vpliv v vinih je različen. Njihova količina je odvisna od tehnoloških postopkov med predelavo grozdja in pridelavo vina. Postopki bistrenja in filtracije zmanjšajo, dodatki koloidnih sestavin pa povečajo vpliv zaščitnih koloidov (Bolčina, 2002).

Preglednica 3: Vpliv različnih enoloških postopkov in sredstev na zaščitne koloide (Berta, 1993)

Uporabljen postopek	Količina (g/hL)	Koloidni vpliv (°C)	ΔT_s , glede na vzorec (°C)
ultrafiltracija	–	0,0	–7,0
čiščenje z bentonitom	30	4,0	–3,0
filtracija 0,22 μm	–	5,1	–1,9
čiščenje z aktivnim ogljem	30	5,4	–1,6
toplotni izmenjevalec	–	5,5	–1,5
čiščenje s tanin/želatina	6/3	6,1	–0,9
vzorec belega vina	–	7,0	0,0
pektin	25	7,0	0,0
dekstran	25	7,0	0,0
gumiarabika	10	7,0	0,0
	25	8,5	+1,5
manan	25	10,0	+3,0
pepton	25	11,5	+4,5
tanin	25	14,9	+7,9
metavinska kislina	4	16,7	+9,7
	25	18,0	+11,0
karboksimetilceluloza	25	18,0	+11,0

Legenda:

Koloidni vpliv = temperatura, pri kateri pride do nasičenja vina s KHT; ΔT_s = sprememba temperature nasičenja

2.3.2 Polisaharidi in polifenoli

Poleg kalijevega hidrogentartrat zasledimo v vinskem kamnu tudi kalcij v sledovih, polisaharide in fenolne kisline. Največji delež polisaharidov predstavlja ramnogalakturonan I, ki zaradi visoke gostote negativnega naboja kaže največjo tendenco do adsorpcije na površino kristalov KHT (elektrostatske privlačne sile z močno pozitivno naelektreno površino zaradi ionov K^+). V manjših količinah so prisotni še araban, arabinogalaktan, manoproteini kvasovk in ramnogalakturonan II (Vernhet in sod., 1999).

Fenolne kisline, prisotne v kristalih vinskega kamna, so identificirane kot kaftarna, kutarna in 2-S-glutationil kaftarna kislina (vse tri predstavljajo estre vinske kisline). Poleg fenolnih kislin se z ioni kalija in hidrogentartrata vežejo tanini, zaradi česar se kristalizacija v rdečih vinih pojavi kasneje. Skupaj s polisaharidi kažejo inhibitorne učinke na rast vinskega kamna in odstranitev le-teh med ultra- ali mikrofiltracijo povzroči pospešeno rast kristalov. To je tudi eden izmed razlogov uporabe ultra- ali mikrofiltracije, saj na ta način skrajšamo čas, ki je potreben za hladno stabilizacijo (Bolčina, 2002).

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

Polisaharidi so sestavni del odmrlih kvasnih celic, ki so lahko droži. Prispevajo direktno k senzorični zaznavi strukture vina (zaokroženost, volumen ali polnost, dolžina pookusa, obstojnost ali perzistenca, obloženost, gladkost, prijetnost, sladkost). Fizikalni efekt koloidne mreže se kaže v upočasnitvi ali celo preprečitvi reakcij kristalizacije vinskega kamna, medtem ko je glavni kemijski efekt vezava s tanini, barvili in hlapnimi aromatičnimi snovmi v stabilne komplekse, ki niso več razpoložljivi za reakcije polimerizacije in posledično usedanje (Delteil, 2005).

2.3.3 Beljakovine

Bela vina so v primerjavi z rdečimi bogatejša na beljakovinah, zato je njihov vpliv na izločanje KHT v belih vinih večji. Beljakovine se zaradi pozitivnega naboja vežejo na negativno naelektrjen hidrogen tartrate ione in s tem upočasnijo rast kristalov (Zoecklein, 2002).

Med oksidacijo vina se fenolne spojine polimerizirajo in se vežejo na beljakovine. Uporaba bentonita za odpravljanje motnosti poleg beljakovin odstrani tudi fenolne spojine in s tem pripomore k hitrejšemu procesu kristalizacije (Zoecklein, 2002).

2.3.4 Minerali

Prisotnost magnezija, kalcija in železa poveča hitrost kristalizacije, medtem ko ima prisotnost natrija obraten učinek (Koch in Schiller, 1964). Dodatek kalija ali kalcija v vino se odraža v manjši stabilnosti vina na izločanje vinskega kamna (Rankine, 1998). Zaradi večje vsebnosti kalijevih in kalcijevih ionov v vinu se torej vinski kamen hitreje izloči.

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

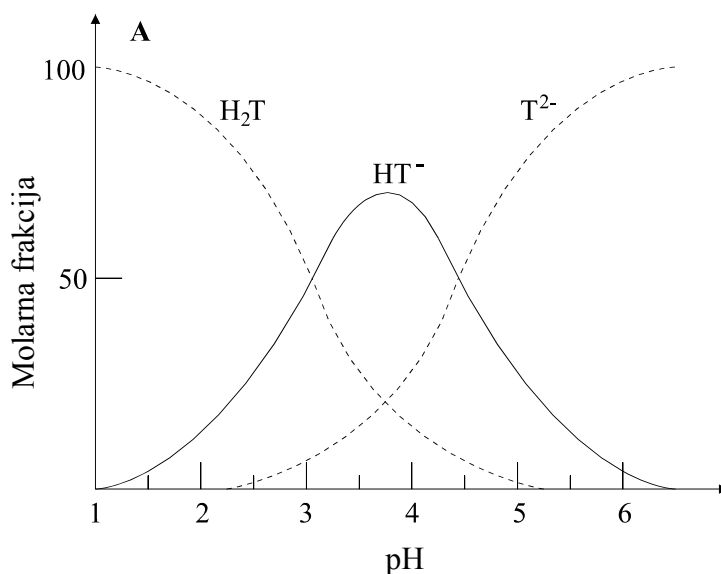
Kalij predstavlja 40 % vseh mineralov v vinu. Velik del kalija (50–80 %) se v vinu nahaja v ionski obliki, preostali del (20–50 %) je vezan na tartrate, hidrogen tartrat, sulfate in barvila. Količina kalija v vinu je odvisna od mnogih dejavnikov, od katerih so najpomembnejši: sorta grozdja, vrsta podlage, geoklimatske razmere, gnojenje, vzgojna oblika, čas trgatve, način pridelave, temperatura fermentacije, čas in pogoji skladiščenja, vrednost pH, uporaba enoloških sredstev in alkoholna stopnja vina. Rdeča vina vsebujejo v primerjavi z belimi več kalija, kar je posledica različnih tehnoloških postopkov pridelave – maceracije rdeče drozge, med katero pride do popolnejše ekstrakcije kalija iz jagodne kožice, ki vsebuje kar 30–40 % kalija celotne jagodne kožice (Bolčina, 2002).

Od količine kalija je odvisno ravnotežje kislin v moštu, barva, potek fermentacije in pH. Poleg poznavanja pH, vsebnosti tartrata in alkoholne stopnje, je količina kalija pomemben podatek pri napovedi stabilnosti na vinski kamen (Bolčina, 2002).

2.3.5 Vrednost pH, koncentracija alkohola in temperatura

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

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



Slika 1: Odvisnost relativne koncentracije disociacijskih oblik vinske kisline od vrednosti pH (Jackson, 2000)

Različne stopnje disociacije vinske kisline so v vinu v stalnem ravnotežju – relaciji 14 in 15 (Racman, 2001):



Pri vrednosti pH 3,7 je količina hidrogenatratnega iona v vinu največja (slika 1), kar pomeni, da bo pri tem pH topnost KHT najmanjša in izločanje kristalov najučinkovitejše (Zoecklein, 1988).

Topnost KHT v vodi pri 20 °C je 4,92 g/L, nad to vrednostjo sledi izločanje kristalov. Prisotnost alkohola to vrednost še zmanjša, npr.: v 12,5 vol.% alkoholni raztopini pade topnost KHT na 2,70 g/L. Prav tako pada topnost KHT z nižanjem temperature, kar s pridom uporabljamo kot postopek stabilizacije na vinski kamen (Radovanović, 1986).

Zanimiv vpliv na izločanje KHT ima uporaba visoke temperature, ki se je včasih uporabljala kot postopek pasterizacije in za odpravljanje beljakovinske motnosti. V vinu, ki je bilo podvrženo tako visokim temperaturam, pri ponovnem ohlajanju na 0 °C ne pride do kristalizacije. Razlog za ta pojav je popolno raztapljanje mikrokristalov pri tako visokih temperaturah in zaradi manjkajoče indukcijske faze je potek kristalizacije nemogoč. Takoj ko v takšno vino dodamo drobno zmlete kristale KHT poteče kristalizacija, saj na ta način preskočimo indukcijsko fazo formacije jeder (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

2.4 POSTOPKI STABILIZACIJE VINA

2.4.1 Fizikalna stabilizacija

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

HLADNA STABILIZACIJA

Princip tega postopka je z znižanjem temperature doseči zmanjšanje topnosti in posledično izločanje kristalov KHT. Je tradicionalna in hkrati za male vinarje najbolj primerna metoda. Vino izpostavimo za nekaj dni temperaturam blizu zmrzišča. Temperaturo, potrebno za učinkovit postopek stabilizacije, lahko izračunamo z enačbo 16 (Perin, 1977):

$$T_t = - \left[\left(\frac{\text{alkohol}}{2} \right) - 1 \right] \quad (16)$$

kjer pomenita: T_t – delovno temperaturo (°C) in **alkohol** volumski delež alkohola (vol.%).

Čas, v katerem dosežemo stabilnost vina na izločanje vinskega kamna, je za rdeča vina daljši kot za bela. Prav tako je potrebno daljše hlajenje in nižje temperature (−7,2 °C do −9,4 °C) za desertna vina, saj so le-ta alkoholno močnejša. Večino vin hladimo na temperaturi −4 °C, toda moramo biti previdni, da ne pride do pojava ledenih kristalov. Pozornost je potrebno posvečati tudi stalni temperaturi, saj temperaturno nihanje upočasni rast kristalov. V najslabšem primeru sploh ne pride do nastanka jeder, brez njih pa kristalizacija ne poteče (Jackson, 2000).

Bela vina držimo na izračunani temperaturi od 8 do 10 dni, pri rdečih vinih je za dosego stabilnosti vina potrebno hlajenje nekaj tednov (Blouin in sod., 1982). Med postopkom hlajenja moramo biti pozorni na določene dejavnike, ki pomembno prispevajo k uspešni stabilizaciji (Šikovec, 1993; Radovanović, 1986):

- vino moramo pred postopkom hlajenja filtrirati,
- hlajenje vina naj poteče čim hitreje; hitrejša kot je ohladitev, tem večji je učinek
- z mešanjem pospešimo kristalizacijo, poleg tega s tem enakomerno porazdelimo mraz in preprečimo nastanek ledu na stenah posode,
- najugodnejši čas za hlajenje je po prvem pretoku, kasneje bi lahko vplivali na aromo in okus,

- vino mora po ponovnem dvigu temperature odležati nekaj dni zaradi povečanja prostornine vina; za rdeča vina z oksidiranimi polifenoli in bela z veliko vsebnostjo beljakovin je potrebno odležanje podaljšati do 20 dni,
- priporočljivo je spremljanje količine SO₂ zaradi oksidirajočega učinka hlajenja.

Po končanem postopku stabilizacije je potrebno stabilizirano vino še pred ponovnim dvigom temperature filtrirati ali centrifugirati, da odstranimo kristale KHT. Problem, ki se pojavlja pri tej tehniki stabilizacije je, da se lahko kljub pravilnemu poteku stabilizacije v steklenici še vedno naknadno izloči vinski kamen, kar je posledica koloidno raztopljenih in polimeriziranih snovi v vinu (fenoli, barvila, beljakovine, kovine), ki med postopkom stabilizacije deluje inhibitorno na rast kristalov, a se izločijo kasneje v steklenicah. Vsekakor pa je metoda primerna za vina z manjšo vsebnostjo oksidiranih in polimeriziranih polifenolov in beljakovin (Šikovec, 1993).

Stabilizacija s hlajenjem lahko tudi negativno vplivajo na same senzorične lastnosti vina. Pri mladih vinih se le-te sicer izboljšajo, toda pri enoletnih vinih je zaradi zmanjšanja količine sladkorja prostega ekstrakta, količine pepela (zmanjša se za 0,6–0,72 g/L) in njegove alkalitete prizadeta cvetica. Ugotovljeno je, da se pri znižanju vinske kisline za 1 g/L, kar odgovarja 1,25 g vinskega kamna, zmanjša količina ekstrakta za 1,8 g/L, kar predstavlja v povprečju približno 10 %. Posledica ohlajevanja vina je lahko tudi rahla oksidacija vina, kar ima za posledico hitrejšo staranje in temnejšo barvo vina. Počasna stabilizacija je lahko tudi razlog za manj intenzivno barvo rdečih in belih vin (Rodež, 1983).

DODATEK KRISTALOV

Izkušnje kažejo, da je z dodatkom fino zmletih kristalov KHT proces stabilizacije s hlajenjem krajši in učinkovitejši. S tem dodatkom vzpostavimo v raztopini prenasičeno stanje. Primarno, počasno kristalizacijo, s katero se srečujemo pri klasični stabilizaciji s hlajenjem, nadomesti hitra homogena sekundarna nukleacija. Na ta način skrajšamo ali celo preskočimo energetsko zelo zahtevno fazo nastanka nukleosov, zaradi česar se rast kristalov lahko v trenutku začne (Dunsford in Boulton, 1981).

Ob hitrem padcu temperature se pojavijo majhna endogena jedra, ki povečajo notranjo površino (**A**), kar poveča hitrost difuzije hidrogenatratnih in kalijevih ionov k jedru in samo hitrost rasti kristalov (Dunsford in Boulton, 1981).

$$\frac{dm}{dt} = K_d \cdot A \cdot (C - C^*) \quad (17)$$

V relaciji 17 pomenijo: **dm/dt** hitrost rasti kristalov, **K_d** difuzijski koeficient, **A** površino kristala in **(C–C*)** stopnjo prenasičenja.

Za doseganje stabilnosti vina zadostuje že 4 g/L kristalov KHT, vendar je učinkovitost postopka odvisna tudi od velikosti uporabljenih kristalov, pri čemer moramo upoštevati, da je v primeru uporabe večjih kristalov kontaktni čas temu primerno daljši. Večja kot je površina kristalov, ki je na voljo vezavi prostih ionov, hitrejša je izločanje KHT, zato je stalno mešanje med procesom zelo priporočljivo. Izločanje KHT se sicer pojavi pri katerikoli temperaturi, a priporočljiva je tista, pod katero se temperatura skladiščenja vina ne bo spustila. Bela vina najpogosteje ohladimo na 0 °C, rdeča pa na 4–5 °C. Prvo uro po dodatku kristalov se močno

zmanjšata koncentraciji kalija in vinske kisline, nakar se v naslednjih urah proces kristalizacije upočasni in po treh urah naj bi bil končan. V primeru uporabe kristalov reda velikosti 40 μm , je stabilizacija dosežena v 90 minutah (Zoecklein, 2002).

Preglednica 4: Vpliv dodatka kristalov KHT (velikost 40 μm) na koncentracijo vinske kisline (g/L), kalijevega iona (mg/L) in na koncentracijski produkt ($\text{CP} \cdot 10^{-5}$) pri temperaturi 0 °C (Blouin in sod., 1982)

Količina dodanih kristalov (g/L)	Vinska kislina (g/L)	K⁺ (mg/L)	CP ($\cdot 10^{-5}$)
0	1,58	920	15,1
1	1,11	908	9,3
2	1,03	794	8,5
3	0,93	765	7,6
8	0,78	754	6,2

Iz preglednice 4 lahko razberemo, da se pri dodatku večje količine kristalov kalijevega hidrogenatratata (velikost 40 μm) vinu zmanjšuje vsebnost vinske kisline (g/L), prav tako koncentracija kalija (mg/L) in zniža se koncentracijski produkt.

IONSKA IZMENJAVA

Postopek sloni na izmenjavi nestabilnih kationov in anionov z drugimi stabilnimi ioni. S pomočjo kationskih izmenjevalcev zamenjamo ione kalija in kalcija s kationi natrija in magnezija, ki tvorijo z vinsko kislino bolj topne soli. Za doseg absolutno stabilnega vina je potrebno 450 g/L izmenjevalca. Vsebnost vinske kisline znižujemo s pomočjo anionskih izmenjevalcev, kjer aktivno skupino predstavljajo OH⁻ ioni (Jackson, 2000).

Zaradi velikega vpliva na kemijsko sestavo vina je uporaba ionske izmenjave v večini držav prepovedana. S kationskimi izmenjevalci (magnezijev klorid, natrijev klorid) vnašamo v vino prevelike količine natrija, problem uporabe anionskih izmenjevalcev pa je predvsem v zmanjšanju kislosti vina. Največjo tendenco do izmenjave imajo tribazne kisline, kot so fosforna in citronska in šele nato pridejo na vrsto dvobazne, to sta vinska in jabolčna kislina. S to tehniko stabilizacije vina odstranimo 45 % vinske kisline, 23 % jabolčne kisline, 23 % mlečne kisline in 9 % lahkih kislin. Takšno razmerje je bolj ali manj stalno, tako da lahko predvidimo, za koliko se bodo zmanjšala skupna kislost vina. V vinu z majhno vsebnostjo kislin lahko to predstavlja velik problem, saj je vpliv na senzorične lastnosti precejšen (Jackson, 2000).

ELEKTRODIALIZA

Elektrodializa je fizikalni postopek, pri katerem odstranimo ione kalija in vinske kisline iz vina s transportom skozi posebno selektivno membrano v izplakovano tekočino (voda). Transport ionov je posledica delovanja električne energije, ki nastane zaradi različne koncentracije elektronov med obema raztopinama (Cameira dos Santos in sod., 2002).

Za razliko od ionske izmenjave poteče izmenjava anionov in kationov istočasno v enem samem procesu. Uporaba elektrodialize ne vpliva na senzorično sliko vina. Predhodna

filtracija vina ni potrebna, na koncu postopka pa je dosežena absolutna stabilnost vina (Cameira dos Santos in sod., 2002).

OBRATNA ALI REVERZNA OSMOZA

Obratna osmoza je proces prehajanja tekočine med dvema raztopinama z različno koncentracijo preko polprepustne membrane in sicer v nasprotni smeri koncentracijskega gradienta. Na ta način izženemo iz vina vodo ali alkohol. S tem povečamo koncentracijo ostalih ekstraktnih snovi v vinu, med njimi sta tudi kalij in vinska kislina. Dosežemo stanje prenasičenosti povzroči, da se izkristalizira vinski kamen. Po filtraciji, s katero odstranimo vinski kamen, sledi ponovno združevanje vina z vodo ali alkoholom (Jackson, 2000).

Posledica uporabe obratne osmoze je zmanjšanje skupnih kislin, vrednost pH, pepela in ekstrakta, toda manj kot pri stabilizaciji s hlajenjem (Jackson, 2000).

2.4.2 Kemijska stabilizacija

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

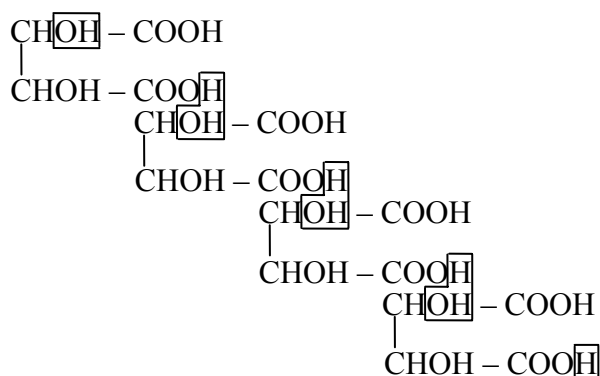
METAVINSKA KISLINA

Metavinska kislina je poliester D-vinske kisline, pridobljene s topljenjem vinske kisline pri 170 °C, pri čemer se vzpostavi esterska vez med hidroksilno in acilno skupino. Njena kakovost je odvisna od stopnje esterifikacije. Najboljša je kislina z indeksom esterifikacije 36–40 %. Je edini dovoljen aditiv kot inhibitor kristalizacije, saj na samo kemijsko sestavo vina vpliva le toliko, da vsebuje metavinsko kislino, ki pa se med ležanjem vina pretvori nazaj v vinsko kislino (Radovanović, 1986).

Mehanizem njenega delovanja je adsorbcija metavinske kisline na kristale tartrata tako, da se vključi v skelet kristalov tartrata in s tem prepreči rast kristalov. Zadostuje dodatek do 10 g metavinske kisline na 1 hL vina. Dosegljiva je v obliki prahu ali kristalov, ki jih moramo pred uporabo raztopiti v hladni vodi, da preprečimo njeno hidrolizo (Radovanović, 1986). Delovanje metavinske kisline v vinu je časovno omejeno in odvisno od temperature skladiščenja vina, nato pa ponovno hidrolizira v vinsko kislino (Košmerl in Francetič, 2002).

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

- 12 °C: več kot 2 leti
- 18 °C: 1 leto
- 20 °C: 3 mesece
- 25 °C: 1 mesec
- 30 °C: 1 teden
- 35–40 °C: nekaj ur

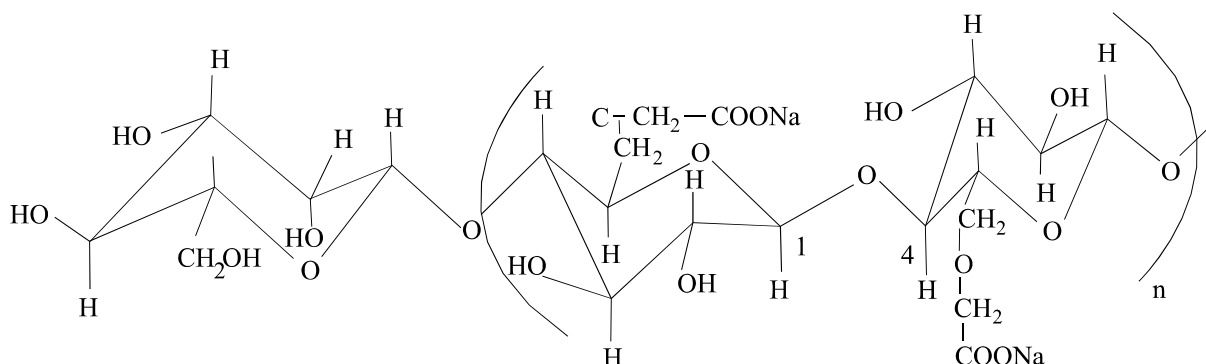


Slika 2: Reakcija poliesterifikacije metavninske kisline (Ribéreau-Gayon in sod., 2004)

KARBOKSIMETILCELULOZA

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

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



Slika 3: Strukturna zgradba molekule karboksimetilceluloze (Ribéreau-Gayon in sod., 2004)

MANOPROTEINI

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

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

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

Vina, ki ležijo na kvasovkah dalj časa (*sur lies* metoda), vsebujejo večje količine manoproteinov in kažejo večjo stabilnost na izločanje vinskega kamna (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Mehanizem delovanja manoproteinov na kristale KHT je podoben kot pri dodajanju karboksimetilceluloze, s to razliko, da je delovanje manj intenzivno, učinkuje pa dlje časa. Manoproteine pridobijo s toplotno ali encimsko ekstrakcijo (encima β -(1-3) in β -(1-6)-glukanaze) celičnih sten kvasovk. Obstaja pa značilna razlika v učinkovitosti manoproteinov, pridobljenih po teh dveh postopkih ekstrakcije. Encimsko obdelava kvasnih celic nam da dosti bolj učinkovite manoproteine in količina, ki je potrebna za stabilizacijo vina se giblje okoli 25 g/hL. Za doseg stabilnosti s toplotno pridobljenimi manoproteini so potrebne večje količine (Bolčina, 2002).

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

2.5.1 Test z zmrzovanjem

Temperatura in čas hlajenja vina (npr. v zamrzovalniku) sta odvisna od tipa vina oziroma od vsebnosti etanola in reducirajočih sladkorjev. Več kot je alkohola in sladkorjev v vinu, nižja mora biti temperatura stabilizacije, vendar spet ne prenizka, da vino ne zmrzne v led. Štiri dni hlajenja pri 0 °C zadostuje za suho vino, medtem ko je šest dni pri temperaturi -8 °C potrebnih pri naravnem sladkem vinu, da se bodo pojavili kristali. Ta test je enostaven, cenen, vendar je dolgotrajen in ni povsem zanesljiv.

2.5.2 Določanje indeksa tartratne stabilnosti (ITS)

V šest vzorcev enakega, predhodno filtriranega vina (100 mL), dodamo naraščajoče koncentracije KHT v količinah 0–125 mg KHT, s po 25 mg razlike v dodatku. Do raztapljanja KHT pride s pomočjo mešanja in segrevanja na 35 °C. Nato se izvrši hladni postopek, kjer se

vino ohladi iz 35 °C na –5 °C v 90 minutah, nakar se 4 ure ohranja pri tej temperaturi –5 °C; sledi dvig temperature na 10 °C v 30 minutah.

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

Primerjalno z referenčnimi vzorci stabiliziranih vin se določi kritični indeks stabilnosti (kITS), ki omogoča oceno o stabilnosti testiranih vin. Če je ITS večji od kITS, se vino oceni kot stabilno glede na referenčne kriterije. Ta test je relativno kompliciran, dovolj zanesljiv, a zelo dolg.

2.5.3 Testi na osnovi temperature prenasičenja

Wurdigov test

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

Test optimizirane temperature prenasičenja

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

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

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

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

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

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

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

Mini kontaktni testi

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

Muller- Späthov test: Vzorec vina z dodatkom 4 g KHT/L držimo 2 uri pri temperaturi 0 °C ob stalnem mešanju. Po filtraciji hladnega vina lahko ocenimo povečanje mase tartratov (vsota dodanih zunanjih in naravnih-vinskih tartratov). Druga možnost je, da raztopimo izločene kristale v znani količini tople vode in izmerimo povečanje kislosti. Primerjamo vzorce brez dodatka tartratov z vzorcem, v katerega smo dodali 4 g KHT/L. Ta test je relativno enostaven, srednje zanesljiv in relativno dolgotrajen.

Vialattov test: V vino dodamo 10 g kristalov KHT/L in ga 10 minut hladno stabiliziramo pri 0 °C. Istočasno merimo električno prevodnost v odvisnosti od časa. Padec prevodnosti za manj kot 5 % pomeni, da je vino še dovolj stabilno. Ta test je relativno enostaven, srednje zanesljiv in relativno kratek.

Test na osnovi analitskih meritev

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

IZRAČUN KONCENTRACIJSKEGA PRODUKTA

Razmerje med ioni kalija in vinske kisline lahko kvantitativno izrazimo s koncentracijskim produktom (CP), ki smo ga že predhodno opisali z relacijo 6 (Berg in Keefer, 1958):

$$CP = c_{K^+} \cdot c_{H_2T} \cdot \left(\frac{HT^-}{100} \right) \quad (6)$$

Berg in Keefer (1958) sta na podlagi modelnih alkoholnih raztopin izračunala topnost KHT pri določeni temperaturi in koncentraciji alkohola (alkoholni stopnji). V vinu, ki ga želimo stabilizirati, je potrebno določiti količino kalijevih ionov, skupnih kislin, vrednost pH in koncentracijo alkohola. Na podlagi teh podatkov izračunamo koncentracijski produkt in iz tabel odčitamo topnost KHT pri dani temperaturi in alkoholu. Kadar koncentracijski produkt prekorači topnostni produkt, se začne izločati KHT. Vino je stabilno, kadar je izračunani koncentracijski produkt nižji od topnosti (Zoecklein, 1988).

IZRAČUN TEMPERATURE PRENASIČENJA

Izračun temelji na podlagi raziskav mnogih vin in se je izkazal kot zelo zanesljiv. Vinu izmerimo električno prevodnost pred in po dodatku 4 g KHT/L in izračunamo temperaturo prenasičenja (T_p), ki je različna za bela in rdeča vina – relaciji 18 in 19:

$$\text{- bela vina (Wurdig in sod., 1982): } T_p = 20 - \frac{(\Delta L)_{20^\circ C}}{29,3} \quad (18)$$

$$\text{- rdeča vina (Maujean in sod., 1985): } T_p = 29,91 - \frac{(\Delta L)_{30^\circ C}}{58,30} \quad (19)$$

V relacijah 18 in 19 pomenita: T_p temperaturo prenasičenja in ΔL spremembo električne prevodnosti pri dani temperaturi.

Stabilnost vina je dosežena, če velja (Gaillard in sod., 1990):

- bela vina: $T_p < 12,5^\circ C$

- rdeča vina: $T_p > (10,81 + 0,297 \cdot IPT)^\circ C$, kjer **IPT** pomeni indeks skupnih polifenolov.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 NAČRT DELA

Namen poskusa je bil ugotoviti vpliv različnih koncentracij etanola, stopnje prenasičenja ter temperature hlajenja na indukcijski čas in kinetiko kristalizacije vinskega kamna v modelnih prenasičenih alkoholnih raztopina. Vzorcem vodnih raztopin z 12 vol.% alkohola smo dodali kalijev hidrogentartrat (2,0 g/L, 4,0 g/L in 6 g/L) in s tem dosegli različne stopnje prenasičenja. Prav tako smo raztopini s 4 g KHT/L dodali različne koncentracije etanola, in sicer 10 vol.%, 12 vol.% in 14 vol.%. Indukcijski čas smo določali z merjenjem specifične električne prevodnosti raztopin. Poskuse smo opravili tudi na realnih vzorcih belega vina, nestabiliziranih na izločanje vinskega kamna.

3.2 METODE DELA

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

3.2.1 Določanje vrednosti pH, pufrne kapacitete in titrabilnih kislin

Vrednost pH, pufrno kapaciteto ter vsebnost titrabilnih kislin smo določali s potenciometrično metodo, ki temelji na merjenju razlike v potencialu med obema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija H_3O^+ ionov v raztopini. Uporabili smo pH meter (Mettler Toledo DL50 Graphix) s kombinirano stekleno elektrodo Mettler Toledo DG 114-SG s skalo v pH enotah. Točnost meritev aparata mora biti najmanj $\pm 0,05$ pH enot. Pred merjenjem pH vzorcev umerimo pH meter pri delovni temperaturi s pufrnima raztopinama s pH 4,0 in 7,02 (dvotočkovna kalibracija). Po umerjanju aparata preverimo pH standardne raztopine, ki je pri 20 °C točno 3,57 (Košmerl in Kač, 2007). Vse tri parametre smo določali pred in po glavnem poskusu, pri katerem smo vino hladili ob istočasnem merjenju prevodnosti. Vse meritve smo opravili v štirih paralelkah.

Določanje vrednosti pH

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

Določanje titrabilnih kislin

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



Masno koncentracijo skupnih in titrabilnih kislin izračunamo po računski zvezi in izražamo v g vinske kisline/L (Ough in Amerine, 1988).

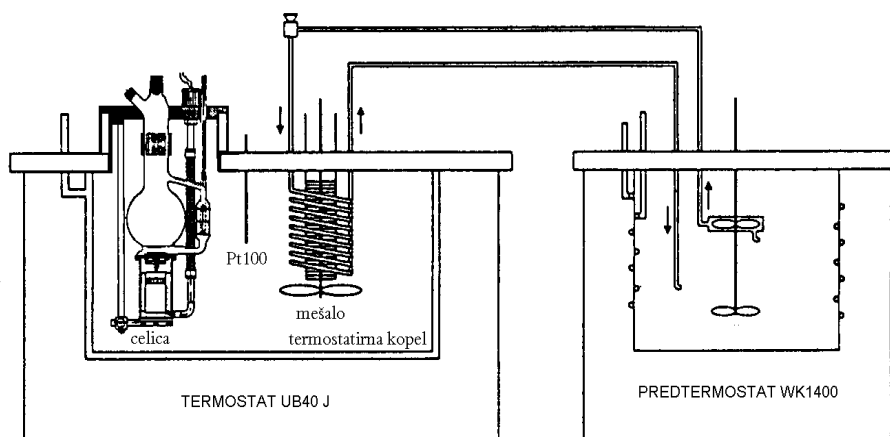
Določanje dejanske pufrne kapacitete

Pufna kapaciteta je definirana kot množina H_3O^+ in OH^- ionov, ki jih moramo dodati 1 L vzorca, da se njegova vrednost pH spremeni za eno enoto. Pufna kapaciteta je funkcija pH. V moštu ali vinu, ki sta v bistvu raztopini različnih šibkih organskih kislin, lahko pufrno kapaciteto, ki je aditivna lastnost, ocenimo na osnovi vsebnosti vsake posamezne kisline in konstante disociacije (vsebnost pK_a) vsake kisline.

Iz podatkov o pH in točnih volumnih dodatnega titranta (0,1 M raztopina NaOH in 0,1 M raztopina HCl) narišemo krivuljo pufrne kapacitete ter izračunamo enačbi premice ob dodajanju baze in ob dodajanju kisline, s katerima določimo dejansko pufrno kapaciteto vzorca, kot vsoto bazične in kislinske pufrne kapacitete. Podatek o pufrni kapaciteti je pomemben za razumevanje sprememb pH mošta ali vina (Košmerl in Kač, 2007).

Merjenje specifične električne prevodnosti

Med samim eksperimentom smo merili specifično električno prevodnost (χ , $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). Za merjenje prevodnosti raztopin smo uporabili konduktometer (Iskra MA 5964) s celico HEK 1213 ($\text{CC} = 0,578 \text{ cm}^{-1}$).



Merjenje prevodnosti nam pove, kolikšna je vsebnost vseh ionov v raztopini. Merjenje ni ionsko specifično, kar pomeni, da nam ne pove, koliko vsakega tipa ionov prispeva k prevodnosti raztopine. Prevodnost raztopine se z naraščajočo temperaturo povečuje in obratno se z nižanjem temperature zmanjšuje. Stopnjo naraščanja definira koeficient K_t v relaciji (21) – (Racman, 2001):

$$K_t = K_0 \cdot (1 + \alpha_0 \cdot (T_t - T_0)) \quad (21)$$

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

Temperaturna odvisnost prevodnosti je za vsako raztopino različna. Navadno je ta sprememba $2\%/^{\circ}\text{C}$ (Racman, 2001).

Določanje kalija

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

Iz preglednic 5a–5d je razvidno, da smo odvzeli skupno 64 vzorcev za določanje kalija.

Preglednica 5a: Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija v modelnih alkoholnih raztopinah (AR1–AR6)

Oznaka modelnih alkoholnih raztopin	Oznaka vzorcev za določanje kalija pri različnih časih in temperaturah			
	0 min (20,0 °C)	100 min (5,4 °C)	130 min (4,7 °C)	240 min (20,1 °C)
AR1	1	2	3	4
AR2	5	6	7	8
AR3	9	10	11	12
AR4	13	14	15	16
AR5	17	18	19	20
AR6	21	22	23	24

Legenda:

AR1: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 4 g KHT/L, 2 g vinske kisline/L

AR2: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 4 g KHT/L

AR3: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 2 g KHT/L

AR4: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 6 g KHT/L

AR5: alkoholna raztopina; 10 vol.% EtOH, 4 g KHT/L

AR6: alkoholna raztopina; 14 vol.% EtOH, 4 g KHT/L

Preglednica 5b: Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija v osnovnem vinu (A–D)

Oznaka osnovnega vina	Oznaka vzorca za določanje kalija pri različnih časih in temperaturah			
	0 min (20,1 °C)	100 min (5,3 °C)	130 min (4,8 °C)	240 min (20,2 °C)
A (+0 g KHT/L)	25	26	27	28
B (+0,5 g KHT/L)	33	34	35	36
C (+1,0 g KHT/L)	29	30	31	32
D (+4,0 g KHT/L)	37	38	39	40

Legenda:

A: vzorec vina + 0 g KHT/L (časovni režim: 90/30/60/60 min)

B: vzorec vina + 0,5 g KHT/L (časovni režim: 90/30/60/60 min)

C: vzorec vina + 1,0 g KHT/L (časovni režim: 90/30/60/60 min)

D: vzorec vina + 4,0 g KHT/L (časovni režim: 90/30/60/60 min)

Preglednica 5c: Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija v osnovnem vinu (E–F)

Oznaka osnovnega vina	Oznaka vzorca za določanje kalija pri različnih časih in temperaturah				
	0 min (20,0 °C)	120 min (5,5 °C)	150 min (5,1 °C)	180 min (4,9 °C)	240 min (20,2 °C)
E (+0 g KHT/L)	41	42	43 (4,9 °C)	–	44
F (+0 g KHT/L)	45	–	46 (5,2 °C)	47	48

Legenda:

E: vzorec vina + 0 g KHT/L (časovni režim: 120/30/60/30 min)

F: vzorec vina + 0 g KHT/L (časovni režim: 150/30/30/30 min)

Preglednica 5d: Oštevilčenje vzorcev za določanje kalija v mladem vinu (MV1–MV4)

Oznaka mladega vina	Oznaka vzorca za določanje kalija pri različnih časih in temperaturah					
	0 min (20,1 °C)	90 min (5,3 °C)	120 min (5,0 °C)	150 min (5,2 °C)	180 min (5,0 °C)	240 min (20,2 °C)
MV1	49	50	51	–	–	52
MV2	53	–	54	55	–	56
MV3	57	–	–	58	59	60
MV4	61	62	63	–	–	64

Legenda:

MV1: mlado vino + 0 g KHT/L (časovni režim: 1,5 h/30 min/1,0 h/1 h)

MV2: mlado vino + 0 g KHT/L (časovni režimi: 2,0 h/ 30 min/1 h/30 min)

MV3: mlado vino + 0 g KHT/L (časovni režimi: 2,5 h/30 min/30 min/30 min)

MV4: mlado vino + 2 g KHT/L (časovni režimi: 1,5 h/30 min/1 h/1 h)

3.3 IZVEDBA POSKUSA

Poskus smo izvedli v treh eksperimentalnih delih, v okviru katerih smo s konduktometrom merili prevodnost na vsakih pet minut, v okviru skupnega časa ohlajanja in segrevanja vzorca 240 minut (4 ure).

3.3.1 Prvi del eksperimenta

Vzorci modelnih alkoholnih raztopin smo med samim merjenjem hladili z naslednjim temperaturnim režimom. Začetna temperatura je bila 20 °C, ki se je med merjenjem linearno zniževala približno 1,5 ure do končne temperature (T_k) 5 °C. Ko smo dosegli $T_k = 5$ °C, smo vzorce na tej temperaturi premešali (1 minuto) in vzdrževali enako temperaturo še 0,5 ure, potem pa smo vzorce spet segreli nazaj na začetno temperaturo 20 °C. Med ohlajanjem in segrevanjem vzorca smo neprekinjeno merili prevodnost.

Odvzem modelnih alkoholnih raztopin in vzorcev za določanje kalija je potekal v času merjenja prevodnosti.

$t = 0$; $T = 20$ °C

$t = 100$ minut; $T = 5$ °C (po enominutnem mešanju)

$t = 130$ minut; $T = 5$ °C

$t = 240$ minut; $T = 20$ °C

Prvi vzorec za določanja kalija smo odvzeli ob samem začetku merjenja prevodnosti pri temperaturi 20 °C. Drugega smo odvzeli po 100 minutah, ko je bila dosežena temperatura 5 °C. Temperaturo 5 °C smo vzdrževali 30 minut in nato odvzeli tretji vzorec. Zadnji odvzem (četrti) smo naredili po skupaj 240 minutah, ko se je temperatura vrnila na 20 °C.

3.3.2 Drugi del eksperimenta

Za vzorke belega vina letnika 2004 smo uporabili različne časovne režime oz. tri različne hitrosti ohlajanja: 1,5; 2,0 in 2,5 ure. Iz začetne temperature 20 °C smo vzorec ohladili na končno temperaturo okrog 5 °C, v času 1,5; 2,0 in 2,5 ure (vzorci AEF). Pri hlajenju v 1,5 h

smo imeli vzorce vina brez in z dodatkom 0,5 g KHT/L, 1,0 g KHT/L in 4 g KHT/L (vzorci ABCD).

3.3.3 Tretji del eksperimenta

Za vzorke mladega belega vina letnika 2005 smo prav tako uporabili tri različne hitrosti ohlajanja: 1,5; 2,0 in 2,5 ure (vzorci MV1, MV2 in MV3). Pri hlajenju v 1,5 h smo imeli vzorce vina brez in z dodatkom 2 g KHT/L (vzorca MV1 in MV4).

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI MERJENJA SPECIFIČNE ELEKTRIČNE PREVODNOSTI IN VSEBNOSTI KALIJA

4.1.1 Prvi del eksperimenta

Na slikah 4-9 so prikazane časovne odvisnosti električne prevodnosti in vsebnosti kalija med postopkom hlajenja in segrevanja pri vzorcih modelnih alkoholnih raztopin. Vse vzorce modelnih alkoholnih raztopin smo ohladili iz 20 °C na 5 °C v 100 minutah. Ko je dosegel termostat 5 °C smo raztopino mešali 1 minuto in pustili na temperaturi 5 °C nadaljnjih 30 minut. Nato smo raztopino ogreli nazaj na 20 °C v času 1 ure in pustili pri tej temperaturi še dodatno eno uro. Na vseh slikah se vidi, kako padajo prevodnosti zaradi hlajenja, saj je prevodnost odvisna od temperature. Zaradi zniževanja temperature se namreč zmanjša kinetična energija ionov v raztopini in to se odraža v manjših vrednostih prevodnosti. Vse slike nam tudi nazorno pokažejo, kako se prevodnosti ustalijo pri temperaturi 5 °C, to je v trenutku, ko smo temperaturo vzdrževali 30 minut. Po nadaljnjem segrevanju do temperature 20 °C se je prevodnost spet povečevala in se nato ustalila.

Pripravili smo 6 vzorcev modelnih alkoholnih raztopin, in sicer:

AR1: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 4 g KHT /L, 2 g vinske kisline/L

AR2: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 4 g KHT /L

AR3: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 2 g KHT /L

AR4: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 6 g KHT /L

AR5: alkoholna raztopina; 10 vol.% EtOH, 4 g KHT /L

AR6: alkoholna raztopina; 14 vol.% EtOH, 4 g KHT /L

Pred začetkom merjenja prevodnosti smo komponente zmešali in prefiltrirali skozi dvoslojni grob filtrirni papir. Takoj na začetku merjenja prevodnosti smo odvzeli vzorec za določanje koncentracije kalija, ki smo ga shranili v epici. Z merjenjem koncentracije kalija smo pred, med in po poskusu želeli izvedeti, kakšne so vsebnosti kalija v posameznih vzorcih in kako se le-te spreminjajo zaradi morebitnega izločanja vinskega kamna. V primeru, da bi se vinski kamen izločal, bi pričakovali manjše vsebnosti kalija predvsem po hlajenju.

Odvzem vzorcev za določanje kalija je potekal v času merjenja prevodnosti v štirih časovnih intervalih za vsak vzorec posebej :

$t = 0$; $T_1 \approx 20,0$ °C

$t = 100$ min; $T_2 \approx 5,4$ °C

$t = 130$ min; $T_3 \approx 4,7$ °C

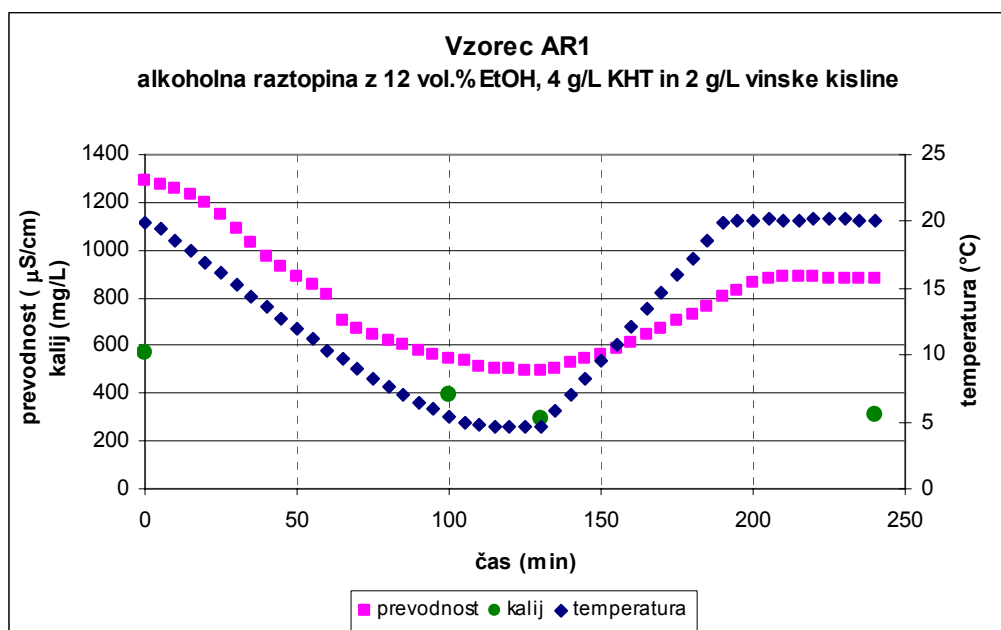
$t = 240$ min; $T_4 \approx 20,1$ °C

Koncentracije kalija v vzorcih AR2, AR3 in AR4 so se povprečno zmanjšale za približno 100 mg/L (preglednica 6), kar kaže na izločanje kalija v obliki vinskega kamna.

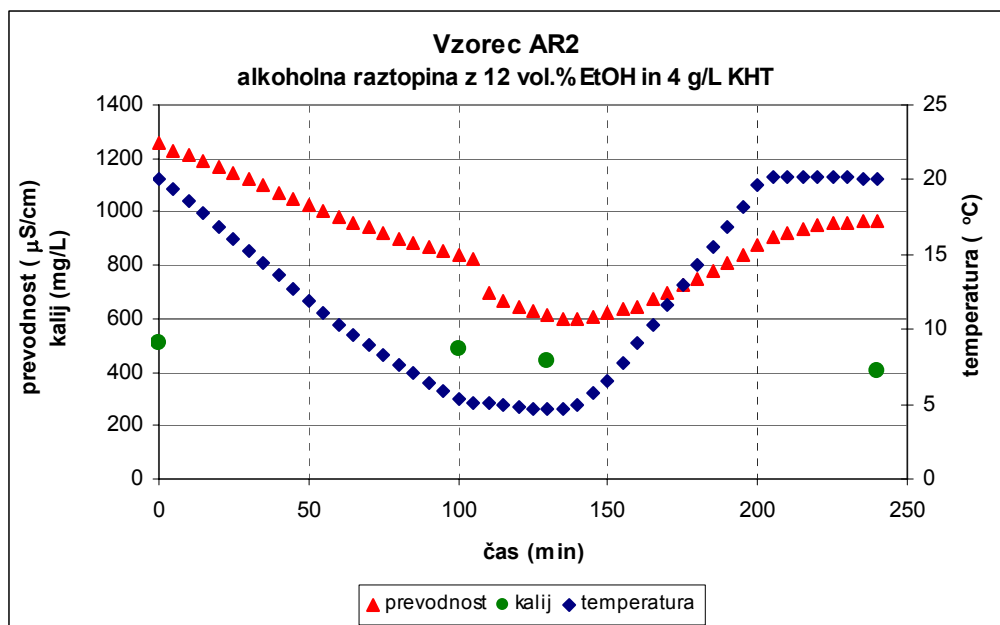
Preglednica 6: Koncentracije kalija (mg/L) v alkoholni raztopini (12 vol.% EtOH) z različnimi dodatki KHT

T (°C)	t (min)	2 g KHT/L		4 g KHT/L		6 g KHT/L	
		K (mg/L)	χ ($\mu\text{S/cm}$)	K (mg/L)	χ ($\mu\text{S/cm}$)	K (mg/L)	χ ($\mu\text{S/cm}$)
19,98	0	397,9	750,7	507,3	1258,0	533,6	1120,0
5,37	100	260,3	491,0	486,0	835,1	468,6	732,5
4,68	130	294,7	474,3	443,4	616,7	468,6	608,1
20,13	240	294,7	747,8	400,8	963,1	416,5	961,7
razlika (začetna-končna vrednost)		103,2	2,9	106,5	294,9	117,1	158,3

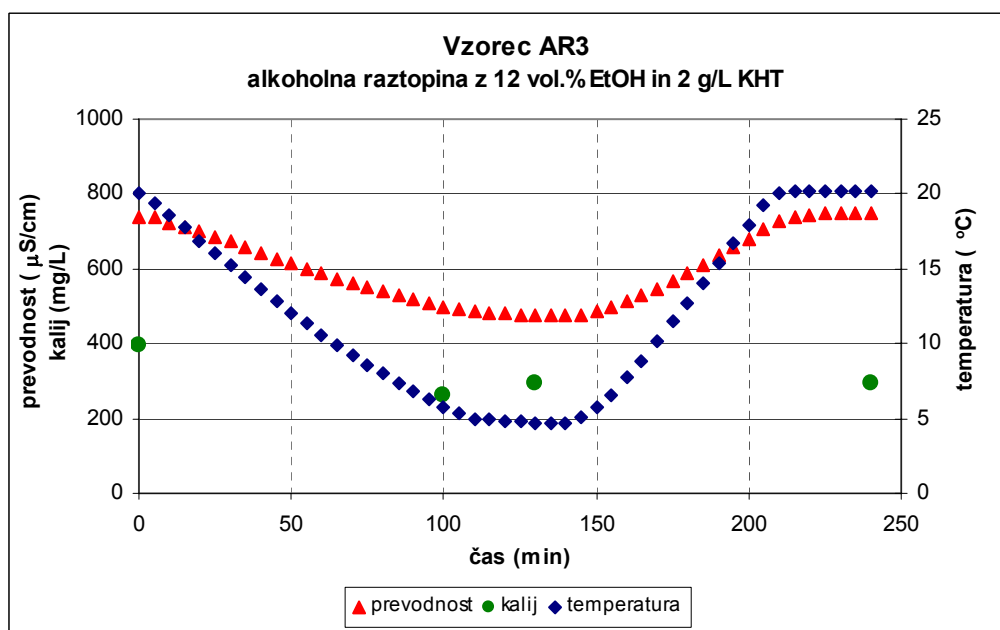
Slike 4-7 prikazujejo meritve prevodnosti in vsebnosti kalija v modelnih alkoholnih raztopinah, ki smo jih pripravili z 12 vol.% etanola in različnimi dodatki kalijevega hidrogenartrata (2, 4 in 6 g/L). Vzorcju AR1 smo dodali še vinsko kislino. V tem vzorcju smo opazili najhitrejše izločanje KHT, in sicer po eni uri. Krivulja nam kaže hitro znižanje prevodnosti iz 820 na 700 $\mu\text{S/cm}$ pri 10 °C (slika 4). Prav tako se na krivulji vzorca AR2 (slika 5) lepo vidi po premešanju pri 100 minutah in 5 °C velik preskok prevodnosti oziroma izločanje KHT.



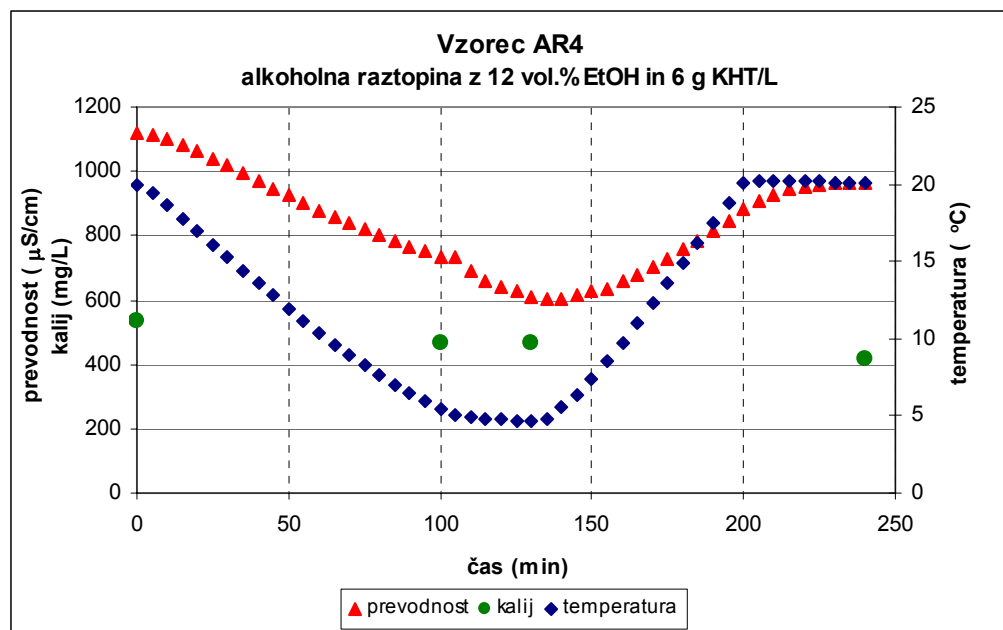
Slika 4: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR1 (alkoholna raztopina z 12 vol.% etanola, 4 g/L KHT in 2 g/L vinske kisline)



Slika 5: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR2 (alkoholna raztopina z 12 vol.% etanola in 4 g/L KHT)



Slika 6: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR3 (alkoholna raztopina z 12 vol.% etanola in 2 g/L KHT)



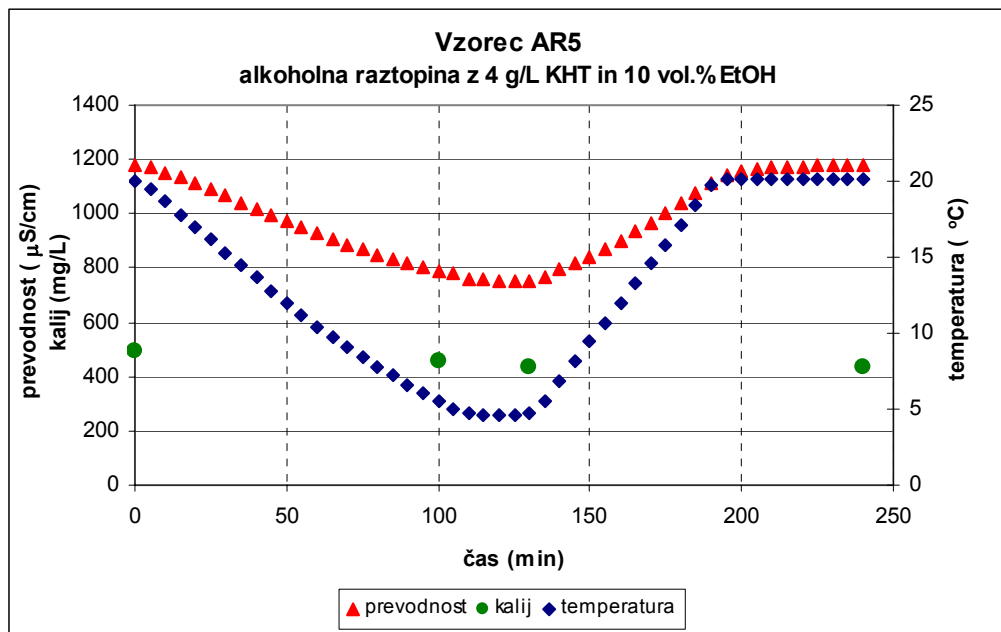
Slika 7: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR4 (alkoholna raztopina z 12 vol.% etanola in 6 g/L KHT)

Sliki 8 in 9 prikazujeta meritve prevodnosti in vsebnosti kalija v modelnih alkoholnih raztopinah z 10 vol.% etanola in 14 vol.% etanola, ki smo jim dodali kalijev hidrogenetartrat (4 g KHT/L). Koncentracija kalija v vzorcih AR5 in AR6 se je povprečno zmanjšala za približno 50 mg/L, iz 490 mg/L na 440 mg/L (preglednica 7).

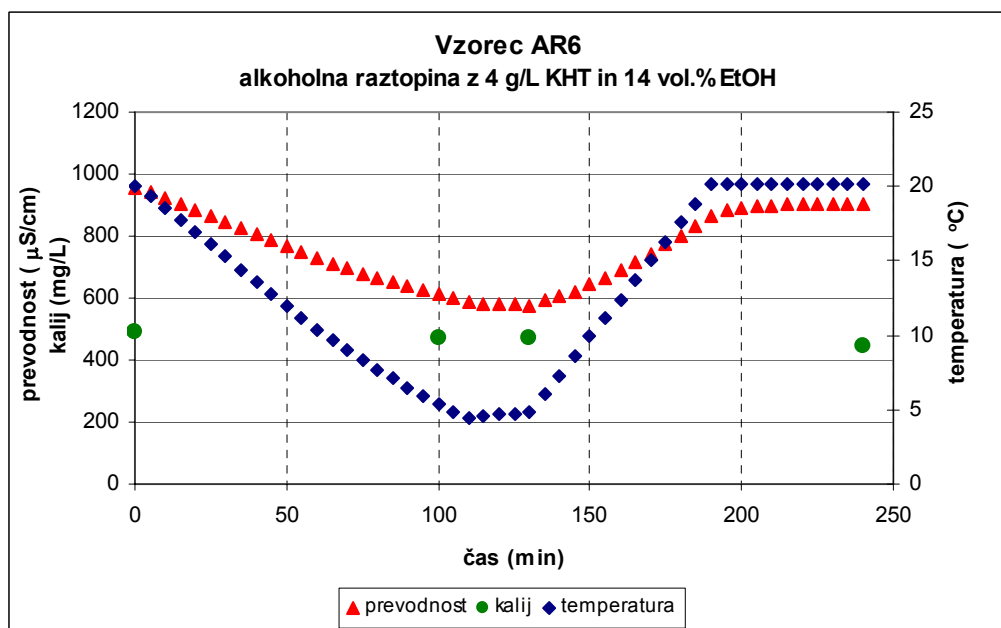
Če primerjamo krivulje z 10, 12 in 14 vol.% etanola (pri 4 g KHT/L) vidimo največjo razliko v zmanjšanju prevodnosti pri dodatku 12 vol.% etanola (slika 5). Prav tako se je zmanjšala koncentracija kalija, in sicer za 100 mg/L. Sklepamo, da je tu prišlo do največjega izločanja vinskega kamna.

Preglednica 7: Koncentracije kalija (mg/L) in električna prevodnost (µS/cm) v raztopinah s 4 g KHT/L in različnimi dodatki etanola

T (°C)	t (min)	10 vol.% EtOH		12 vol.% EtOH		14 vol.% EtOH	
		K (mg/L)	χ (µS/cm)	K (mg/L)	χ (µS/cm)	K (mg/L)	χ (µS/cm)
20,01	0	490,3	1181,0	507,3	1258,0	490,3	952,7
5,45	100	455,2	788,2	486,0	835,1	468,0	611,5
4,74	130	434,3	753,3	443,4	616,7	468,0	576,7
20,14	240	434,3	1176,0	400,8	963,1	445,8	904,5
razlika (začetna-končna vrednost)		56	5	106,5	294,9	44,5	48,2



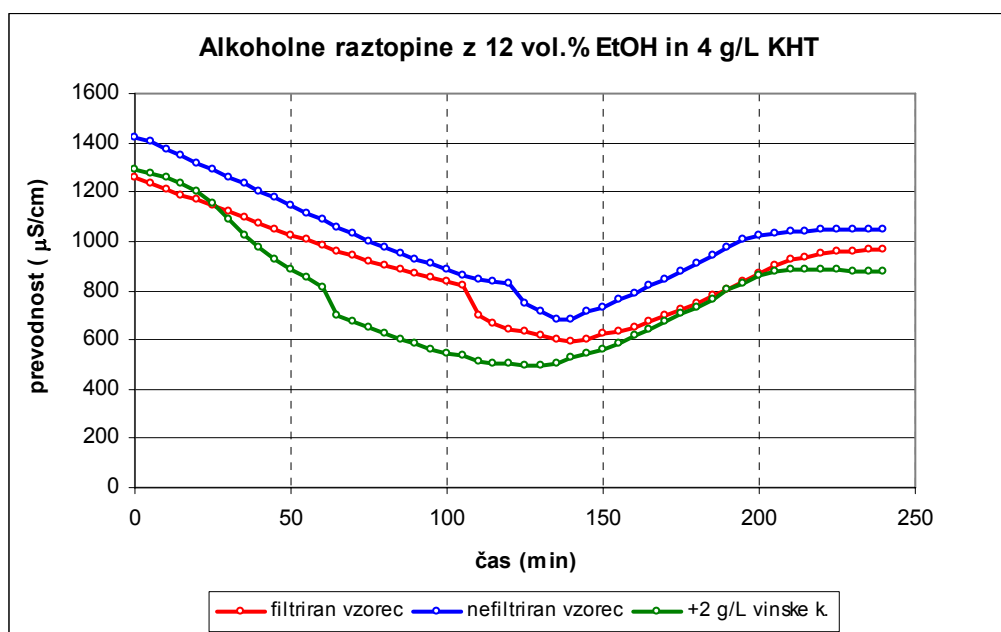
Slika 8: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR5 (alkoholna raztopina s 4 g KHT/L in 10 vol.% etanola)



Slika 9: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija med postopkom ohlajanja in segrevanja vzorca AR6 (alkoholna raztopina s 4 g KHT/L in 14 vol.% etanola)

Slika 10 prikazuje primerjavo prevodnosti v modelnih alkoholnih raztopinah, ki smo jih pripravili s 4 g/L kalijevega hidrogenartrata in 12 vol.% etanola. Lepo je razviden hiter padec prevodnosti oz. izločanja kalija. Pri dodatku 2 g/L vinske kisline se to zgodi pri 60 minutah. V raztopinah brez dodatka vinske kisline pride do padca prevodnosti šele po 100 minutah za okrog 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$, ko smo raztopino že premešali. Ker smo nefiltrirani vzorec premešali kasneje (pri 120 minutah), se lepo vidi pomembnost mešanja. Tako je najkasneje začela strmo padati prevodnost nefiltriranega vzorca, po 120 minutah.

Razlika med filtriranim in nefiltriranim vzorcem je tudi, da ima filtrirani vzorec manjšo začetno in končno prevodnost, saj so verjetno med filtriranjem na filtru ostali ioni. Pri obeh vzorcih se lepo vidi padec prevodnosti pri pomešanju pri 5 °C.



Slika 10: Primerjava časovne odvisnosti električne prevodnosti in temperature alkoholnih raztopin z 12 vol.% etanola in 4 g/L KHT s filtracijo in brez filtracije ter z dodatkom 2 g/L vinske kisline (filtriran)

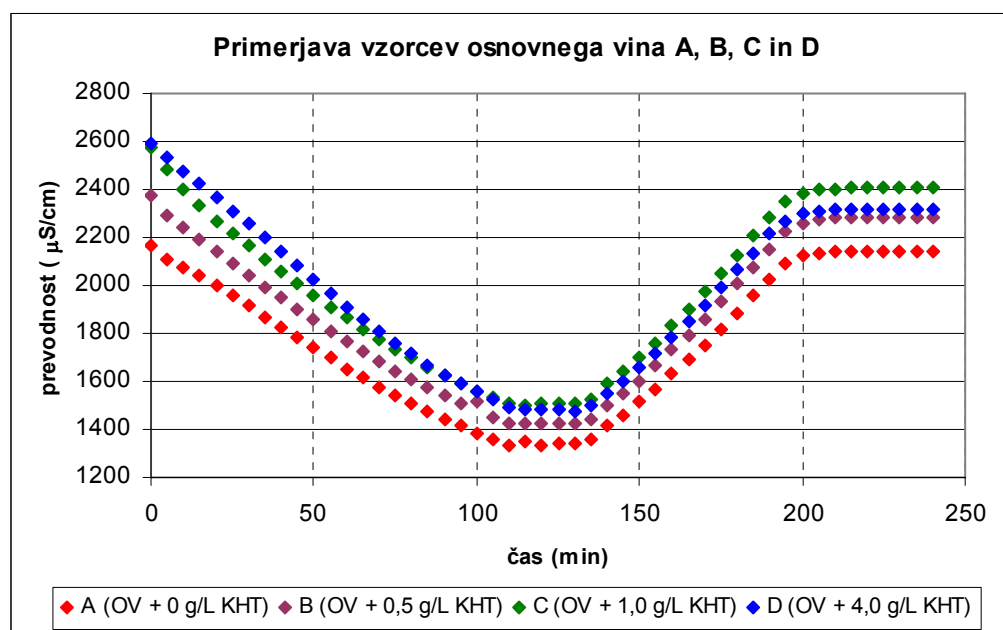
4.1.2 Drugi del eksperimenta

V nadaljevanju poskusa smo v vzorec belega vina (bela zvrst, letnik 2004) pred začetkom ohlajanja dodali tri različne koncentracije KHT in s tem dosegli različne stopnje prenasičenja. Osnovno vino smo razdelili na štiri dele. Prvemu delu nismo dodali ničesar in nam je služil kot kontrola, preostalem pa smo dodali 0,5 g KHT/L, 1,0 g KHT/L in 4,0 g KHT/L. Vina smo pred merjenjem prevodnosti prefiltrirali. Izmerili smo začetno vrednost pH vzorcev in koncentracijo kalija (preglednica 8). Vzorce smo nato ohlajali na 5 °C v 1,5 ure in po 30 minutah začeli segrevati nazaj na 20 °C. To temperaturo so vzorci dosegli v eni uri, ki smo jo potem še eno uro vzdrževali. Med postopkoma ohlajanja in segrevanja smo spremljali spreminjanje prevodnosti vzorcev in po končanem merjenju tudi vizualno ocenili prisotnost kristalov KHT. V štirih časovnih intervalih meritev (0, 100, 130 in 240 minutah) smo odvzeli vzorce za analizo vsebnosti kalija.

Preglednica 8: Vrednosti pH in koncentracije kalija (mg/L) v vzorcih belega vina (osnovno vino in dodatek treh koncentracij KHT)

parameter (enota)	osnovno vino (OV)	OV + 0,5 g KHT/L	OV + 1,0 g KHT/L	OV + 4,0 g KHT/L
vrednost pH (/)	3,41	3,43	3,44	3,45
K (mg/L)	980,0	1065,4	1111,5	1120,3

Slika 11 nam kaže primerjavo časovne odvisnosti električne prevodnosti osnovnega belega vina brez in z različnimi dodatki KHT (0,5, 1,0 in 4,0 g/L). Krivulja z dodatkom 4,0 g KHT/L nam kaže največji padec prevodnosti (v primerjavi z dodatkom 1,0 g KHT/L) med ohlajanjem. Po ponovnem segrevanju pa ima ta vzorec manjšo vrednost prevodnosti v primerjavi z dodatkom 1,0 g KHT/L, tako da lahko sklepamo, da se je pri 5 °C izločilo več vinskega kamna (kar je tudi logično, saj smo ga dodali 3 g več).

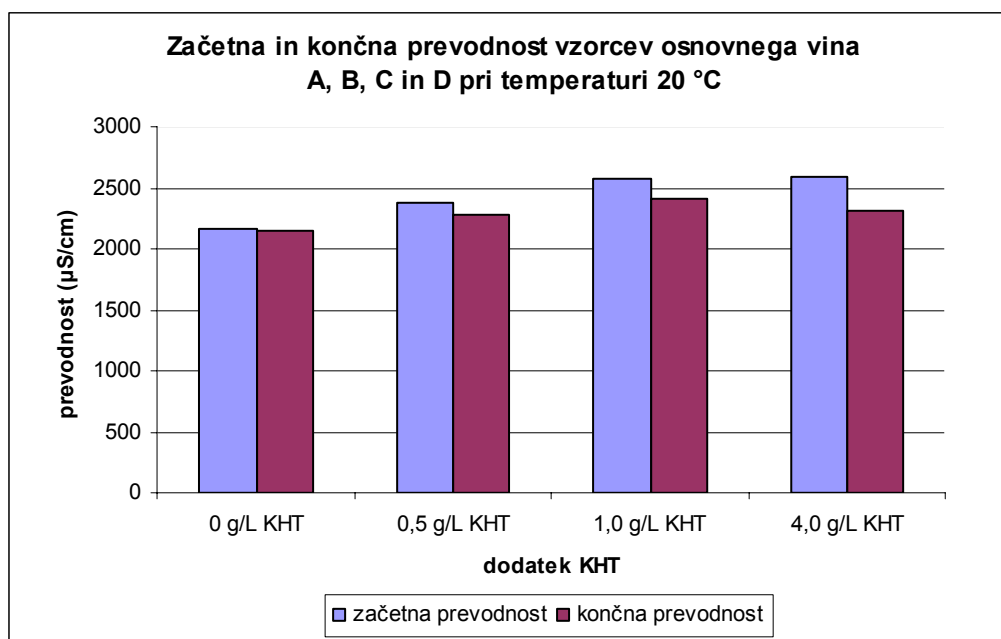


Slika 11: Časovna odvisnost električne prevodnosti vzorcev belega vina brez in s tremi dodatki KHT (0,5 g/L, 1,0 g/L in 4,0 g/L)

Preglednica 9: Koncentracija kalija (mg/L) in električna prevodnost ($\mu\text{S}/\text{cm}$) v vzorcih belega vina z različnimi dodatki KHT

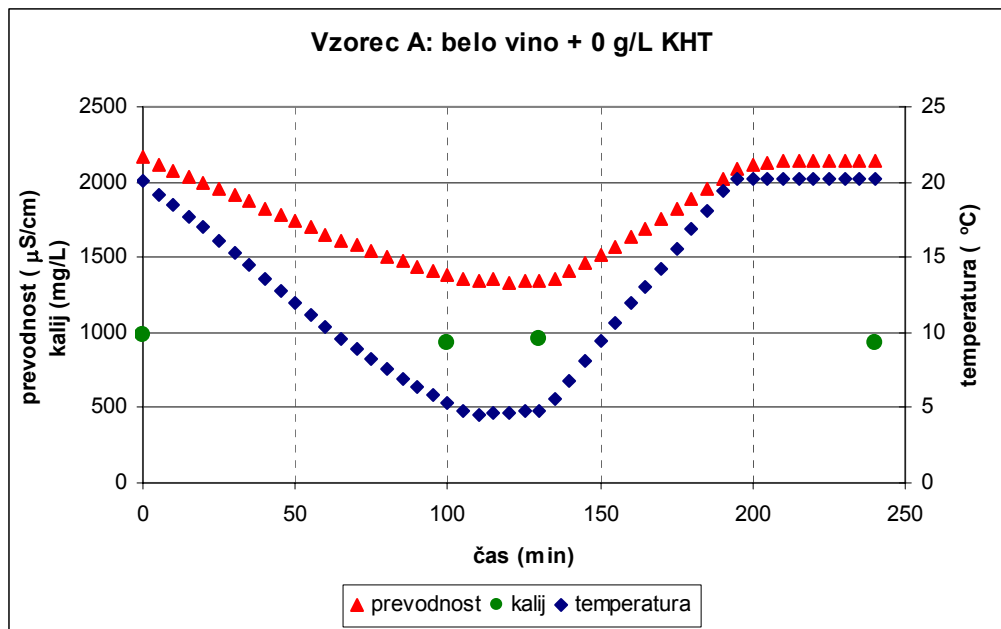
T (°C)	t (min)	+ 0 g KHT/L		+ 0,5 g KHT/L		+ 1,0 g KHT/L		+ 4,0g KHT/L	
		K (mg/L)	χ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	K (mg/L)	χ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	K (mg/L)	χ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	K (mg/L)	χ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
20,1	0	980,0	2164	1065,4	2372	1111,5	2571	1120,3	2607
5,26	100	936,1	1386	1023,8	1514	1111,5	1562	1082,1	1555
4,78	130	958,0	1341	1023,8	1426	1111,5	1511	1101,2	1476
20,17	240	936,1	2143	1065,4	2284	1065,4	2407	948,6	2315
razlika (začet.-končna vredn.)		43,9	21	0	88	46,1	164	171,7	292

Slika 12 prikazuje prevodnosti belega vina pri različnih dodatkih KHT, in sicer na začetku in na koncu pri temperaturi 20 °C. Vidimo, da se prevodnosti skladno z dodatkom KHT povečujejo. Kontrolni vzorec A, v katerega nismo dodali KHT, je imel praktično enako začetno in končno vrednost prevodnosti, in sicer 2150 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Preostalim vzorcem, katerim smo dodali 0,5, 1,0 in 4,0 g/L KHT, pa so se prevodnosti na koncu zmanjšale, najverjetneje zaradi izločanja vinskega kamna pri ohlajanju na 5 °C, ki se potem pri ponovnem segrevanju na 20 °C ni raztopil.

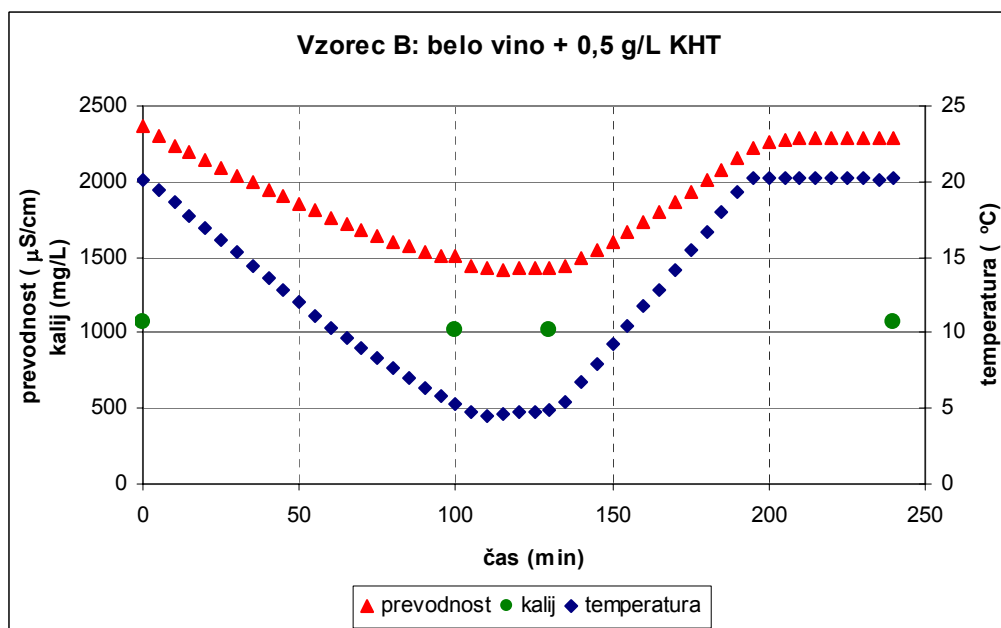
**Slika 12:** Primerjava začetne in končne električne prevodnosti ($\mu\text{S}/\text{cm}$) pri temperaturi 20 °C med vzorci belega vina brez in z različnimi dodatki KHT

Slike 13-16 prikazujejo meritve prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcih belega vina v odvisnosti od časa. Krivulje časovne odvisnosti prevodnosti vzorcev z različnimi dodatki KHT so si med seboj zelo podobne, izjema je le dodatek 4 g/L KHT. Vsebnosti kalija (preglednica 9) nam kažejo na izločanje vinskega kamna, saj se je koncentracija kalija npr. pri dodatku 4,0 g/L KHT zmanjšala iz začetne vsebnosti 1120,3 na 948,6 mg/L.

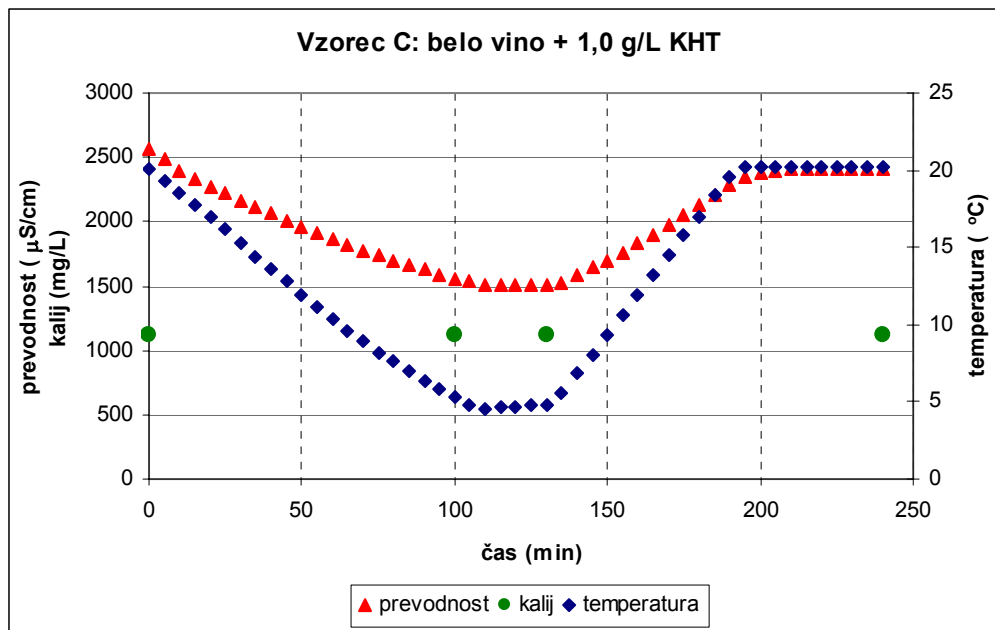
Realni vzorci belega vina se po svoji sestavi močno razlikujejo od modelnih alkoholnih raztopin. Vino vsebuje številne spojine, ki imajo električni značaj. Zaradi večje koncentracije različnih ionov opazimo pri vinih veliko večje vrednosti prevodnosti v primerjavi z alkoholnimi raztopinami.



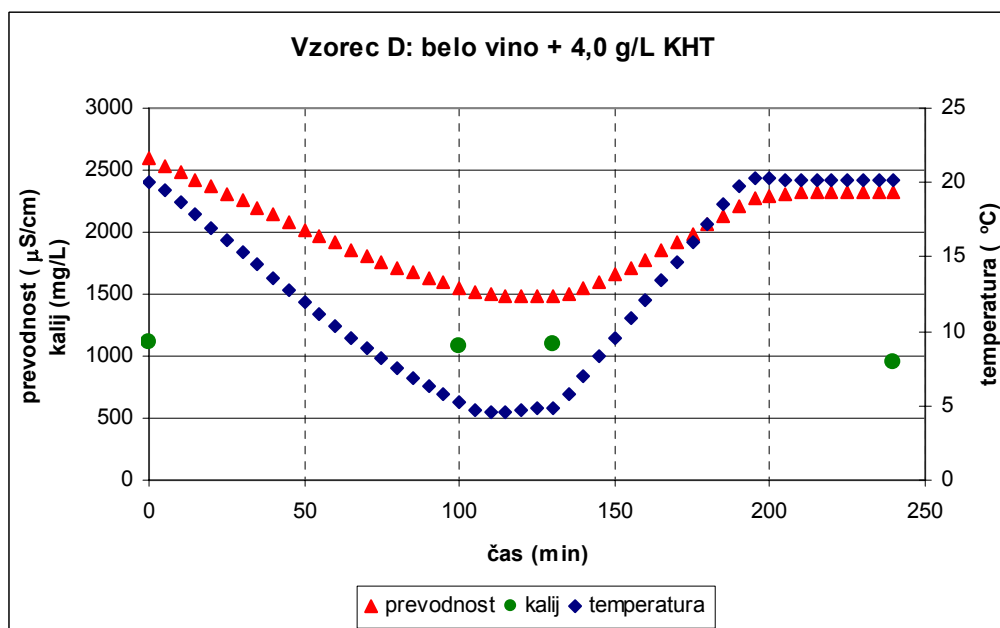
Slika 13: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v osnovnem vzorcu belega vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 1,5 ure)



Slika 14: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu belega vina z dodatkom 0,5 g KHT/L



Slika 15: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu belega vina z dodatkom 1,0 g KHT/L



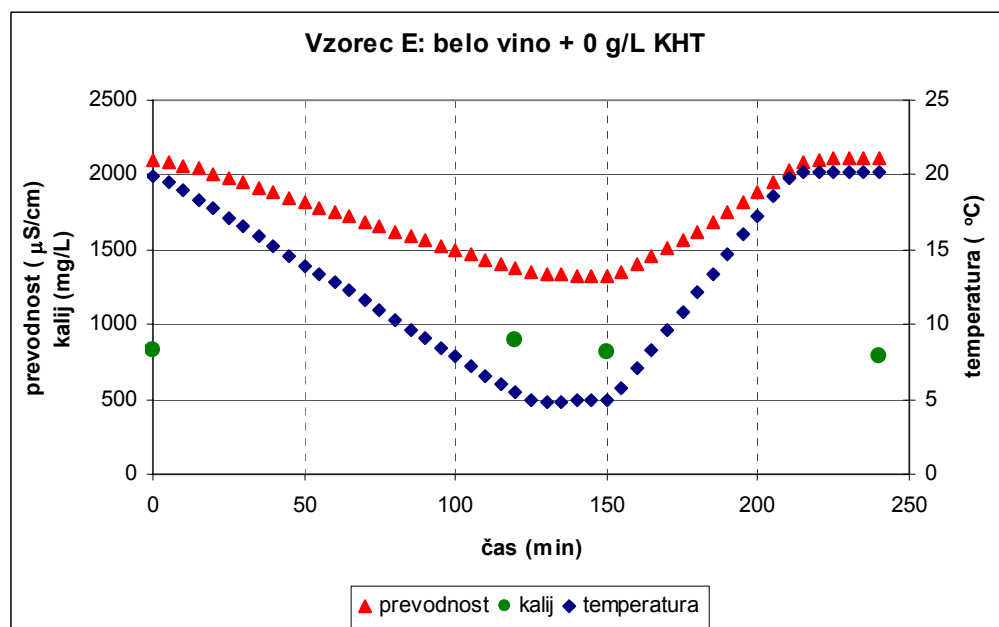
Slika 16: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu belega vina z dodatkom 4,0 g KHT/L

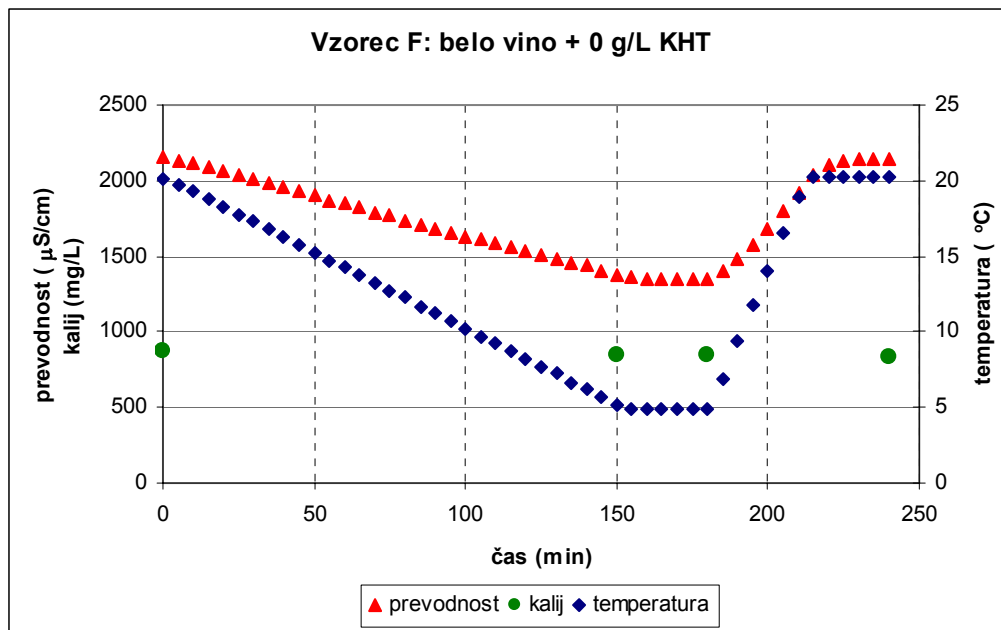
V preglednici 10 je prikazana primerjava različnih hitrosti ohlajanja (1,5; 2,0 in 2,5 ure) vzorcev belega vina (A, E in F) brez dodatka KHT na vsebnost kalija in električno prevodnost. Pri najhitrejšem ohlajanju vidimo, da je razlika med začetno in končno vrednostjo tako vsebnosti kalija kot električne prevodnosti največja in se praviloma ta razlika zmanjšuje s podaljšanjem časa ohlajanja; izjema je le negativna razlika v električni prevodnosti vzorca E.

Preglednica 10: Koncentracija kalija (mg/L) in električna prevodnost ($\mu\text{S}/\text{cm}$) v vzorcih A, E in F pri različni hitrosti ohlajanja

T (°C)	t (min)	A (1,5 ure)		E (2,0 ure)		F (2,5 ure)	
		K (mg/L)	χ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	K (mg/L)	χ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	K (mg/L)	χ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
20,04	0	980,0	2164	830,2	2115	869,6	2159
5,29	100	936,1	1386	-	-	-	-
5,45	120	-	-	819,4	1378	-	-
4,85	130	958,0	1341	-	-	-	-
5,04	150	-	-	810,4	1329	849,9	1380
4,90	180	-	-	-	-	849,9	1348
20,18	240	936,1	2143	790,7	2118	830,2	2147
razlika (začetna-končna vrednost)		43,9	21	39,5	-3	39,4	12

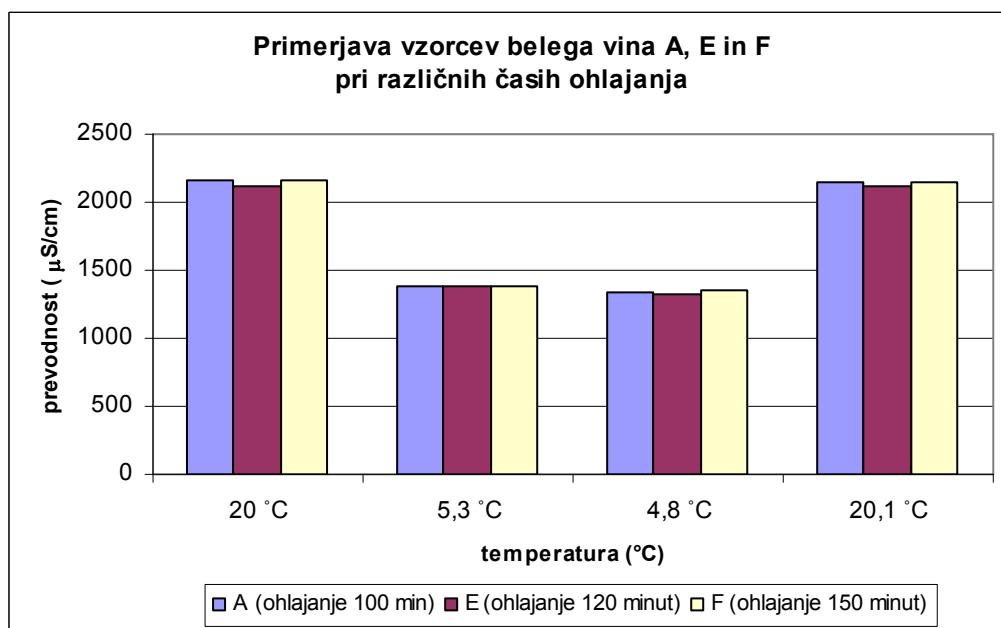
Sliki 17 in 18 prikazujeta meritve prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija vzorca belega vina brez dodatka KHT in z različno hitrostjo ohlajanja, in sicer 120 in 150 minut iz 20 °C na 5 °C. Vzorec A z najkrajšim časom ohlajanja je prikazan na sliki 13. V obeh vzorcih se je koncentracija kalija zmanjšala za okrog 40 mg/L, in sicer v vzorcu E iz vrednosti 830 mg/L na 790 mg/L in v vzorcu F iz vrednosti 870 mg/L na 830 mg/L (preglednica 10). Prevodnost obeh vzorcev E in F se zmanjša na 1380 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (pri 5 °C), in sicer iz 2115 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (vzorec E) in iz 2159 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (vzorec F). Pri konstantni temperaturi 5 °C, ki smo jo vzdrževali 30 minut, pa sta vzorca dosegla že različne prevodnosti, in sicer 1329 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (hlajenje 2,0 h) ter 1348 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (hlajenje 2,5 h). Po segrevanju nazaj na 20 °C sta vzorca skoraj dosegla svoji začetni prevodnosti 2118 $\mu\text{S}/\text{cm}$ in 2147 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (preglednica 10).

**Slika 17:** Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v osnovnem vzorcu vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 2 uri)



Slika 18: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v osnovnem vzorcu vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 2,5 uri)

Slika 19 nam kaže primerjavo električne prevodnosti vzorcev A, E in F, ki so bili ohlajeni iz 20 °C na okrog 5 °C v različnem času, in sicer 100, 120 in 150 minutah. Ker v teh časih ne pride do bistvenih razlik v spremembi prevodnosti lahko zaključimo, da v našem primeru hitrost ohlajanja na končno temperaturo 5 °C ne vpliva značilno na prevodnost in obseg izločenega vinskega kamna.



Slika 19: Primerjava električne prevodnosti vzorcev belega vina brez dodatka KHT, ki so bili ohlajeni v 100, 120 in 150 minutah

4.1.3 Tretji del eksperimenta

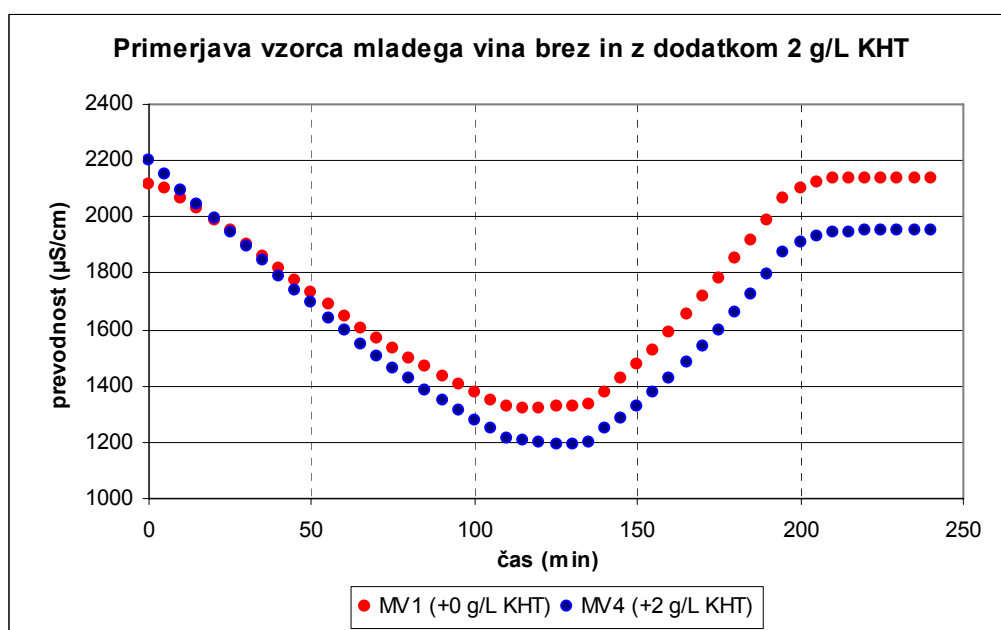
Za nadaljne poskuse na realnem vzorcu vina smo uporabili nestabilizirano mlado vino sorte chardonnay, letnik 2005. Pred poskusom smo opravili osnovne fizikalno-kemijske analize vina, ki jih prikazuje preglednica 11. Vina smo pred meritvami filtrirali skozi grob fitrni papir. Med hlajenjem in segrevanjem smo spremljali električno prevodnost vzorcev in na koncu eksperimenta vizualno ocenili pojav kristalov.

Preglednica 11: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz vina

Parameter (enota)	Vrednost
vrednost pH (/)	3,53
titrabilne kisline (g/L)	4,60
skupne kisline (g/L)	4,85
K (mg/L)	960

Primerjavo časovne odvisnosti električne prevodnosti vzorca mladega belega vina brez in z dodatkom 2 g KHT/L nam kaže slika 20. V primerjavi s kontrolnim vzorcem brez dodatka pride pri dodatku 2 g/L KHT do značilno večjega zmanjšanja prevodnosti pri temperaturi 5 °C, razlika med vzorcema pa je še večje po ponovnem ogretju in vzdrževanju temperature na 20 °C.

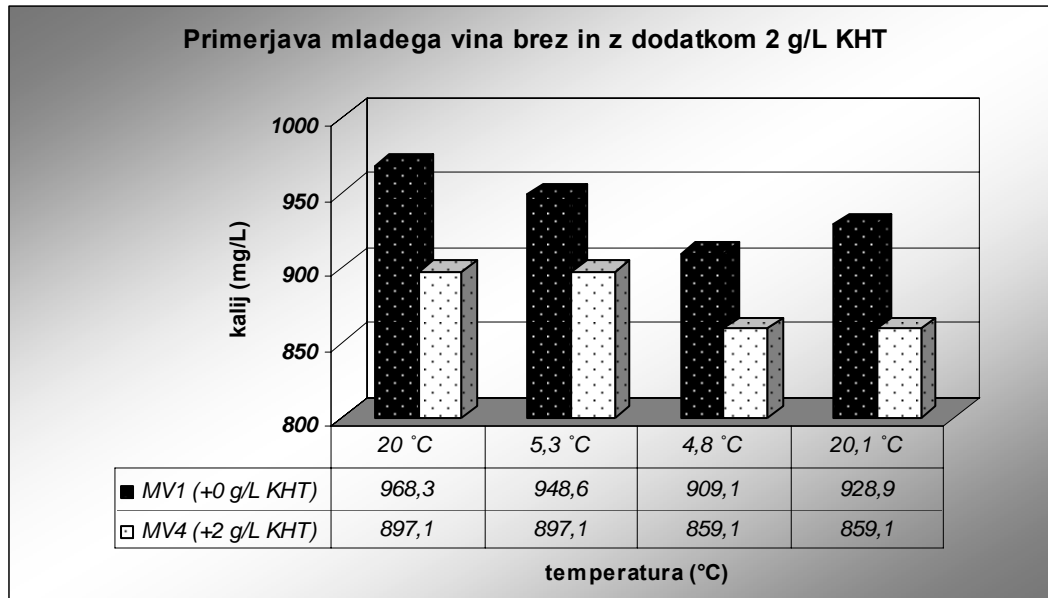
V primerjavi s prenasičenimi alkoholnimi raztopinami je prišlo v osnovnem mladem vinu (brez in z dodatkom 2 g KHT/L) do večjega zmanjšanja prevodnosti, kar pomeni, da poteka kristalizacija v teh raztopinah hitreje in v večjem obsegu. Do tega pride zaradi naravno prisotnih inhibitorjev kristalizacije v vinu, ki preprečujejo rast kristalov (koloidi, polisaharidi, polifenoli,..), katerih vpliv je opisan v poglavju 2.3.



Slika 20: Časovna odvisnost električne prevodnosti vzorca mladega vina sorte chardonnay brez in z dodatkom KHT (2 g/L)

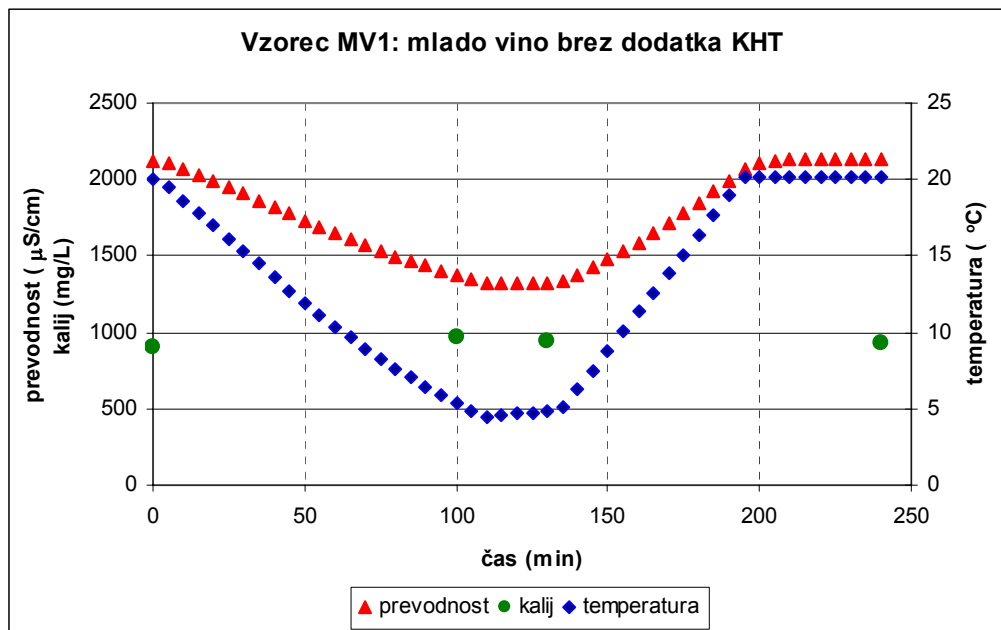
Legenda: MV1 = mlado vino brez dodatka KHT, MV4 = mlado vino + 2 g/L KHT

Slika 21 kaže na primerjavo koncentracije kalija mladega vina brez in z dodatkom 2 g/L KHT. V obeh vzorcih se ga izloči okrog 40 mg/L, in sicer v vzorcu MV1 ga je na začetku 970 mg/L in na koncu 930 mg/L, medtem ko ga je v vzorcu MV4 na začetku 900 mg/L ter na koncu 860 mg/L.

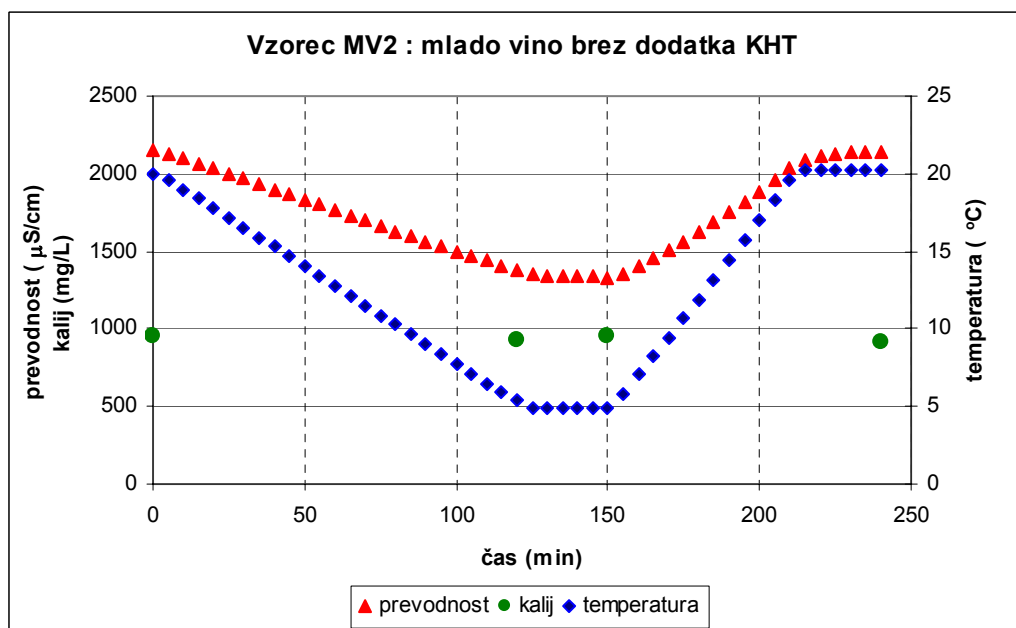


Slika 21: Primerjava koncentracij kalija (mg/L) med vzorcema mladega belega vina brez in z dodatkom KHT pri različnih temperaturah

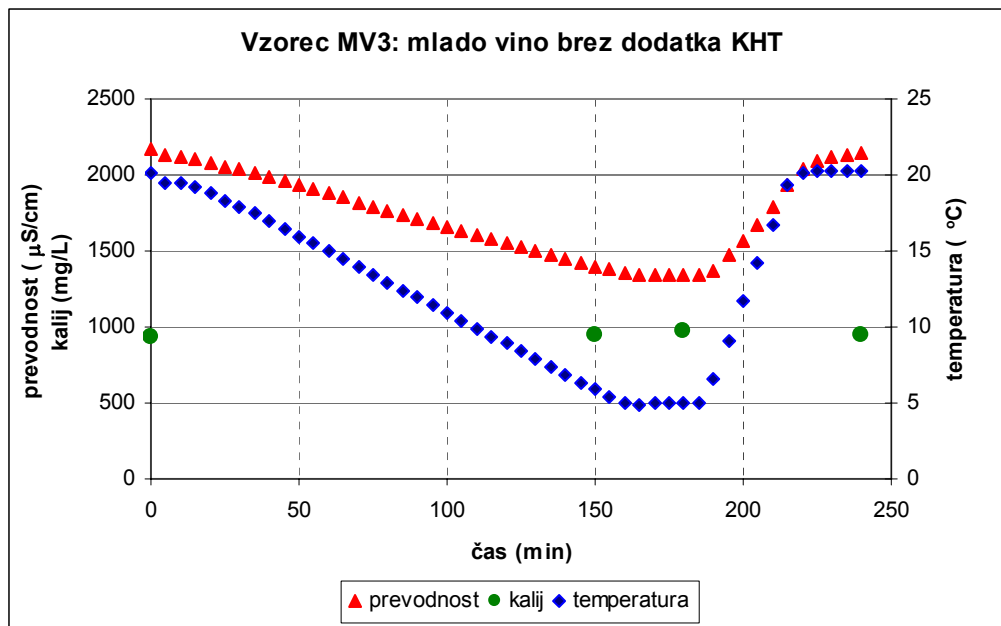
Slike 22-25 prikazujejo meritve prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcih mladega belega vina v odvisnosti od časa. Vzorci MV1, MV2 in MV3 so bili brez dodatka KHT in so bili z različno hitrostjo ohlajeni iz začetnih 20 °C na končnih 5 °C, in sicer v 100 minutah, 120 minutah in 150 minutah. V vseh treh primerih so se prevodnosti znižale iz vrednosti 2150 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na 1390 $\mu\text{S}/\text{cm}$, kar nam pove, da ni prišlo do bistvenih sprememb. V vzorcih so se koncentracije kalija zmanjšale, in sicer v vzorcu MV1 iz vrednosti 970 mg/L na 930 mg/L, v vzorcu MV2 iz vrednosti 950 mg/L na 910 mg/L in v vzorcu MV3 iz vrednosti 970 mg/L na 950 mg/L. Zmanjšanje vsebnosti kalija v vzorcih prav zaradi majhne razlike ne more biti pokazalec izločanja vinskega kamna.



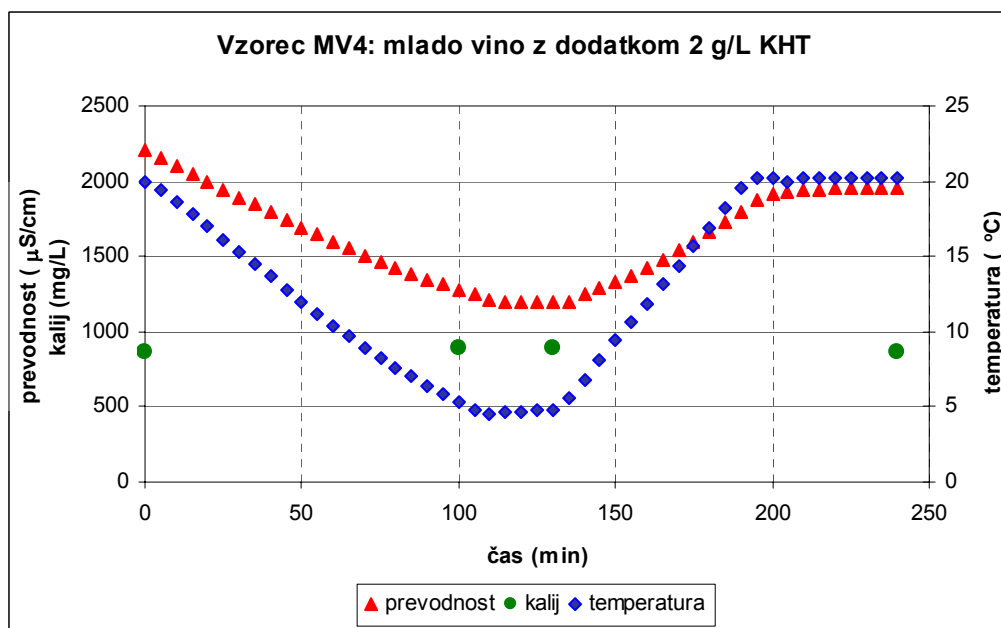
Slika 22: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu mladega vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 1,5 ure)



Slika 23: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu mladega vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 2 uri)



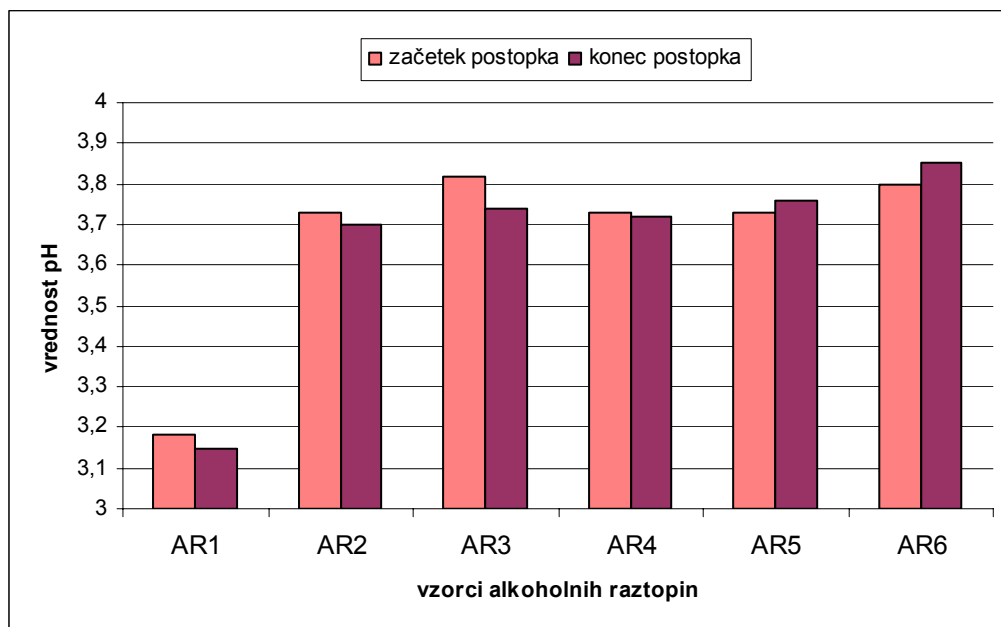
Slika 24: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu mladega vina brez dodatka KHT (trajanje ohlajanja 2,5 uri)



Slika 25: Časovna odvisnost električne prevodnosti, temperature in vsebnosti kalija v vzorcu mladega vina z dodatkom 2 g KHT/L (trajanje ohlajanja 1,5 ure)

4.2 REZULTATI DOLOČANJA VREDNOSTI pH IN SKUPNIH KISLIN

Na sliki 26 je najbolj vidna razlika v vrednosti pH med dodatkom 2 g/L vinske kisline in ostalimi vzorci modelnih alkoholnih raztopin. V vzorcih AR1 do AR4 so vrednosti pH manjše po postopku (hlajenju in končnem segrevanju na prvotno temperaturo 20 °C), medtem ko se je vzorcema AR5 in AR6 po končanem postopku pH vrednost zvišala.



Slika 26: Vrednosti pH vzorcev modelnih alkoholnih raztopin, izmerjene pred in po postopku

Legenda:

AR1: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 4 g/l KHT, 2 g/l vinske k.

AR2: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 4 g/l KHT

AR3: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 2 g/l KHT

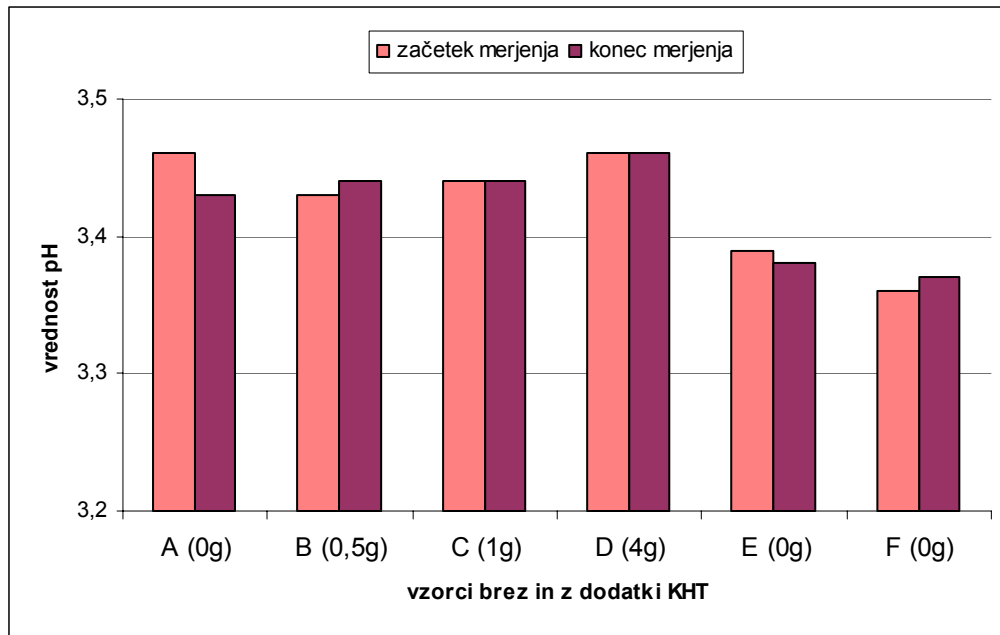
AR4: alkoholna raztopina; 12 vol.% EtOH, 6 g/l KHT

AR5: alkoholna raztopina; 10 vol.% EtOH, 4 g/l KHT

AR6: alkoholna raztopina; 14 vol.% EtOH, 4 g/l KHT

Na sliki 27 so prikazane vrednosti pH vzorcev belega vina pri različnih dodatkih KHT (vzorci A, B, C in D) in v različnih časovnih režimih (vzorci A, E in F). Če je vrednost pH < 3,7, potem se pri izločanju KHT del prisotne vinske kisline disociira. Ker pri tem poteče proteoliza, se koncentracija H_3O^+ v vinu poveča oziroma se pH zmanjša in vino je bolj stabilno. Na to opisano stabilnost nam kažeta samo vzorca A in E, ki sta potemtakem po postopku ohlajanja in segrevanja bolj stabilna, medtem ko za preostale vzorce tega ne moremo trditi.

Vzorci A, E in F bi načeloma morali imeti izmerjeno začetno vrednost pH podobno, če že ne enako, vendar tega ne opazimo. Krivo je verjetno tudi dejstvo, da smo vzorce E in F merili za vzorcem A po desetih dneh. Med tem časom se je lahko kljub sobni temperaturi do analize v manjšem obsegu tudi izločil KHT oziroma so se zmanjšale organske kisline, saj je bila začetna vrednost pH nekoliko nižja.

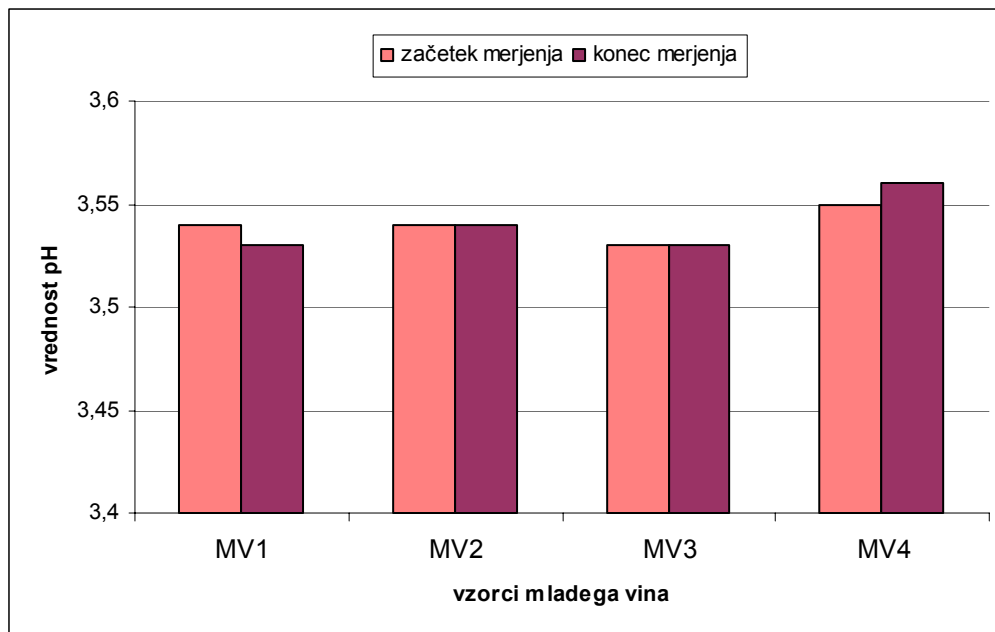


Slika 27: Vrednosti pH vzorcev belega vina brez in z različnimi dodatki KHT, izmerjene pred in po postopku merjenja prevodnosti

Legenda:

- A:** vzorec vina + 0 g KHT/L (časovni režim: 90/30/60/60 min)
- B:** vzorec vina + 0,5 g KHT/L (časovni režim: 90/30/60/60 min)
- C:** vzorec vina + 1,0 g KHT/L (časovni režim: 90/30/60/60 min)
- D:** vzorec vina + 4,0 g KHT/L (časovni režim: 90/30/60/60 min)
- E:** vzorec vina + 0 g KHT/L (časovni režim: 120/30/60/30 min)
- F:** vzorec vina + 0 g KHT/L (časovni režim: 150/30/30/30 min)

Na sliki 28 vidimo izmerjene vrednosti pH mladega vina, in sicer v vzorce MV1 do MV3 nismo dodali ničesar, medtem ko smo v MV4 dodali 2 g KHT/L. V prvih treh vzorcih smo spreminjali časovne režime in vidimo, da se je le za malenkost znižala vrednost pH pri prvem vzorcu, kar nam ne more dati slike o pojavu stabilnosti oz. nestabilnosti. Vrednost pH vzorca MV4 je v primerjavi z MV1 za malenkost višja.



Slika 28: Vrednosti pH vzorcev mladega vina brez in z dodatkom KHT, izmerjene pred in po postopku merjenja prevodnosti

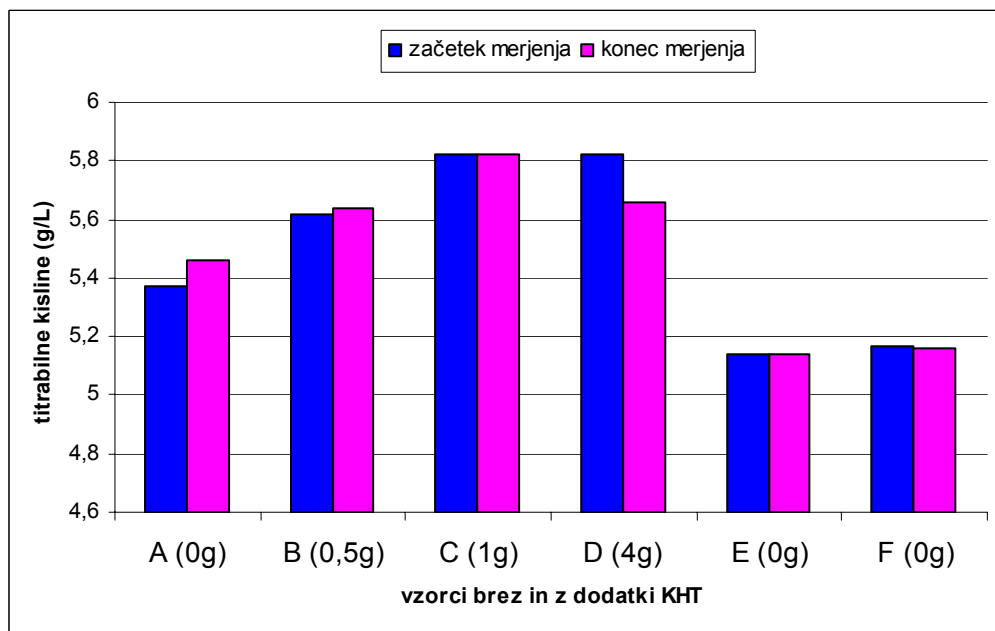
Legenda:

MV1: mlado vino + 0 g KHT/L (časovni režim: 1,5 h/30 min/1 h/1 h)

MV2: mlado vino + 0 g KHT/L (časovni režim: 2,0 h/ 30 min/1 h/30 min)

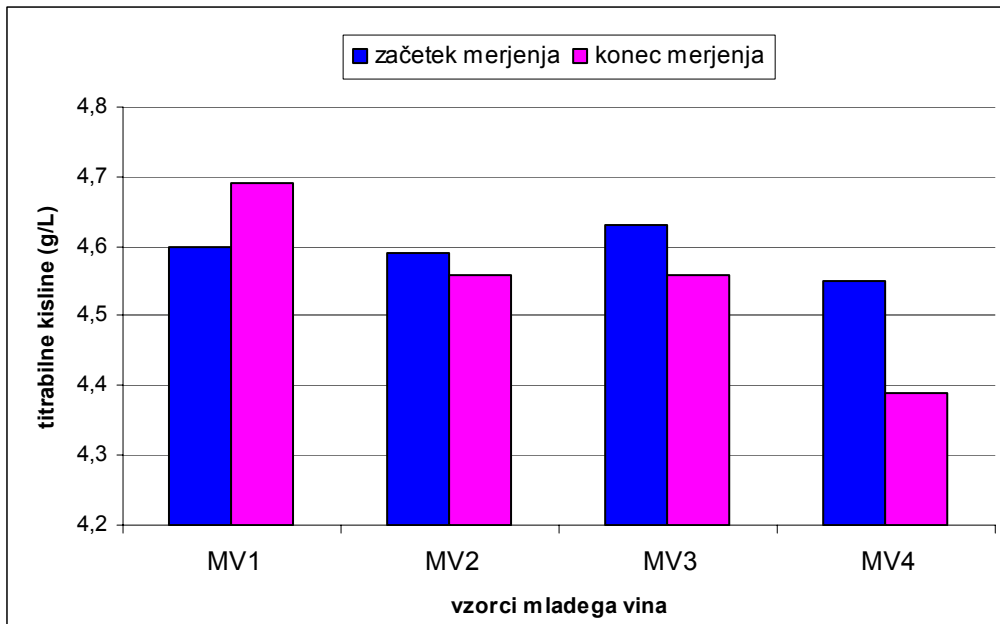
MV3: mlado vino + 0 g KHT/L (časovni režim: 2,5 h/30 min/30 min/30 min)

MV4: mlado vino + 2 g KHT/L (časovni režim: 1,5 h/30 min/1 h/1 h)



Slika 29: Vsebnosti titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) belega vina brez in z dodatki KHT, izmerjene pred in po postopku merjenja prevodnosti

Na sliki 29 je opazno naraščanje titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) ob večanju dodatka KHT (vzorci B, C in D) na začetku merjenja v primerjavi z vzorcem A. Zmanjšanje titrabilnih kislin na koncu postopka v primerjavi z začetno vrednostjo je najbolj očitno v vzorcu D z dodatkom 4 g KHT/L oziroma nekoliko manj v vzorcu F.



Slika 30: Vsebnosti titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) mladega belega vina, izmerjene pred in po postopku merjenja prevodnosti

Na sliki 30 opazimo zmanjšanje titrabilnih kislin treh vzorcev mladega vina na koncu merjenja, razen pri prvem vzorcu, MV1, ki kaže povečanje kislosti. Zmanjšanje vsebnosti titrabilnih kislin v vzorcih MV2-MV4 je posledica izločenega vinskega kamna med hladno stabilizacijo.

5 RAZPRAVA

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti vpliv stopnje prenasičenja raztopin in časovne odvisnosti od temperature hlajenja na kinetiko kristalizacije kalijevega hidrogentartrata. Z merjenjem prevodnosti in z določanjem koncentracije kalija smo sklepali na doseženo stabilizacijo na izločanje vinskega kamna. Z uporabo prenasičenih alkoholnih raztopin in hladno stabilizacijo pri različnih hitrostih hlajenja, smo stimulirali pogoje, s katerimi se srečujemo v realnem življenju (sobna temperatura / hladilnik / sobna temperatura). Z merjenjem prevodnosti poleg vpliva temperature stabilizacije lahko določimo tudi temperaturno območje stabilnosti vin (Camerira dos Santos in sod., 2002). Merjenje prevodnosti je primerna metoda za zasledovanje sprememb, ki poteka med ohlajevanjem vina, saj k prevodnosti prispevajo vsi ioni, ki so pri danih pogojih prisotni v vinu. Vsaka sprememba koncentracije posameznega iona se odrazi v spremembi vrednosti prevodnosti.

Krivulje na slikah 4-9 prikazujejo časovni potek sprememb prevodnosti prenasičenih alkoholnih raztopin med hlajenjem in segrevanjem. Opazne so razlike v poteku krivulj in tudi v spremembi vsebnosti K^+ ionov. Opazimo, da se vsebnost K^+ ionov v vseh alkoholnih raztopinah med hlajenjem zmanjša, kar pomeni, da se je izločal KHT.

V prvem delu eksperimenta smo najprej dodali alkoholnim raztopinam z 12 vol.% etanola različne koncentracije KHT, in sicer 2, 4 in 6 g/L. Nato smo dodali 4 g KHT/L še raztopinam z 10 vol.% in 14 vol.% etanola. Z meritvami smo spremljali zmanjšanje prevodnosti raztopin, do katerega je prišlo zaradi procesa kristalizacije, poleg najbolj očitnega vpliva hlajenja. Krivulja zniževanja in povečevanja prevodnosti (pri ponovnem segrevanju vzorcev) ima pri vseh raztopinah podobno obliko, razen pri dodatku 12 vol.% etanola in 4 g KHT/L. Začetnemu strmemu padcu prevodnosti sledi zaradi ustaljene temperature (5 °C, 30 minut) počasno zniževanje, ki je posledica začetka kristalizacije. Nato se poveča prevodnost sorazmerno z naraščanjem temperature in prav tako koncentracija kalija.

Izločanje kristalov se je začelo najhitreje pri raztopinah s stopnjo prenasičenja (4,0 g KHT/L), kar je najbližje koncentraciji KHT v vinu. Povprečno vsebujejo vina 780 mg K/L, kar predstavlja 3,76 g KHT/L (Riberéau-Gayon in sod., 2000).

Iz krivulj zniževanja prevodnosti je razvidno, da se je prevodnost ves čas med hlajenjem enakomerno zmanjševala. V primeru uporabe kristalov KHT velikosti 40 μm je stabilizacija dosežena v 90 minutah (Zoecklein, 2002). Le-tega na naših grafih ni mogoče zaznati. Prav tako je iz krivulje zaradi enakomernega spreminjanja prevodnosti nezaznaven indukcijski čas. Dejansko je z merjenjem prevodnosti raztopin nemogoče napovedati indukcijski čas, saj ne vemo, kolikšen delež zniževanja prevodnosti pripisati zniževanju temperature in kolikšen delež samemu postopku formiranja kristalov na začetku kristalizacije.

Ko smo dosegli najnižjo želeno temperaturo 5 °C, smo vzorce 1 minuto mešali. Zakaj? Posledica mešanja vzorcev je hitrejši začetek in potek kristalizacije, kar je bilo dokazano že z rezultati tujih raziskovalcev. Maujean in sod. (1986) so dokazali, da je hitrost kristalizacije direktno sorazmerna z velikostjo notranje površine delcev v raztopini. Večjo površino kristalov dosežemo z mešanjem raztopin in uporabo manjših dodanih delcev KHT (Riberéau-Gayon in sod., 2000). Najhitrejši potek kristalizacije dosežemo z uporabo KHT velikosti 40 μm (Rhein in Neradt, 1979).

Na podlagi določitve vsebnosti kalija v raztopinah pred hlajenjem, med hlajenjem in po končanem poskusu smo želeli sklepati na kinetiko izločanja kalija.

V nadaljevanju smo poskus izvedli na realnem vzorcu belega vina (bela zvrst, letnik 2004). Vinu smo dodali tri različne koncentracije KHT (0,5; 1,0 in 4,0 g KHT/L) in s tem dosegli različne stopnje prenasičenja vina. Kristalizacija je bila najbolj opazna v vzorcu z dodatkom 4,0 g KHT/L, saj sta bila tako stopnja prenasičenja kot koncentracija kalija največja. V vzorcih z dodatkom 0,5 g KHT/L in 1,0 g KHT/L ni prišlo do sprememb; nazadnje smo ugotovili, da se je v osnovnem (kontrolnem) vinu brez dodatka KHT za malenkost zmanjšala koncentracija kalija. S tem poskusom smo potrdili ugotovitve, ki smo jih dobili v prvem delu na modelnih prenasičenih alkoholnih raztopinah.

Slika 12 prikazuje prevodnosti belega vina pri različnih dodatkih KHT, in sicer na začetku in na koncu določanja prevodnosti. Vidimo, da se prevodnosti skladno z dodatkom KHT povečujejo. Se pravi, več kot KHT dodamo, več je ionov, ki jih merilnik prevodnosti zazna.

V primerjavi s prenasičenimi alkoholnimi raztopinami je prišlo v mladem belem vinu letnika 2005 (brez in z dodatkom 2 g KHT/L) do večjega zmanjšanja prevodnosti, kar pomeni, da poteka kristalizacija v teh raztopinah hitreje in v večjem obsegu. Do tega pride zaradi naravno prisotnih inhibitorjev v vinu, ki preprečujejo rast kristalov (koloidi, polisaharidi, polifenoli,..).

6 SKLEPI IN POVZETEK

6.1 SKLEPI

Opazovanje poteka kinetike kristalizacije in ugotavljanja indukcijskega časa je v praksi zelo zahtevna naloga. Za določanje indukcijskega časa uporabljamo različne metode in zato so tudi rezultati zelo različni. Ena izmed možnih metod je tudi vizualna zaznava pojava vidnih delcev KHT v raztopini, a je povezana s precej veliko napako, ki je odvisna predvsem od eksperimentatorja in same praktične izvedbe poskusa. V splošnem lahko razdelimo čas indukcije na tri medsebojno povezane časovne dele:

- čas, ki je potreben za preureditev strukture raztopine;
- čas, ki je potreben za formiranje skupkov ionskih parov;
- čas, ki je potreben za razvoj teh skupkov do jeder vidne velikosti.

Za podrobnejše ugotavljanje bi morali opraviti še dodatne meritve z različnimi instrumentalnimi tehnikami.

Na osnovi rezultatov diplomskega dela smo prišli do naslednjih sklepov:

1. Do izločanja vinskega kamna je prišlo v alkoholnih raztopinah, ki so bile prenasočene s KHT, kar potrjuje zmanjšanje vsebnosti kalija.
2. V celici za merjenje prevodnosti ni bilo opaznega izločanja vinskega kamna po ohlajevanju vzorcev vina (iz 20 °C na 5 °C).
3. Do zmanjšanja prevodnosti je sicer prišlo med hlajenjem vina, vendar lahko govorimo zgolj o temperaturni odvisnosti prevodnosti.
4. KHT se hitreje izloča pri modelnih alkoholnih raztopinah, ki v nasprotju z realnimi vzorci vina ne vsebujejo drugih ionov, kot so natrijevi, kalcijevi, fosfatni, sulfatni ioni, idr.
5. Da bi do izločanja vinskega kamna prišlo tudi v realnih vzorcih vina, bi morali vzorce med samim merjenjem prevodnosti ohladiti na nižjo temperaturo od 5 °C, vendar pa to ni bilo možno zaradi omejene zmogljivosti hladilnega aparata. Druga možnost pa bi bila podaljšanje zadrževalnega časa hlajenja na 5 °C.

6.2 POVZETEK

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

Z eksperimentom smo potrdili naše domneve, da vpliva temperatura hlajenja in stopnja prenasíčenja raztopin na indukcijski čas kristalizacije prenasíčenih alkoholnih raztopin in vina. Glavni dejavnik pri kinetiki kristalizacije je stopnja prenasíčenja, ki skrajša njen indukcijski čas in je odvisna od mnogih dejavnikov. Najpomembnejša sta temperatura in koncentracija kalijevega hidrogenatratnega iona. Nižja kot je uporabljena temperatura hlajenja, krajši je indukcijski čas, saj s padajočo temperaturo narašča stopnja prenasíčenja. Z naraščajočo koncentracijo KHT v vinu dosežemo večjo stopnjo prenasíčenja, tako se posledično hitreje začne kristalizacija v raztopinah z večjimi količinami dodanega KHT.

Izločanje vinskega kamna smo ugotavljali z merjenjem specifične električne prevodnosti in z določanjem koncentracije kalija. Eventualne spremembe v sestavi vina smo skušali pojasniti s kemijskimi analizami: določanje vrednosti pH in titrabilnih kislin.

Na podlagi podatkov o koncentracijah vinske kisline in kalija v vinu, lahko pridelovalci vina lažje določijo potrebno temperaturo hlajenja in čas stabilizacije vina na vinski kamen ter s tem izognejo nepopolni stabilizaciji, oziroma v primeru predolgega hlajenja tudi nepotrebni porabi energije.

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

7 VIRI

- Berg H. W., Keefer R. M. 1958. Analytical determination of tartrate stability in wine. I. Potassium bitartrate. *American Journal of Enology and Viticulture*, 9: 180-193
- Berger J. L., Gaillard M. 1988. La stabilisation tartrique des vins. *Progrès Agricole et Viticole*, 105: 287-292
- Berta P. 1993. La misura della stabilità tartarica dei Vini. *Vignevini*, 20, 11: 22-46
- Blouin G., Guimberteau, Audonit P. 1982. Revention des précipitations tartriques dans les vin par le procede par contact. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 16: 63-77
- Bolčina U. 2002. Vpliv tehnoloških postopkov na vsebnost mineralnih snovi belih vinih. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67 str.
- Cameira dos Santos P., Goncalves F., Pinho M. N. 2002. Optimization of the method for determination of the temperature of saturation in wines. *Analytica Chimica Acta*, 458: 257-261
- Celotti E., Bornaia L., Zoccolan E. 1999. Evaluation of the electrical properties of some products used in the tartaric stabilization of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 343-350
- Delteil D. 2005. Vins blancs: les bonnes pratiques de vinification des raisins altérés. *Revue Française d'Oenologie*, 213: 11-14
- Dunsford P., Boulton R. 1981. The kinetics of potassium bitartrate crystallization from table wines. I. Effect of particle size, particle surface area and agitation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32, 2: 100-105
- Gaillard M., Ratsimba B., Favarel J. L. 1990. Stabilité tartriques des vins: Comparaison de différents tests mesure de l'influence des polyphénols. *Revue Française d'Oenologie*, 30, 123: 7-13
- Gautier B. 1998. Les mannoprotéines ou l'Oenologie du 21^{ème} siècle. *Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques*, 86: 15-15
- Jackson R. S. 2000. *Wine science: Principles, practice, perception*. San Diego, Academic Press: 648 str.
- Kapš P. 1997. Vino in zdravje: ugotovitve zdravnika o zdravilnih učinkih vina na človeka. *Novo Mesto, Erro*: 26-27
- Koch J., Schiller H. 1964. Kinetik der Kristallisation von Weinstein. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 190: 180-183
- Košmerl T., Francetič V. 2002. Prenasičenje alkoholnih raztopin kalijevega hidrogentartrata (KHT). V: Zbornik referatov s posvetovanja. Slovenski kemijski dnevi, Maribor, 26-

27. september 2002. Glavič P., Brodnjak-Vončina D. (ur.). Maribor, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 685-690
- Košmerl T., Juteršek T., Francetič V. 2003. Vpliv kemijske sestave na stabilizacijo vina in na izločanje vinskega kamna. V: Zbornik referatov s posvetovanja. Slovenski kemijski dnevi, Maribor, 25-26. september 2003. Glavič P., Brodnjak-Vončina D. (ur.). Maribor, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 1-10
- Košmerl T., Kač M. 2007: Osnove kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 2. izdaja. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.
- Lefebvre D. 2001. Sur blancs, contre le tartre. *Viti*, 261: 26-27
- Maujean A., Sausy L., Vallée D. 1995. Détermination de la sursaturation en bitartrate de potassium d'un vin: Quantification des effets colloïdes protecteurs. *Revue Française d'Oenologie*, 143: 43-53
- Ough C. S., Amerine M. A. 1988. *Methods for analysis of musts and wines*. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons: 50-60
- Perin J. 1977. Compte rendu de quelques essais de refrigeration des ins. *Le Vigneron Champenios*, 98, 3: 97-101
- Radovanović V. 1986. *Tehnologija vina*. Beograd, Gredevinska knjiga: 686 str.
- Racman K. 2001. Uporaba konduktometrije za odstranjevanje kalijevega hidrogentartrata pri tehnologiji vin. *Diplomsko delo*. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo; 86 str.
- Rankine B.C. 1998. *Making good wine: a manual of winemaking for Australia and New Zeland*. Sydney, Pan Macmillian Australia: 154-170
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Duburdieu D. 2000. *Handbook of enology. Volume 2: The chemistry of wine stabilization and treatments*. New York, John Wiley & Sons: 3-40
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Duburdieu D. 2004. *Traité d'oenologie. Vol. 2. Chimie du vin, stabilisation et traitements*. 5^{ème} éd. Paris, Pratiques Viti-Vinicoles: 3-40
- Rodež S. 1983. Vpliv dveh različnih postopkov stabilizacije vina na vinski kamen. *Diplomsko delo*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 64 str.
- Sant Pierre B., Batlle J. L., Escudier J. L., Moutounet M., 1998. L'instabilité tartrique des vins: problématique, évaluation, méthodes et techniques de stabilisation. V: *Oenologie: Fondements scientifiques et technologiques*. Flanzky C. (ed.). Paris, Technique & Documentation: 921-935

Somers T.C., Ziemelis G. 1985. Flavonol haze in white wines. *Vitis*, 24: 43-50

Šikovec S. 1993. Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 284 str.

Vernhet A., Dupre K., Boulange-Petermann L., Cheynier V., Pellerin P., Moutounet M. 1999. Composition of tartrate precipitates deposited on stainless steel tanks during the cold stabilization of wines. Part I. White wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50, 4: 391-397

Wurdig G., Muller T., Friedrich G. 1982. Method of establishing the tartrate stability of wine by determining saturation temperature. *Bulletin de l'O.I.V.*, 55: 220-229

Zoecklein B.W. 1988. A review of potassium bitartrate stabilization of wines. Blacksburg, Virginia Polytechnic Institute and State University, Department of Horticulture: Publication 463-013

<http://www.fst.vt.edu/extension/enology/downloads/PotBitar.pdf> (september 2006): 14 str.

Zoecklein B.W. 2002. Bitartrate stability, Blacksburg, Virginia, Department of Food Science and Technology at Virginia Tech. *Enology notes*, 37, Januar 2002

<http://www.fst.vt.edu/extension/enology/EN/37.html> (september 2006): 1 str.

ZAHVALA

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

Prav tako se zahvaljujem prof. dr. Mariji Bester-Rogač iz Katedre za fizikalno kemijo na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo za uporabo aparature za merjenje prevodnosti in pomoč pri samem merjenju. Za meritve vsebnosti kalija in predvsem kritičen komentar dobljenih rezultatov se zahvaljujem gospodu Vojmirju Francetiču, prav tako iz Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo (Katedra za analizo kemijo).

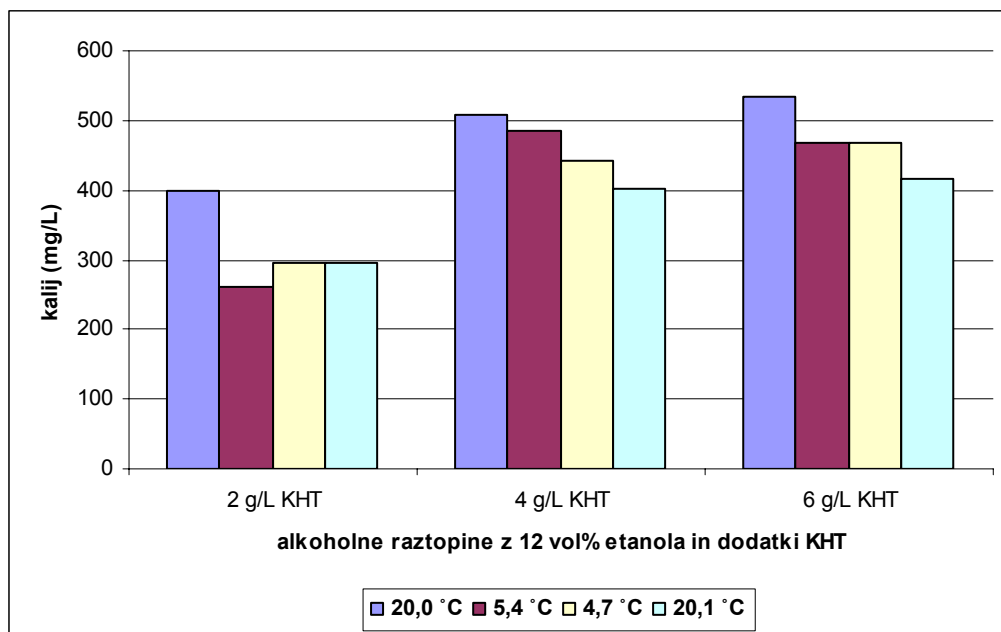
Za pregled diplomske naloge se zahvaljujem doc. dr. Rajku Vidrihu. Iskrena hvala tudi gospe Zdenki Zupančič za vodstvo pri laboratorijskem delu.

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

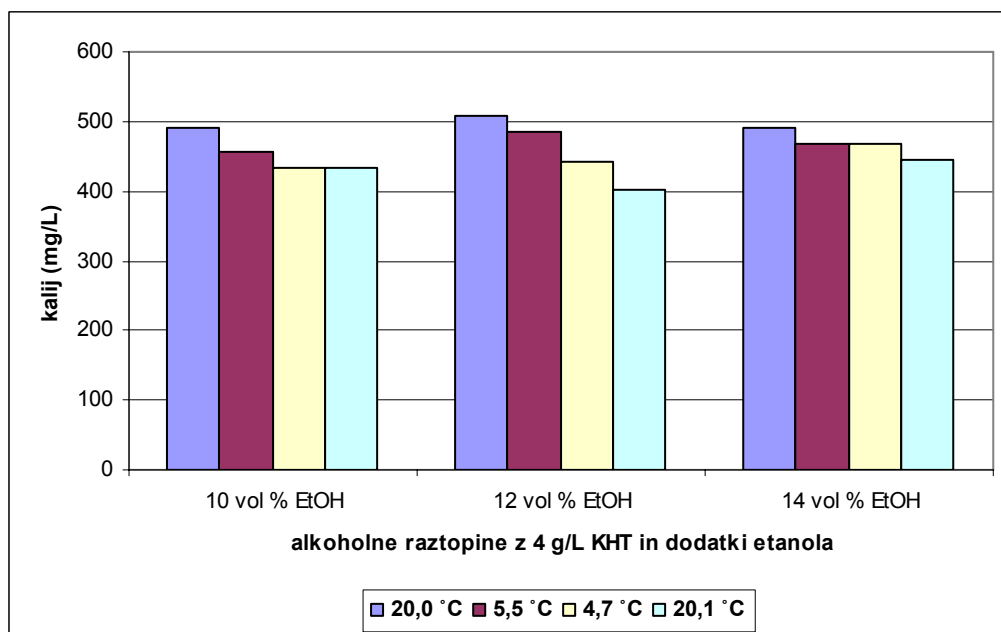
Iskrena hvala moji družini, predvsem dedku in babici, za vso podporo, razumevanje in vzpodbudo.

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

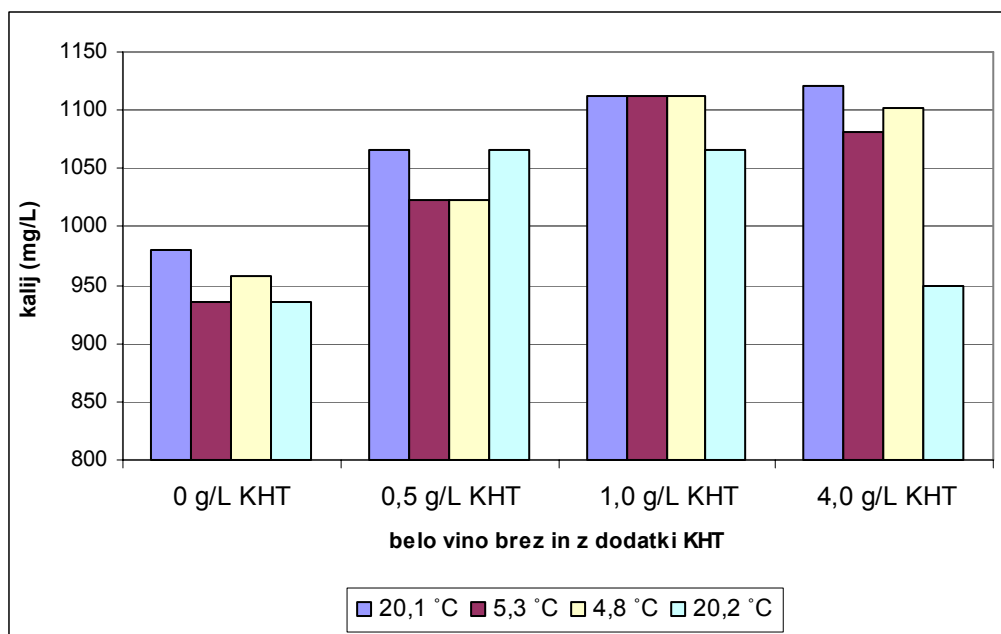
PRILOGE



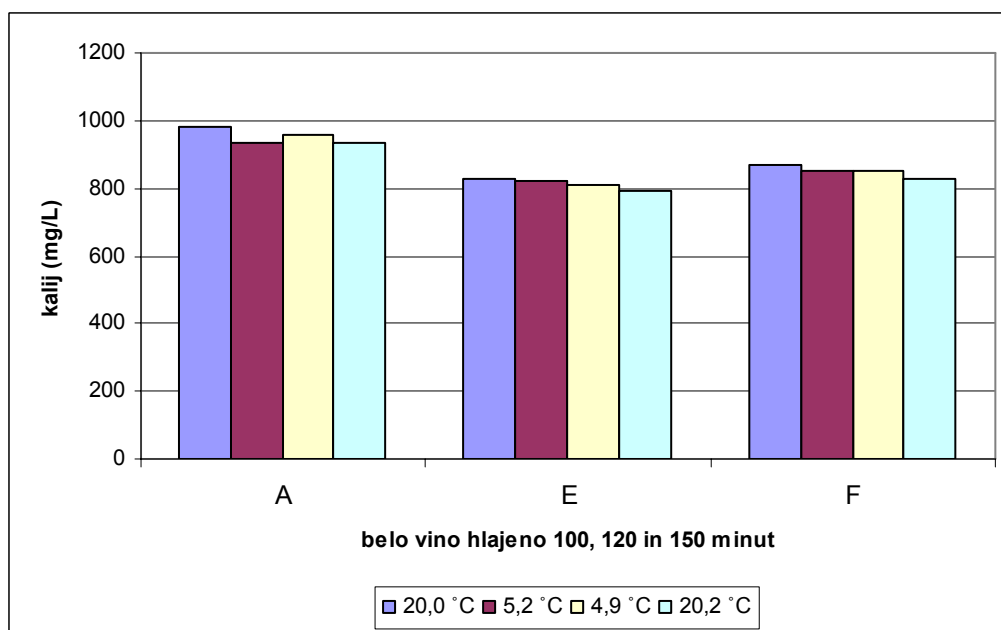
Priloga A: Vsebnosti kalija v vzorcih modelnih alkoholnih raztopin z 12 vol.% etanola in z dodatki različnih koncentracij KHT pri različnih temperaturah



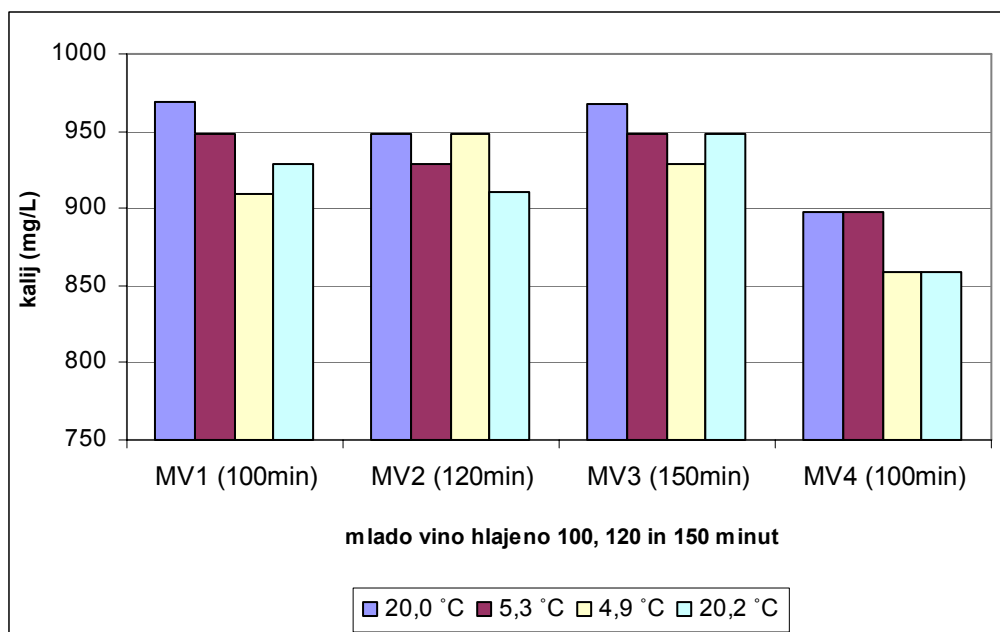
Priloga B: Vsebnosti kalija v vzorcih modelnih alkoholnih raztopin s 4 g KHT/L in z dodatki različnih koncentracij etanola pri različnih temperaturah



Priloga C: Vsebnosti kalija v vzorcih belega vina letnika 2004 z dodatki različnih koncentracij KHT pri različnih temperaturah



Priloga D: Vsebnosti kalija v vzorcih belega vina letnika 2004, hlajenih v različnih časovnih režimih na določeno temperaturo



Priloga E: Vsebnosti kalija v vzorcih mladega belega vina letnika 2005, hlajenih v različnih časovnih režimih na določeno temperaturo