

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Janja KLANJČAR

**VPLIV OBDELAVE POVRŠINE NERJAVNEGA JEKLA IN DODATKA
MANOPROTEINOV NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**THE INFLUENCE OF STAINLESS STEEL SURFACE TREATMENT
AND MANNOPROTEINS ADDITION ON THE POTASSIUM
HYDROGEN TARTRATE PRECIPITATION**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Biotehniški fakulteti v Ljubljani na Oddelku za živilstvo v laboratoriju Katedre za vinarstvo. Del analiz je bilo opravljenih na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo v Ljubljani.

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

Mentorica: doc. dr. Tatjana Košmerl

Recenzent: doc. dr. Rajko Vidrih

Komisija za zagovor in oceno:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Janja Klanjčar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
DK UDK 663.256.1 (043) = 863
KG vino/vinski kamen/kalijev hidrogentartrat/KHT/stabilizacija vina/kristalizacija tartratov/indukcijski čas
AV KLANJČAR, Janja
SA KOŠMERL, Tatjana (mentorica)/VIDRIH, Rajko (recenzent)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2007
IN VPLIV OBDELAVE POVRŠINE NERJAVNEGA JEKLA IN DODATKA MANOPROTEINOV NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP X, 55 str., 10 pregl., 25 slik, 36 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Kalijev hidrogentartrat (KHT) je naravna sestavina vseh vin, ki se lahko v primeru nestabiliziranega vina kot vinski kamen izkristalizira v steklenicah, bodisi zaradi transporta ali izpostavljenosti nizkim temperaturam. Namen poskusa je bil ugotoviti, kako vpliva različna obdelava nerjavnega jekla in dodatek manoproteinov na izločanje vinskega kamna. Meritve smo opravili na osnovnem in prenasičenem vzorcu belega vina letnika 2003. Prenasičenje smo dosegli z dodatkom 5,7 g KHT/L vzorca pri 20 °C. Stabilizacija je potekala pri temperaturah od 2 do 7,5 °C, 50 ur. Uporabili smo manoproteine 1 v količini dodatka 0,5 g/L in 1,0 g/L in manoproteine 2 v količinah 0,2 in 0,4 g/L ter 0,3 in 0,6 g/L. Med postopkom kristalizacije smo spremljali rast, velikost, obliko in maso kristalov, ki so se izločili na površino iz nerjavnega jekla, katerega površina je bila neobdelana ali obdelana z diamantno pasto do visokega sijaja in gladkosti. Časovni potek kristalizacije smo začeli spremljati po desetih urah, ko je bilo vzpostavljeno temperaturno ravnotežje. Pred in po kristalizaciji smo v vzorcu vina določili osnovno fizikalno-kemijsko sestavo: pH, titrabilne in skupne kisline, pufrno kapaciteto in vsebnost kalija. Obdelava površine nerjavnega jekla ni bistveno vplivala na izločanje vinskega kamna. Dodatek manoproteinov čas kristalizacije pospeši, kot so do neke mere delovali manoproteini 1 in pri manjših dodatkih tudi manoproteini 2 ali pa dodatek manoproteinov deluje zaščitno oziroma podaljša čas kristalizacije, kar se je pokazalo pri obeh uporabljenih manoproteinih.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 663.256.1 (043) = 863
- CX wines/tartrates/tartrate crystals/potassium hydrogen tartrate/KHT/wine stabilization/tartrate crystallization/induction period/basis wine
- AU KLANJČAR, Janja
- AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/VIDRIH, Rajko (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2007
- TI THE INFLUENCE OF STAINLESS STEEL SURFACE TREATMENT AND MANNOPROTEINS ADDITION ON THE POTASSIUM HYDROGEN TARTRATE PRECIPITATION
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO X, 55 p., 10 tab., 25 fig., 36 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Potassium hydrogen tartrate (KHT) is a natural ingredient of wine. This ingredient could crystallize in case of unstable wine as tartar in bottles. That can happen during transportation of wine or because the wine was exposed to low temperatures. The intention of this experiment was to explore the influence of different types of stainless steel and addition of mannoproteins on crystallization of tartar. We have measured the normal and oversaturated sample of white wine, vintage 2003. Oversaturation was achieved with 5,7 g of KHT/L of sample by 20 degrees Celsius. Stabilisation was done by 2 to 7 degrees Celsius. We used mannoproteins 1 in quantities 0,5 g/L and mannoproteins 2 in quantities 0,2 and 0,4 g/L and 0,3 g/L and 0,6 g/L. During the process of crystallisation we have observed the size, shape and mass of crystals. The crystals were free by chemical process on stainless steel surface. The surface was untreated or treated with diamond paste to achieve shine and smoothness. We have started to observe crystallisation process after 10 hours after the temperature balance was reestablished. Before and after crystallisation the basic physical and chemical composition of wine sample was defined pH, titratable and total acids, buffer capacity and content of potassium. Treatment of stainless steel surface didn't affect the crystallization of tartar. Addition of mannoproteins accelerates the crystallization time (same effect when we add mannoproteins 1 and in case of limited addition of mannoproteins 2). Addition of mannoproteins could also have a protective character or extend the crystallization time, what we observed in case of mannoproteins 1 and 2.

KAZALO

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION.....	IV
KAZALO	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI.....	X
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	3
2.1.2 VINSKA KISLINA.....	4
2.1.3 KALIJ.....	6
2.1.4 KALCIJEV TARTRAT	6
2.2 Rast kristalov in prenasičenje	7
2.3 Pufrna kapaciteta	9
2.4 Dejavniki, ki vplivajo na hitrost izločanja vinskega kamna.....	10
2.4.1 KOLOIDI	10
2.4.2 POLISAHARIDI IN POLIFENOLI.....	11
2.4.3 BELJAKOVINE.....	11
2.4.4 VREDNOST pH, VSEBNOST ALKOHOLA IN TEMPERATURA.....	12
2.4.5 MINERALI	12
2.5 Postopki stabilizacije vina	13
2.5.1 FIZIKALNI POSTOPKI STABILIZACIJE	13
2.5.2 KEMIJSKI POSTOPKI STABILIZACIJE.....	16
2.6 Testi za določitev stabilnosti vina na vinski kamen	21
2.6.1 TEST Z ZMRZOVANJEM.....	21
2.6.2 MINI KONTAKTNI TEST.....	21
2.6.3 MERJENJE ELEKTROLITSKE PREVODNOSTI.....	21
2.6.4 IZRAČUN KONCENTRACIJSKEGA PRODUKTA.....	22
2.6.5 IZRAČUN TEMPERATURE PRENASIČENJA	22
3 MATERIALI IN METODE.....	23
3.1 Načrt poskusa	23

3.1.1	NERJAVNO JEKLO.....	23
3.1.2	OBDELAVA PLOŠČIC	23
3.2	Metode dela	23
3.2.1	DOLOČANJE VREDNOSTI pH.....	24
3.2.2	DOLOČANJE SKUPNIH (TITRABILNIH) KISLIN.....	24
3.2.3	DOLOČANJE PUFERNE KAPACITETE	25
3.2.4	DOLOČANJE KALIJA	26
3.3	Izvedba poskusa.....	26
3.3.1	PREDPOSKUS	26
3.3.2	POSKUSI	26
4	REZULTATI	29
4.1	Rezultati predposkusa.....	29
4.2	Rezultati poskusov.....	29
4.2.1	VPLIV OBDELANE IN NEOBDELANE POVRŠINE NERJAVNEGA JEKLA NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA.....	29
4.2.2	VPLIV DODATKA MANOPROTEINOV 1 (0,5 g/L IN 1,0 g/L) NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA.....	34
4.2.3	VPLIV DODATKA MANOPROTEINOV 2 (0,2 g/L IN 0,4 g/L) NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA.....	38
4.2.4	VPLIV DODATKA MANOPROTEINOV 2 (0,3 g/L IN 0,6 g/L) NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA.....	42
5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	48
5.1	Razprava	48
5.1.1	PREDPOSKUS	48
5.1.2	POSKUSI	48
5.2	Sklepi	51
6	POVZETEK	52
7	VIRI.....	53

ZAHVALA

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1	Testi za razlikovanje med kristali kalijevega hidrogentartrata (KHT) in kalcijevega tartrata (CaT) – (Rodež, 1983)	6
Preglednica 2	Vpliv različnih enoloških postopkov na zaščitne koloide (Berta, 1993)	10
Preglednica 3	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)	15
Preglednica 4	Vpliv temperature skladiščenja (°C) na čas varovalnega učinka metavinske kisline (Judež, 1981)	16
Preglednica 5	Pregled uporabljenih manoproteinov	26
Preglednica 6	Vpliv obdelane in neobdelane površine nerjavnega jekla na kemijske parametre v primerjavi s kontrolo	29
Preglednica 7	Vpliv dodatka manoproteinov 1 (0,5g/L in 1,0 g/L) na kemijske parametre v primerjavi s kontrolo	34
Preglednica 8	Vpliv dodatka manoproteinov 2 (0,2 g/L in 0,4 g/L) na kemijske parametre v primerjavi s kontrolo	38
Preglednica 9	Vpliv dodatka manoproteinov 2 (0,3 g/L in 0,6 g/L) na kemijske parametre v primerjavi s kontrolo	42
Preglednica 10	Pregled rezultatov poskusov z dodatkom manoproteinov	46

KAZALO SLIK

Slika 1	Topnost vinskega kamna v odvisnosti od temperature (Judež, 1955)	3
Slika 2	Shematski prikaz porazdelitve vinske kisline v grozdni jagodi – v osrednji coni (Šikovec, 1993)	5
Slika 3	Shematski prikaz porazdelitve jabolčne kisline v grozdni jagodi – v centralni coni okrog pečk (Šikovec, 1993)	5
Slika 4	Shematski prikaz razporeditve vinske in jabolčne kisline (Šikovec, 1993)	5
Slika 5	Odvisnost relativne koncentracije disociacijskih oblik vinske kisline od vrednosti pH (Jackson, 2000)	12
Slika 6	Manoproteini Batonnage Plus Structure	27
Slika 7	Manoproteini Opti White	27
Slika 8	Nastavitev poskusa – 1000 mL merilne čaše, volumen vina v čaši je 700 mL	27
Slika 9	Ploščica iz nerjavnega jekla (AISI 303)	28
Slika 10	Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na obdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri temperaturi ohlajanja 7,5 – 4 °C	30
Slika 11	Obdelana površina ploščic po poskusu	31
Slika 12	Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri temperaturi ohlajanja 7,5 – 4 °C	32
Slika 13	Neobdelana površina ploščic po poskusu	33
Slika 14	Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri manjšem dodatku manoproteinov 1 (0,5 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 2 °C	35
Slika 15	Neobdelana površina ploščic (manjši dodatek manoproteinov 1; 0,5 g/L) po poskusu	36
Slika 16	Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri večjem dodatku manoproteinov 1 (1,0 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 2 °C	37
Slika 17	Neobdelana površina ploščic (večji dodatek manoproteinov 1; 1,0 g/L) po poskusu	38
Slika 18	Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri manjšem dodatku manoproteinov 2 (0,2 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 3 °C	39
Slika 19	Neobdelana površina ploščic (manjši dodatek manoproteinov 2; 0,2 g/L) po poskusu	40
Slika 20	Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri večjem dodatku manoproteinov 2 (0,4 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 3 °C	41
Slika 21	Neobdelana površina ploščic (večji dodatek manoproteinov 2; 0,4 g/L) po poskusu	42
Slika 22	Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri manjšem dodatku manoproteinov 2 (0,3 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 2 °C	43
Slika 23	Neobdelana površina ploščic (manjši dodatek manoproteinov 2; 0,3 g/L) po poskusu	44
Slika 24	Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini	45

	ploščic iz nerjavnega jekla pri večjem dodatku manoproteinov 2 (0,6 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 2 °C	
Slika 25	Neobdelana površina ploščic (večji dodatek manoproteinov 2; 0,6 g/L) po poskusu	45

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

A – površina kristala

β – pufna kapaciteta

CaT – kalcijev hidrogentartrat

c_{KHT} – koncentracija kalijevega hidrogentartrata

c_{K^+} - koncentracija kalijevega iona

$c_{\text{H}_2\text{T}}$ – koncentracija vinske kisline

CP – koncentracijski produkt

δ – debelina plasti tekočine ob površini kristala

D – difuzijski koeficient

KHT – kalijev hidrogentartrat

k_s – koeficient površinske integracije

K_{SP} – topnostni produkt

TK_1 – titrabilne kisline

TK_2 – skupne kisline

$\text{PK}_{\text{DEJ.}}$ – dejanska pufna kapaciteta

$\text{PK}_{\text{ORI.}}$ – orientacijska pufna kapaciteta

$\text{PK}_{\text{RAZL.}}$ – razlika orientacijske in dejanske pufne kapacitete

S – stopnja prenasičenja

1 UVOD

Vina se nahajajo v naravnem stanju prenasajenja s kalijevim hidrogentartratom (KHT) in kalcijevim tartratom in bodo v vsakem primeru slej ali prej kristalizirala. Zaradi tega je nujno potrebna stabilizacija vina na vinski kamen pred stekleničenjem. Razlogi, ki privedejo do kristalizacije so različni. Začne se že med alkoholno fermentacijo, ko se zaradi dviga alkoholne stopnje zmanjšuje topnost KHT. V primeru, da vina pred stekleničenjem ne stabiliziramo, se kristali KHT izločijo kasneje, bodisi zaradi padca temperature (nepravilno hlajenje med skladiščenjem), izpostavljenosti svetlobi (UV žarkom), mehanskih tresljajev (stresanje med prevozom ali stekleničenjem), idr. Možnosti, da dobi potrošnik v roke steklenico vina z usedlino vinskega kamna, je ogromno.

Vino je pijača, ki postaja med ljudmi iz leta v leto bolj priljubljena, bodisi zaradi zdravstvenih ali hedonističnih razlogov. Sčasoma postajajo uživalci vina vedno bolj zahtevni in ne sprejemajo kateregakoli vina, zaradi česar postajajo zahteve po visoki kakovosti vina vedno strožje. Kljub temu, da senzorična kakovost vina z usedlino KHT ni prizadeta, se potrošniki le stežka odločijo za nakup vina, v katerem so enkrat zasledili usedlino vinskega kamna. Prav zaradi tega razloga je stabilizacija vina pred stekleničenjem nujno potrebna. Poslužujemo se več načinov stabilizacije vina: od pospešene kristalizacije z ohlajevanjem in odstranitvijo kristalov, dodatka metavinske kisline, elektrodialize do uporabe ionske izmenjave in obratne osmoze. Dolga leta so za stabilizacijo uporabljali hlajenje vina brez dodatka kristalov in naknadno odstranitev kristalov, a je ta proces dolgotrajen in energetsko zelo potraten. Na podlagi raziskav, ki so bile opravljene v zadnjih letih, se je za samo kakovost vina najbolje izkazala stabilizacija vina s hlajenjem in dodatkom kristalov KHT, ki skrajša potreben čas za stabilizacijo, poleg tega pa v vino ne dodajamo ničesar, kar ne bi bilo del naravne sestave vina. Čas, ki je potreben za doseg stabilizacije vina, ni odvisen le od uporabljene temperature, temveč tudi od naravno prisotnih inhibitorjev (zaščitni koloidi, fenolne snovi, beljakovinski in polisaharidni polimeri, idr.) ali pospeševalcev (kalij, kalcij, magnezij, železo, idr.) kristalizacije, a učinek vseh še ni znan.

1.1 Namen dela

Namen mojega diplomskega dela je bil ugotoviti, kako vpliva različna obdelava površine nerjavnega jekla in dodatek manoproteinov na izločanje vinskega kamna. Izločanje vinskega kamna smo spremljali pri različnih temperaturah. Poskus smo izvedli na osnovnem vinu, ki ni bilo stabilizirano na vinski kamen in na prenasajenem vinu s kalijevim hidrogentartratom, v katerega smo potopili obdelane ploščice oziroma neobdelane ploščice iz nerjavnega jekla. Vzorčenje ploščic iz nerjavnega jekla se je pričelo, ko so se na ploščicah pojavili prvi kristali vinskega kamna in nadaljevalo v periodah treh ur. Po končanem vzorčenju smo ploščice posušili in stehali – kvantitativno smo določili izločanje vinskega kamna.

1.2 Delovna hipoteza

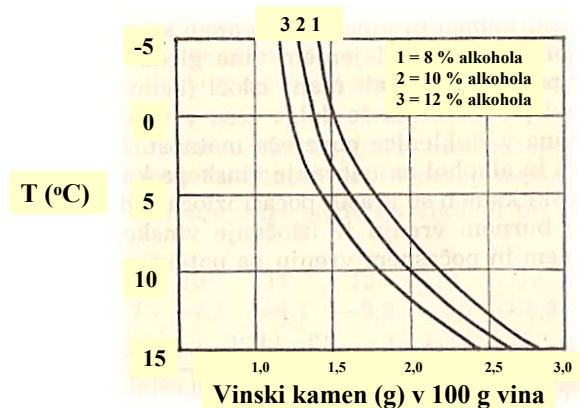
V nestabiliziranem belem vinu bomo pojasnili vpliv začetne kemijske sestave vina (pH, skupne in titrabilne kisline, vsebnost kalijevega iona), ki naj bi po pričakovanjih z naraščajočo koncentracijo oziroma v pogojih prenasičenja s KHT, značilno skrajšali indukcijski čas kristalizacije, v povezavi z dodatkom dveh različnih manoproteinov med postopkom stabilizacije vina. Pri končni tehnološki obdelavi vina pred stekleničenjem bomo na osnovi dobljenih rezultatov lahko sklepali na časovni potek stabilizacije vina na izločanje vinskega kamna pri različnih temperaturah in različnih obdelavah notranje površine nerjavnega jekla. Predvidevamo, da bo na neobdelani površini jekla, pri nižjih temperaturah in pri dodatku manoproteinov, značilno večja količina ter velikost izločenih kristalov.

2 PREGLED OBJAV

2.1 Vinski kamen

Vinski kamen je kislina kalijevega in kalcijevega sol vinske kisline. Prisoten je v vsakem naravno pridelanem vinu. Izloča se v koloidni obliki že med potekom alkoholne fermentacije rdeče drozge ali belega mošta, še posebej v večjem obsegu v primeru burne fermentacije pri višji temperaturi. Z naraščanjem koncentracije alkohola med fermentacijo se zmanjšuje topnost vinskega kamna, kar vodi v tvorbo kristalov. Stabilizacija vina pred stekleničenjem je nujno potrebna, saj je izločanje kristalov vinskega kamna neizogibno, bodisi zaradi padca temperature, izpostavljenosti svetlobi (UV žarkom), mehanskih tresljajev (stresanja med prevozom ali med stekleničenjem), torej dejavnikom, ki vplivajo na porušenje ravnotežja in s tem na netopnost vinskega kamna. 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 osmoza in membranska elektrodializa. 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).



Slika 1: Topnost vinskega kamna v odvisnosti od temperature (Judež, 1955)

2.1.1 KALIJEV HIDROGENTARTRAT

Največji delež vinskega kamna predstavlja kalijev hidrogentartrat, ki nastane z nevtralizacijo karboksilne skupine vinske kisline z molekulo kalija. Vinska kislina se pojavlja v vinu v nedisociirani obliki (H_2T) in v disociirani obliki kot tartratni (T^{2-}) in hidrogentartratni ion (HT^-) ter v obliki soli kalijevega hidrogentartrata (KHT). Glavni dejavnik, ki vpliva na topnost kalijevega hidrogentartrata, je vsebnost kalijevega in hidrogentartratnega iona. Do izločanja soli pride, ko produkt molarne koncentracije teh ionov preseže vrednost topnostnega

produkta, to je v primeru prenasičenja raztopine in poteka vse dokler ti dve vrednosti nista izenačeni. Takrat je dosežena stabilnost vina (Bolčina, 2002).

Med rastjo se kristali KHT združujejo v večje skupke, ki se nabirajo na stenah vinske posode. Pod mikroskopom jih vidimo kot neenotna telesa, s hrapavimi površinami in neravnimi robovi. So delno prosojni, manjši so belo obarvani, večji pa rjavkasti (Rodež, 1983).

2.1.2 VINSKA KISLINA

Vinska kislina se nahaja v vseh delih vinske trte v obliki D-vinske kisline. Oksidacija te kisline v grozdnih jagodah poteka samo pri višjih temperaturah, to je nad 30 °C, drugače pa se oksidacijski procesi v jagodi pri nižjih temperaturah ali v dnevih s padavinami preusmerijo bolj na jabolčno kislino. Tako obstaja med vinsko in jabolčno kislino določeno razmerje, ki ni stalno, ker je odvisno od višine temperature in količine padavin med razvojem in dozorevanjem grozdnih jagod. Če pa se pojavi na grozdju siva plesen, se lahko bolj zmanjša vinska kot jabolčna, ker *Botrytis cinerea* porabi za svoj micelij dva- do trikrat več vinske kisline kot jabolčne. Količina vinske kisline pa je odvisna od sorte, klimatskih pogojev, stopnje zrelosti, idr. (Šikovec, 1993).

Med razvojem in dozorevanjem jagod prehaja vinska kislina v rastlino v obliki soli in sicer kot primarni kalijev hidrogentartrat (kisli), sekundarni kalijev tartrat (nevtralni), primarni kalcijev tartrat in sekundarni kalcijev tartrat. Od vseh je najbolj zastopan primarni kalijev hidrogentartrat, ki se pojavlja že v grozdju. Ta sol vinske kisline je slabo topna v vodi in še manj v alkoholu, tako se v vinu redno bolj ali manj izloča. Slabo topne pa so tudi kalcijeve soli vinske kisline, zlasti sekundarni kalcijev tartrat. Skupaj s primarnim kalijevim hidrogentartratom se ta sol izloča delno že v moštu, zlasti med alkoholnim vrenjem in se stopnjuje, če to poteka pri nižjih temperaturah. Izločanje se nadaljuje v vinu kot vinski kamen na dnu ali stenah posode. Soli vinske kisline lahko namreč tvorijo prenasičene raztopine, zato se pogosto vinski kamen izloča in povzroča motnost vina šele v steklenicah, če vino ni bilo stabilizirano na vinski kamen. Zaradi izločanja soli vinske kisline iz mošta ali vina se lahko zniža kislost, ki pogosto dosega 2 do 3 g/L in sicer: 1 g izločenega primarnega KHT iz vina zniža kislost za 0,4 g/L (Šikovec, 1993).

Vinska kislina se v grozdju in vinu pojavlja v treh ionizacijskih oblikah:

- v nedisociirani obliki (H_2T),
- disociirana kot hidrogentartrati ion (HT^-),
- disociirana kot tartratni ion (T^{2-}).

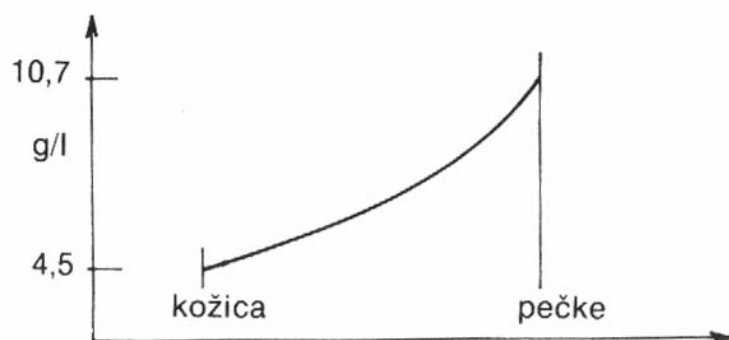
Med posameznimi vini je razmerje vsebnosti teh treh oblik zelo različno, saj je odvisno od temperature, vrednosti pH, ionske moči, idr. (Zoecklein, 1988).



Slika 2: Shematski prikaz porazdelitve vinske kisline v grozdni jagodi – v osrednji coni (Šikovec, 1993)



Slika 3: Shematski prikaz porazdelitve jabolčne kisline v grozdni jagodi – v centralni coni okrog pečk (Šikovec, 1993)



Slika 4: Shematski prikaz razporeditve vinske in jabolčne kisline (Šikovec, 1993)

V jagodnem mesu je koncentracija vinske kisline največja v osrednji coni (slika 2), medtem ko je največ jabolčne kisline v centralni coni (slika 3), narašča v notranji in upada v zunanji (Šikovec, 1993).

V treh conah jagodnega mesa je bila ugotovljena koncentracija vinske kisline naslednja (Šikovec, 1993):

- 13,47 g/L v notranji coni (ob pečkih),
- 8,72 g/L v srednji coni in
- 4,59 g/L v zunanji coni (ob jagodni kožici).

Nihanja kislin so zelo velika, prosta kislina lahko variira od en- do trikrat, prav tako razmerja med posameznimi kislinami, to pa je odvisno zlasti od stopnje zrelosti jagod (Šikovec, 1993).

2.1.3 KALIJ

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 tartrat, hidrogentartrat, sulfat in barvila. Količina kalija v vinu je odvisna od mnogih dejavnikov, od katerih so najpomembnejši: sorta grozdja, vrsta podlage, geoklimatski pogoji, gnojenje, čas trgatve, način predelave, 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 predelave – maceracije rdeče drozge, med katero pride do popolnejše ekstrakcije kalija iz jagodne kožice, ki vsebuje kar 30 – 40 % kalija celotne grozdne jagode (Bolčina, 2002).

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

2.1.4 KALCIJEV TARTRAT

Velik problem pri stabilnosti vina na vinski kamen predstavlja težko topen kalcijev tartrat (v nadaljevanju CaT), ki se izloča šele po stekleničenju. Nastane z nevtralizacijo obeh karboksilnih skupin vinske kisline s kalcijevim ionom. Do pojava CaT pride v primerih pretirane uporabe kalcijevega karbonata, ki se uporablja za kemijski razkis mošta ali vina, nadalje v betonskih cisternah, filtrirnih slojnicah ali z uporabo čistilnih sredstev (Bolčina, 2002).

V primerjavi s KHT je njegova topnost bistveno manjša (v vodi pri 20 °C znaša le 0,315 g/L) in temperaturno skoraj neodvisna, tako da si s postopkom stabilizacije s hlajenjem ne moremo kaj dosti pomagati. Na hitrejše izločanje kristalov vplivata večja koncentracija etanola (znižanje topnostnega produkta) in povišana pH vrednost. Velik vpliv na izločanje CaT ima jabolčna kislina, ki tvori s kalcijem dvakrat bolj topen kalcijev malat. Prav tako pripomore k hitrejši kristalizaciji jabolčno-mlečnokislinska fermentacija, s katero zmanjšamo koncentracijo inhibitorne jabolčne kisline (Rodež, 1983).

K večji topnosti CaT pripomorejo aminokisline, med katerimi imata največji učinek arginin in prolin (Bolčina, 2002).

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

Preglednica 1: Testi za razlikovanje med kristali kalijevega hidrogentartrata (KHT) in kalcijevega tartrata (CaT) – (Rodež, 1983)

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

2.2 Rast kristalov in prenasíčenje

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, prenasíčeni s KHT, kjer so razlog za začetek kalijevi in hidrogentartratni 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 jeder se prične rast kristalov, ki poteka v dveh stopnjah. V prvi stopnji gre za prehod (difuzijo) delcev iz raztopine na površino jeder, pri čemer morajo delci preiti mirujočo plast tekočine ob površini jedra. Stopnja prehoda je linearno odvisna od difuzijskega koeficienta (D), površine kristala (A) in stopnje prenasíčenja ($C - C^*$) in obratno sorazmerna od debeline plasti tekočine ob površini (δ) – (Dunsford in Boulton, 1981):

$$-\frac{d(s)}{dt} = k_D \cdot \frac{D \cdot A \cdot (C - C^*)}{\delta} \quad (1)$$

V drugi stopnji gre predvsem 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 (Dunsford in Boulton, 1981):

$$-\frac{d(s)}{dt} = k_S \cdot A \cdot (C - C^*)^n \quad (2)$$

kjer pomeni koeficient k_S – koeficient površinske integracije in n – red reakcije na površini kristala, katerega vrednost se giblje od 2 do 5.

Kinetiko nastanka jeder najlažje določimo z merjenjem indukcijskega časa. To je čas, ki poteče od vzpostavitve prenasíčenja 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, idr. Indukcijski čas ($t_{ind.}$) je torej vsota časa, ki poteče do nastanka jedra (t_i) in časa, ki poteče, da zraste do velikosti, ki jo lahko zaznamo z izbrano metodo merjenja (t_g) (Košmerl in sod., 2003):

$$t_{ind.} = t_i + t_g \quad (3)$$

Iz relacije (3) 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 jedra je mnogo daljši od časa rasti jedra do vidne velikosti: $t_i > t_g$,
- čas, ki poteče do nastanka kritičnega jedra je mnogo krajši od časa rasti jedra 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 (4) opisuje odvisnost $t_{ind.}$ od stopnje prenasičenja in temperature (Košmerl in sod., 2003):

$$\log t_{ind.} = \frac{B}{T^3 \cdot (\log S)^2} - A \quad (4)$$

V relaciji (4) pomenijo: A in B – empirični konstanti, ki sta odvisni 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 od notranjega ravnotežja, alkoholne stopnje, vrednosti pH, prisotnosti inhibitorjev, temperature, idr. V stanju prenasičenja se tvorijo kristali, ki vodijo v sedimentacijo (Bolčina, 2002).

Berg in Keefer sta leta 1958 na modelu raztopin voda/alkohol opisala topnost KHT pri različnih temperaturah in koncentracijah alkohola. 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, ionske 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 (5) izračunamo koncentracijski produkt (CP) (Berg in Keefer, 1958):

$$CP \text{ (mol}^2 \text{/L}^2\text{)} = [c_{K^+} \text{ (mol/L)} \cdot c_{H_2T} \text{ (mol/L)}] \cdot \left(\frac{HT^- \text{ (\%)}}{100} \right) \quad (5)$$

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

Količino KHT (g/L) izračunamo z relacijo (6) (Berg in Keefer, 1958):

$$KHT \text{ (g/L)} = CP^{\frac{1}{2}} \cdot 188,177 \quad (6)$$

Na podlagi izračunane količine KHT v vinu in količine KHT v prenasičenju pri dani temperaturi izračunamo stopnjo prenasičenja, ki je bistvena za potek kristalizacije:

Relativno prenasičenje (Košmerl in Francetič, 2002):

$$\delta = \frac{c - c_0}{c_0} \quad (7)$$

Stopnja prenasičenja (Košmerl in Francetič, 2002):

$$S = \frac{c}{c_0} \quad (8)$$

V relacijah (7) in (8) pomenita c – trenutno izmerjeno molsko koncentracijo (mol/L) in c_0 – ravnotežno molsko koncentracijo (mol/L).

2.3 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 (9) (Ribéreau-Gayon in sod., 2000):

$$\beta = \frac{\Delta B}{\Delta pH} = 2,303 \cdot \frac{[HA] \cdot [A^-]}{[HA] + [A^-]} \quad (9)$$

V relaciji (9) pomenijo: β – pufrna kapaciteto, ΔpH – spremembo vrednosti pH zaradi dodatka močne baze (ΔB), $[HA]$ – koncentracijo kisline, $[A^-]$ – koncentracijo aniona kisline.

Podatek o puforni kapaciteti je nujno potreben pri razkisu ali dokisu vina, da se izognemo nepotrebni 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 bo le-ta med stabilizacijo vina na vinski kamen zmanjšala (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

2.4 Dejavniki, ki vplivajo na hitrost izločanja vinskega kamna

2.4.1 KOLOIDI

Koloidi so delci oziroma molekule velikosti 10^{-9} do 10^{-6} m in so lahko hidrofilnega ali hidrofobnega značaja. Med slednje štejemo agregate molekul kristalne strukture, barvne koloidne spojine, sedimente, itd., 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 in grozdnega izvora in 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 z *Botrytis cinerea* (Zoecklein, 1988). Pri doseganju stabilnosti se v vinarstvu uporabljajo manani kvasovk, galaktani, arabani, gumiarabika, škrob, dekstran in karboksimetilceluloza (Bolčina, 2002).

Z grobimi obdelavami kot je tangencialna mikrofiltracija, povzročimo spremembe koloidne sestave 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 vina. Postopki bistrenja in filtracije zmanjšajo, dodatki koloidnih sestavin pa povečajo vpliv zaščitnih koloidov (Bolčina, 2002).

Preglednica 2: Vpliv različnih enoloških postopkov na zaščitne koloide (Berta, 1993)

Uporabljen postopek	Masna koncentracija (g/L)	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 μ m	–	5,1	–1,9
čiščenje z aktivnim ogljem	30	5,4	–1,6
toplotni izmenjevalec	–	5,5	–1,5
čiščenje s taninom/želatino	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
gumiarabika	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
metavinska kislina	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

2.4.2 POLISAHARIDI IN POLIFENOLI

Poleg kalijevega hidrogentartrata zasledimo v vinskem kamnu tudi kalcij v sledovih, polisaharide in fenolne kisline. Največji delež polisaharidov predstavlja galakturonan I, ki zaradi močnega negativnega naboja kaže največjo tendenco do adsorpcije na pozitivno naelektren KHT. V manjših količinah so prisotni še araban, arabinogalaktan, manoproteini kvasovk in galakturonan II (Vernhet in sod., 1999).

Polisaharidi so sestavni del odmrlih kvasnih celic, ki so lahke 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).

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 kristalov vinskega kamna in odstranitev le-teh med ultra- in mikrofiltracijo povzroči pospešeno rast kristalov. To je tudi eden izmed razlogov uporabe ultra- in mikrofiltracije, saj na ta način skrajšamo čas, ki je potreben pri hladni stabilizaciji (Bolčina, 2002).

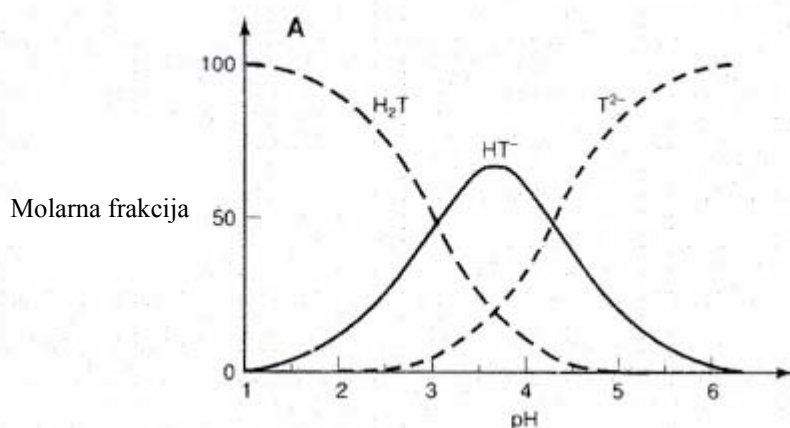
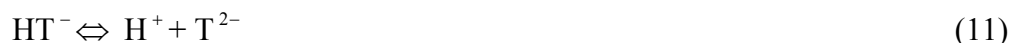
2.4.3 BELJAKOVINE

Bela vina so v primerjavi z rdečimi bogatejša z beljakovinami, zato je njihov vpliv na izločanje KHT v belih vinih večji (Zoecklein, 2002).

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

2.4.4 VREDNOST pH, VSEBNOST ALKOHOLA IN TEMPERATURA

Različne disociacijske stopnje vinske kisline so v vinu v stalnem ravnotežju (Racman, 2001):



Slika 5: Odvisnost relativne koncentracije disociacijskih oblik vinske kisline od vrednosti pH (Jackson, 2000)

Pri vrednosti pH 3,7 je količina hidrogenotartrata iona v vinu največja (slika 1), kar pomeni, da bo pri tej vrednosti 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 znižanjem temperature, kar s pridom uporabljamo kot postopek hladne 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 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).

2.4.5 MINERALI

Prisotnost magnezija, kalcija in železa poveča hitrost kristalizacije, medtem ko ima prisotnost natrija obraten učinek (Koch in Schiller, 1964).

2.5 Postopki stabilizacije vina

2.5.1 FIZIKALNI POSTOPKI STABILIZACIJE

2.5.1.1 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 po enačbi (12) (Perin, 1977):

$$T_t (-\text{ }^{\circ}\text{C}) = \left(\frac{c_{\text{alkohol}}}{2} \right) - 1 \quad (12)$$

kjer pomenita: T_t - delovno temperaturo ($^{\circ}\text{C}$) in c_{alkohol} - volumenski delež alkohola (%).

Kristalizacija vinskega kamna je tem bolj učinkovita, kolikor je temperatura hlajenja bliže točki zmrzišča vina (v praksi 1 do 2 $^{\circ}\text{C}$ nad zmrziščem). Točka zmrzišča pa zavisi največ od vsebnosti alkohola, zato vina tudi različno hladimo (Vodovnik in Vodovnik-Plevnik, 2003).

Čas, v katerem dosežemo stabilnost vina, je za rdeča vina daljši kot za bela vina zaradi že prej omenjenih razlogov. Prav tako je potrebno daljše hlajenje in nižje temperature ($-7,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-9,4\text{ }^{\circ}\text{C}$) za desertna vina, saj so le-ta alkoholno močnejša. Večino vin hladimo na temperaturi $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 pa 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 hlajenja 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 vina z veliko vsebnostjo beljakovin je potrebno odležanje podaljšati do 20 dni,
- priporočljivo je spremljanje količine SO_2 , 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, spojine kovin, idr.), ki med postopkom stabilizacije delujejo inhibitorno na rast kristalov, a se izločijo z manjšo vsebnostjo oksidiranih in polimeriziranih polifenolov in beljakovin (Šikovec, 1993).

Stabilizacija s hlajenjem lahko tudi negativno vpliva 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 do 0,72 g/L) in njegove alkalitete, prizadeta cvetica vina. 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 hitrejše staranje in temnejšo barvo vina. Počasna stabilizacija je lahko tudi razlog za manj intenzivno barvo rdečih in belih vin (Rodež, 1983).

2.5.1.2 Dodatek kristalov kalijevega hidrogenartrata

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 jeder, 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 hidrogenartratih in kalijevih ionov k jedru in samo hitrost rasti kristalov (Dunsford in Boulton, 1981):

$$\frac{dm}{dt} = K_d \cdot A \cdot (C - C^*) \quad (13)$$

V relaciji (13) 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, hitreje 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 ohladijo na 0 °C, rdeča pa na 4 do 5 °C. Prvo uro po dodatku kristalov koncentraciji kalija in vinske kisline močno padeta, v naslednjih urah se 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 3: Vpliv dodatka kristalov KHT (velikosti 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 KHT (g/L)	Vinska kislina (g/L)	K (mg/L)	$\text{CP} \cdot 10^{-5}$ (mol^2/L^2)
0 (kontrola)	1,58	920	15,1
1	1,11	808	9,3
2	1,03	794	8,5
3	0,93	765	7,6
8	0,78	754	6,2

2.5.1.3 Ionska izmenjava

Postopek sloni na izmenjavi nestabilnih kationov in anionov z drugimi ioni. S pomočjo kationskih izmenjevalcev zamenjamo ione kalija in kalcija s kationi natrija in magnezija, ki tvorita z vinsko kislino bolj topni soli. Za doseg stabilnega vina je potrebno 450 g/hL 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 anionskih izmenjevalcev pa je predvsem v zmanjšanju kislosti vina. Največjo tendenco do izmenjave imajo tribazne kisline, kot sta fosforna in citronska kislina 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 % lahko hlapnih kislin. Takšno razmerje je bolj ali manj stalno, tako da lahko predvidimo, za koliko se bo zmanjšala skupna kislost vina. V vinu z nizko vsebnostjo kislin lahko to predstavlja velik problem, saj je vpliv na senzorične lastnosti precejšen (Jackson, 2000).

2.5.1.4 Elektrodializa

Elektrodializa je fizikalni postopek, pri katerem odstranimo ione kalija in vinske kisline iz vina s transportom skozi posebno selektivno membrano v izplakovalno 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 kakovost vina. Predhodna filtracija vina ni potrebna. Na koncu postopka pa je dosežena absolutna stabilnost vina (Cameira dos Santos in sod., 2002).

2.5.1.5 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. Doseženo 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, vrednosti pH, pepela in ekstrakta, toda manj kot pri stabilizaciji s hlajenjem (Jackson, 2000).

2.5.2 KEMIJSKI POSTOPKI STABILIZACIJE

2.5.2.1 Dodatek metavinske kisline

Metavinska kislina je poliester D-vinske kisline, pridobljena s segrevanjem 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 metavinska kislina z indeksom esterifikacije 36 do 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 adsorpcija 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. Dostopna 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).

Preglednica 4: Vpliv temperature skladiščenja (°C) na čas varovalnega učinka metavinske kisline (Judež, 1981)

Temperatura skladiščenja (°C)	Čas varovalnega učinka
0	več let
10 – 20	2 leti
10 – 16	18 mesecev
10 – 18	12 mesecev
20	3 mesece
25	1 mesec
30	7 dni
35 – 40	nekaj ur

2.5.2.2 Dodatek karboksimetilceluloze

Karboksimetilceluloza je ester celuloze, ki ima na C₂ in C₆ atomu karboksilne skupine. Pri pH vrednosti vina se zaradi negativnega naboja karboksilnih skupin adsorbira na hidrogentartrat, s čemer prepreči nadaljno rast kristalov. Prav tako se veže s kalijevimi in kalcijevimi ioni, kar zmanjša vsebnost prostih ionov, ki so udeleženi v procesu kristalizacije. Kljub temu, da karboksimetilceluloza ni toksična, njena uporaba v vinarstvu še ni dovoljena (Zoecklein, 1988).

2.5.2.3 Dodatek manoproteinov kvasovk

Vina, ki ležijo na kvasovkah dlje 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, toda učinkuje dlje časa (Bolčina, 2002).

Poznamo tri temeljne vire makromolekul, ki jih lahko najdemo v vinu. Prvič, lahko izvirajo iz grozdja in so prisotni kot polisaharidi in beljakovine. Drugič, lahko so posledica plesni rodu *Botrytis*, to je prisotnost glukanov. Tretja vrsta makromolekul pa izvira iz kvasovk, ki so specifični manoproteini kvasovk (Feuillat, 2003).

Polisaharidi kvasovk so razdeljeni v dve skupini (Lallemand. com):

- *beta*-glukani, linearne molekule (molekulska masa 25 do 270 kDa) in
- manoproteine, ki so kroglaste oblike z molekulsko maso od 10 do 450 kDa. Zaradi njihove tridimenzionalne zgradbe pa manoproteini ne predstavljajo večjih težav pri filtraciji vina.

Celična stena kvasovk je sestavljena iz hitina (1 do 2 %), β -1,3 glukana (do 25 %), glukana povezanega s hitinom z β -1,3 vezjo (do 35 %), β -1,6 glukana (do 5 %) in manoproteinov (do 35 %). Manoproteini, ki so bili najdeni v celični steni kvasovk, so z glukani povezani tako s kovalentno vezjo, kot tudi z nekovalentno vezjo. Iz celične stene se sprostijo s pomočjo delovanja β -1,3-glukanaze. Ta encim je aktiven tako med rastjo kvasovk oziroma alkoholno fermentacijo, kot tudi med staranjem vina ob prisotnosti kvasnih celic. Količina manoproteinov, sproščenih med fermentacijo, je odvisna od več dejavnikov, med katerimi sta najvažnejša: vrsta kvasovk in motnost mošta. Med staranjem na drožeh lahko polisaharidi hidrolizirajo z delovanjem β -1,3-glukanaze (Feuillat, 2003).

Manoproteini nekoliko pospešujejo rast mlečnokislinskih bakterij, prispevajo pa tudi k beljakovinski in tartratni stabilnosti belih vin, medsebojno delujejo z aromatičnimi in fenolnimi komponentami rdečega vina, zmanjšujejo ostrino in grenkobo taninov in ojačajo telo vina. Utegnejo biti koristni celo pri fermentaciji v steklenicah pri proizvodnji penečih vin, staranju mirnih vin v sodih in pri proizvodnji šerijev (Feuillat, 2003).

2.5.2.3.1 Sproščanje manoproteinov med alkoholnim vrenjem

Med alkoholnim vrenjem lahko žive, aktivno rastoče kvasne celice sprostijo makromolekule v bližnjo okolico. Pri fermentaciji sintetičnega mošta je sprostitvev makromolekul v korelaciji z rastjo kvasnih celic. Raven makromolekul nenehno narašča v vrhovih do 270 mg/L do konca fermentacije, ko vsebujejo 82 % sladkorja in samo 18 % beljakovin (Feuillat, 2003).

2.5.2.3.2 Sproščanje makromolekul med avtolizo kvasovk

Celična stena kvasovk je robustna, močno razdeljena z živimi sestavinami. Zelo raznolike metabolne in fiziološke funkcije, ki se dopolnjujejo in so, če je potrebno, ločene ena od druge. Manoproteini so locirani samo v celični steni in obstojajo kot sloj organizirane mreže glukanov. Da se manoproteini lahko sprostijo, mora biti celična stena razgrajena in to ponavadi naredijo encimi β -1,3-glukanaze. Ta encim proizvajajo kvasovke in je aktiven ter prisoten v biomasi. Avtoliza kvasovk poteka v več stopnjah:

- stopnji 1 in 2 sta neposredno povezani z integriteto celične membrane in aktivacijo hidrolitičnih encimov,
- stopnje 3, 4 in 5 pa se nanašajo na encimsko razgradnjo intracelularnih makromolekul, povečanje poroznosti celične stene in razgradnjo komponent, ki so se sprostile v medij.

Vse te stopnje morajo poteči uspešno, da se lahko sprostijo manoproteini v vino (Feuillat, 2003).

2.5.2.3.3 Priprava kvasnih manoproteinov

Manoproteine lahko pripravijo iz neaktivnih kvasnih celic ali iz izolirane frakcije celičnih sten oziroma kvasnih ovojníc. Poznamo dve metodi za izolacijo in čiščenje manoproteinov (Feuillat, 2003):

- metoda, kjer se uporablja encime β -1,3-glukanaze, ki razgradijo celično steno in sprostijo manoproteine,
- druga metoda pa uporablja visoko temperaturo za sprostitvev manoproteinov iz raztopine kvasovk pri pH 7.

Feuillat in Charpentier (1998) sta primerjala ti dve metodi in ugotovila, da so manoproteini, ki so bili ekstrahirani s pomočjo visoke temperature bogatejši z beljakovinami, kot tisti ekstrahirani s pomočjo encimov, vendar pa so si podobni v vseh drugih karakteristikah oziroma značilnostih (Feuillat, 2003).

2.5.2.3.4 Vloge manoproteinov

Vloga manoproteinov v procesu vinifikacije:

- **Manoproteini in tartratna stabilnost**
Preventivno delovanje na izločanje kalijevega hidrogenartrata z manoproteini je zelo zanimivo za komercialne proizvajalce kvasovk, kot tudi za OIV. Tudi drugi znanstveniki, ki so se ukvarjali s podobnimi raziskavami, so dokazali, da manoproteini pripravljene z obema metodama, tako z encimsko kot s termično, v

nekaterih primerih učinkovito inhibirajo kristalizacijo kalijevega hidrogentartrata. Encimsko pripravljene pripravki znižajo temperaturo kristalizacije do 2,35 °C, termično pridobljeni pripravki pa znižajo temperaturo kristalizacije do 2,20 °C. Avtorji so zaključili, da sta oba preparata učinkovita pri inhibiciji kristalizacije kalijevega hidrogentartrata (Feuillat, 2003). Dokazano je bilo, da imajo manoproteini trajen učinek na tartratno stabilnost. Delujejo na principu kompetitivne inhibicije, kar omejuje kristalizacijo, vendar na ta način koncentracija tartrata ni ogrožena. Kot rezultat, v primeru dodatka manoproteinov v vino, ni mogoče meriti zmanjšanja elektrolitske prevodnosti, ampak spremljamo tradicionalno s hladno metodo inkubacije. Ugotovitev potrjuje dejstvo, da vino po staranju na drožeh nekaj časa (nekaj mesecev) postane tartratno relativno stabilno in zaradi tega ni potrebna hladna stabilizacija (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Na drugi strani pa so ugotavljali učinke kvasnih celic in polisaharidov vina na formacijo in vezavo kristalov KHT na površino iz nerjavnega jekla med hladno stabilizacijo v modelnih vinih, ki so bili raziskani z SEM. Rezultati so pokazali, da kvasovke, polifenoli in polisaharidi vplivajo na nalaganje kristalov, obliko in velikost kristalov ter na kinetiko kristalizacije. V odsotnosti katerekoli od teh snovi nastanejo kristali KHT, ki so prizmatične oblike, s končno velikostjo približno 1000 µm. Celice kvasovk delujejo kot heterogena primarna nukleacijska jedra za kristalizacijo KHT, tako se naloži plast kvasnih celic in kristalov KHT. Prisotnost kvasnih celic je posledica dolgih in tankih kristalov, ki rastejo enosmerno. Interakcija koloidov vina s površino kristalov KHT vpliva na rast kristalov. Polifenoli močno inhibirajo kristalizacijo in pri tem nastanejo majhni kristali z enodimenzionalno rastjo. V kombinaciji kvasnih celic in polisaharidov nastanejo dolgi kristali KHT v obliki podolgovate kocke (Boulangé-Petermann in sod., 1999).

➤ **Manoproteini in beljakovinska stabilnost**

Dokazano je bilo, da imajo manoproteini značilen vpliv na beljakovinsko oziroma proteinsko stabilnost belih in rose vin (Ledoux in sod., 1992). Naravno prisotni ali dodani manoproteini omogočajo bistveno manjšo potrebno količino bentonita za doseg beljakovinske stabilnosti belih in rose vin z bentonitom. To tudi pomeni, da se bistveno manj majhnih molekul aromatičnih snovi vina veže z bentonitom in odstrani iz vina s pretokom.

➤ **Manoproteini in tanini**

Nekateri polisaharidi imajo sposobnost vezave s tanini (model interakcij med polisaharidi in tanini), kar se pozitivno odraža na zmanjšanju trpkosti vina (Saucier in sod., 1996). Kvasovke, ki tvorijo več polisaharidov, omogočajo pridelavo bolj polnega vina (z več telesa), zaokroženega okusa in značilno boljše barvno stabilnostjo.

➤ **Manoproteini in komponente arome**

Številne raziskave so dokazale sposobnost manoproteinov pri stabilizaciji aromatičnih snovi vina, predvsem naslednjih spojin: etilheksanoat, izoamilacetat, heksanol in *beta*-ionon (Lubbers in sod., 1994).

➤ **Manoproteini in jabolčno–mlečnokislinska fermentacija**

Manoproteini imajo pozitiven učinek tudi na začetek, potek in dokončanje biološkega razkisa oziroma jabolčno-mlečnokislinske fermentacije, MLF (Guilloux-Benattier in sod., 1995; Rosi in sod., 1999). Začetek in dokončanje MLF sta bistveno hitrejša v

vinih, kjer je primarna alkoholna fermentacija potekla s kvasovkami, ki so naravno tvorile večje količine polisaharidov.

2.5.2.3.5 Manoproteini OPTI-WHITE

Dodatek pripravka Opti-White v mošt na začetku fermentacije vpliva na boljši okus, preprečuje porjavenje in ohranja aromo med staranjem vina. Pripravek Opti-White je izdelan po specialnem proizvodnem procesu, ki omogoča, da je izdelek bogat s polisaharidi in ima visoko vsebnost antioksidantov. Te antioksidativne lastnosti delujejo sinergistično s SO₂, kar posledično pomeni manjši dodatek SO₂ v vino, zvišuje pa tudi na beljakovinsko stabilnost vina. Pripravek Opti-White se lahko doda tudi po alkoholnem vrenju za simulacijo staranja na drožeh (Lallemend.com).

Količina dodatka: 30 do 50 g/hL

Vplivajo na (Lallemend. com):

- **AROMATIČNO SVEŽINO:** Opti-White spontano dopolnjuje antioksidativne lastnosti standardnih dodatkov, kot so SO₂, askorbinska kislina, idr. in pomembno prispevajo h kvaliteti arome belega vina.
- **OKUS V USTI (gladkost):** Opti-White je sestavljen iz celičnih sten kvasovk, ki se sproščajo med fermentacijo in med staranjem vina. Večino manoproteinov oziroma ti polisaharidi imajo pozitiven vpliv na okus in prispevajo k gladkosti vina.
- **BARVO:** Edinstvena zmožnost Opti-White je spontano zmanjšanje nevarnosti oksidacije fenolnih komponent. Kot dodatek v vino Opti-White omejuje porjavenje belih vin in upočasnjuje spremembo barve pri starih vinih.
- **KOT HRANA ZA KVASOVKE:** Opti-White tudi predstavlja manjšo zalogo hrane za kvasovke, ne nadomesti pa običajnega dodatka hrane, ki jo določimo glede na sestavo mošta in na potrebe kvasovk, ki jih uporabljamo.

2.5.2.3.6 Manoproteini BATONNAGE PLUS STRUCTURE

Delovanje (Aeb-group.com):

- Batonnage Plus Structure je pripravek, ki je sestavljen iz pripravka celičnih sten kvasovk, taninov, gumiarabike ter s primerno količino dodatka oblikuje vinu strukturo in polnost.
- Batonnage Plus Structure omogoča pravilen razvoj polifenolnega kompleksa in sproži hitro stabilizacijo barve, zahvaljujoč zaščiti pred oksidacijskimi procesi, ki bi lahko vplivali na antociane, ki so prišli iz grozdja.
- Batonnage Plus Structure omogoča zmanjšanje redoks potenciala, ki ga znižujejo kvasne celične stene in pospešuje dozorevanje, ki se dopolni in pokaže v steklenici.
- Batonnage Plus Structure s pomočjo sinergističnega delovanja specifičnih manoproteinov, ki so se sprostili iz celičnih sten kvasovk in taninov, ekstrahiranih iz hrasta, obvaruje pomembne blage sestavine in odstrani grenke in agresivne note.

- Z uporabo Batonnage Plus Structure v proizvodnem procesu je dopuščena sprememba odmerka ali časa delovanja glede na želeno stopnjo karakteristik, ki si jih želimo in to brez kakršnegakoli tveganja.

Količina dodatka: 55 g/hL

2.6 Testi za določitev stabilnosti vina na vinski kamen

2.6.1 TEST Z ZMRZOVANJEM

Po tej metodi najprej ohladimo vino do zmrzišča, potem pa ga ponovno segrejemo na sobno temperaturo in opazujemo morebitno izločanje kristalov. V kolikor ne pride do kristalizacije, je to dokaz stabilnosti vina (Zoecklein, 1988).

Med zmrzovanjem vode v vzorcu vina se poveča koncentracija vseh snovi v vzorcu, vključno z alkoholom, kar poveča možnost oblikovanja jeder in kristalizacije. Težko je napovedati, ali je izvor teh kristalov KHT. Prav zaradi tega je ta test slab pokazatelj stabilnosti vina na vinski kamen (Zoecklein, 1988).

2.6.2 MINI KONTAKTNI TEST

Vzorcju vina dodamo 4 g KHT/L in ga hladimo ob konstantnem mešanju 2 uri pri 0 °C. Po končanem postopku še mrzlo vino filtriramo. Količino izločenega endogenega KHT lahko preverimo s tehtanjem ali ga raztopimo v določeni količini vode in primerjamo povečanje vsebnosti skupnih kislin v primerjavi z njihovo vsebnostjo pri dodatku eksogenega KHT (Cameira dos Santos in sod., 2002).

Opisana metoda ni najbolj zanesljiva, saj se po dveh urah izloči le 60 do 70 % endogenega KHT in tako lahko dobimo rezultate za uspešen postopek kristalizacije, kljub temu, da vino še ni stabilno (Ribéreau–Gayon in sod., 2002).

2.6.3 MERJENJE ELEKTROLITSKE PREVODNOSTI

Vzorcju vina dodamo 10 g/L fino zmletih kristalov KHT, na katere se 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 elektrolitske prevodnosti, vse dokler ne dosežemo konstantne vrednosti. Kadar je končna prevodnost manjša od začetne za manj kot 5 %, smatramo vzorec kot stabilen. Vzorcji, 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 in za rdeča vina pri 4 do 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 v eksponencialni odvisnosti (Zoecklein, 1988).

2.6.4 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 (5) (Berg in Keefer, 1958):

$$CP (\text{mol}^2 / \text{L}^2) = [(c_{\text{K}^+} (\text{mol/L}) \cdot (c_{\text{H}_2\text{T}} (\text{mol/L}))] \cdot \left(\frac{\text{HT}^- (\%)}{100} \right) \quad (5)$$

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 vsebnost kalijevih ionov in skupnih kislin, vrednost pH ter 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).

2.6.5 IZRAČUN TEMPERATURE PRENASIČENJA

Izračun temelji na podlagi raziskav mnogih vin in se je izkazal kot zelo zanesljiv. Vinu izmerimo elektrolitsko prevodnost pred in po dodatku 4 g KHT/L in izračunamo temperaturo prenasičenja (T_p):

- bela vina (Wurding in sod., 1982):

$$T_p = 20 - \frac{(\Delta L)_{20^\circ C}}{29,3} \quad (14)$$

- rdeča vina (Maujean in sod., 1985):

$$T_p = 29,91 - \frac{(\Delta L)_{30^\circ C}}{58,30} \quad (15)$$

V relacijah (14) in (15) pomenita T_p – temperaturo prenasičenja ($^\circ\text{C}$) in ΔL – spremembo elektrolitske prevodnosti ($\mu\text{S/cm}$) pri dani temperaturi.

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

- bela vina: $T_p < 12,5^\circ\text{C}$,
- rdeča vina: $T_p > (10,81 + 0,29 \text{ IPT})^\circ\text{C}$, kjer IPT pomeni indeks skupnih polifenolov.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Načrt poskusa

Namen poskusa je bil ugotoviti vpliv obdelave površine nerjavnega jekla na izločanje vinskega kamna v odvisnosti od temperature ter vpliv le-te na indukcijski čas kristalizacije KHT. Zastavljeni eksperimenti bodo simulirali tehnološki proces stabilizacije vina v kletih: s hlajenjem, brez mešanja oziroma z dodatkom avtolizatorov celičnih sten kvasovk oziroma manoproteinov, ki pospešijo kristalizacijo KHT med zorenjem vina. Predvidevamo, da spreminjanje temperature med eksperimentom vpliva na prenasičenje, na indukcijski čas in na obseg izločenih kristalov. Dobljeni rezultati pa bodo vsekakor dober pokazatelj vpliva obdelave nerjavnega jekla, temperature, fizikalno-kemijske sestave vina na indukcijski čas in s tem na celokupen časovni potek in obseg kristalizacije.

3.1.1 NERJAVNO JEKLO

V poskusih so bile uporabljene ploščice iz nerjavnega jekla, katerega kakovost je označena s šifro AISI 304 v dimenzijah (30×30×0,8) mm. Sestava nerjavnega jekla je iz železa z minimalno vsebnostjo 10,5 % kroma in je označena s šifro Fe/Cr18/Ni10.

3.1.2 OBDELAVA PLOŠČIC

Ploščice iz nerjavnega jekla so bile enostransko obdelane z diamantno ploščo, s katero smo zgladili ploščice do visokega sijaja in gladkosti. Površina je bila splolirana z diamantno pasto z velikostjo brusilnega sredstva diamantov 3 μm .

3.2 Metode dela

Meritve smo opravili na osnovnem in prenasičenem vzorcu nestabiliziranega belega vina letnika 2003. Prenasičenje vzorca smo dosegli z dodatkom 5,7 g KHT/L vzorca pri 20 °C. Stabilizacija je potekala pri temperaturah od 2 do 7 °C. Med postopkom kristalizacije smo spremljali rast, velikost, obliko in maso kristalov, ki so se izločili na površini ploščic iz nerjavnega jekla, katerih površina je bila obdelana ali neobdelana. Časovni potek kristalizacije smo začeli spremljati po desetih urah, ko je bilo vzpostavljeno temperaturno ravnotežje in sicer šestkrat dnevno. Pred in po kristalizaciji smo v vzorcu vina določili osnovno fizikalno-kemijsko sestavo: pH, titrabilne in skupne kisline, pufrno kapaciteto in vsebnost kalija. Vse meritve so bile opravljene z metodami, ki so predpisane v evropski regulativi in vinarski analitiki. Koncentracijo kalija (mg/L) smo določili z atomskim absorpcijskim spektrofotometrom Perkin Elmer 2280 ($\lambda = 766,5 \text{ nm}$), vrednost pH, pufrne kapacitete in vsebnost kislin (g vinske kisline/L) pa smo določili potenciometrično s pH metrom (Mettler

Toledo DL 50 Graphix). Dobljene rezultate smo podali kot povprečne vrednosti najmanj treh določitev.

3.2.1 DOLOČANJE VREDNOSTI pH

Vrednost pH smo določali z uporabo pH metra Mettler Toledo DL50 Graphix s kombinirano stekleno elektrodo Mettler Toledo DG 114-Se (Košmerl in Kač, 2004).

Merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Ponavadi uporabljamo kombinirano stekleno elektrodo (merilna in referenčna elektroda v enem kosu); čutilo hranimo v destilirani vodi. Uporabljamo pH meter s skalo v pH enotah. Točnost meritev aparata mora biti najmanj $\pm 0,05$ pH enot. Paziti moramo na stalen nivo elektrolita v elektrodi in na čistost čutila (Košmerl in Kač, 2004).

3.2.2 DOLOČANJE SKUPNIH (TITRABILNIH) KISLIN

Določanje skupnih (titrabilnih) kislin poteka z uporabo pH metra Mettler Toledo DL50 Graphix s kombinirano stekleno elektrodo Mettler Toledo DG 114-Se (Košmerl in Kač, 2004)

Pri kislinsko-bazni potenciometrični titraciji merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Uporabljamo pH meter s skalo v pH enotah. Točnost meritev aparata mora biti najmanj $\pm 0,05$ pH enot. Titracija z 0,1 M raztopino NaOH poteka na avtomatskem titratorju do končne točke titracije $pH = 7,00$ oziroma $pH = 8,20$. Pri dodajanju baze poteka reakcija (Košmerl in Kač, 2004):



Določanje skupnih (titrabilnih) kislin poteka z "dvotočkovno titracijo" – titriramo z 0,1 M raztopino NaOH do prve končne točke titracije, do $pH = 7,00$; nadaljujemo s titracijo do končne točke titracije, do $pH = 8,20$. Masno koncentracijo skupnih (titrabilnih) kislin (g vinske kisline/L) izračunamo po naslednjih formulah (Košmerl in Kač, 2004):

$$TK_1 \text{ (g/L)} = \frac{a_1 \text{ (mL)} \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)}}{v \text{ (mL)} \cdot n} \cong a_1 \text{ (mL)} \cdot 0,3 \quad (17)$$

oziroma

$$TK_2 \text{ (g/L)} = \frac{a_2 \text{ (mL)} \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)}}{v \text{ (mL)} \cdot n} \cong a_2 \text{ (mL)} \cdot 0,3 \quad (18)$$

kjer pomeni a_1 volumen porabljene baze pri titraciji do pH 7,00 (mL), a_2 volumen porabljene baze pri titraciji do pH 8,20 (mL), c koncentracije baze (0,1 M), M molsko maso vinske kisline (150,09 g/mol), v volumen vzorca (25 mL) in n molsko razmerje kemijske reakcije med NaOH in vinsko kislino ($n = 2$); pri čemer pa pomeni $TK_1 =$ "titrabilne kisline" in $TK_2 =$ "skupne kisline".

3.2.3 DOLOČANJE PUFRNE KAPACITETE

Pufarno kapaciteto določamo s pH metrom Mettler Toledo DL50 Graphix s kombinirano stekleno elektrodo Mettler Toledo DG 114-Se (Košmerl in Kač, 2004).

3.2.3.1 Določanje orientacijske pufrne kapacitete

Dodajamo 0,1 M raztopino NaOH do nastavljenega "končne točke titracije", ki je za 1 enoto višja od začetne vrednosti pH vzorca; odčitamo porabo baze in izračunamo pufarno kapaciteto, PK (mmol/L/pH) (Košmerl in Kač, 2004):

$$PK \text{ (mmol/L/pH)} = \frac{a_{\text{NaOH}} \text{ (mL)} \cdot c_{\text{NaOH}} \text{ (mol/L)} \cdot 1000}{v \text{ (mL)}} \quad (19)$$

kjer pomeni a volumen porabljenega titranta (mL), c_{NaOH} koncentracijo NaOH (0,1 M) in v volumen vzorca (50 mL).

Izračunana pufna kapaciteta je le orientacijska vrednost, ki nam služi kot parameter pri ocenjevanju zrelosti grozdja. Za točen rezultat moramo narisati krivulji pufrne kapacitete za dodajanje kisline in za dodajanje baze; iz obeh krivulj skupaj pa potem grafično ocenimo dejansko pufarno kapaciteto našega vzorca (mošta pred alkoholnim vrenjem ali vina) (Košmerl in Kač, 2004).

3.2.3.2 Določanje dejanske pufrne kapacitete

Iz podatkov o pH in točnem volumnu dodanega titranta (kisline in baze), ki ga preračunamo v molarno koncentracijo v mešanici, narišemo krivuljo pufrne kapacitete, to je odvisnost pH od spremembe koncentracije baze. Izračunamo enačbo premice, s katero določimo dejansko pufarno kapaciteto, to je množino kisline oziroma baze, ki jo moramo dodati 1 L vzorca, da se njegova pH vrednost skupno spremeni za 1 pH enoto: od $pH_Z - 0,5$ do $pH_Z + 0,5$, pri čemer je pH_Z začetna pH vrednost (Košmerl in Kač, 2004).

3.2.3.3 Gravimetrična metoda določanja mase KHT

Maso izločenih kristalov KHT po sušenju, smo določali gravimetrično, s tehtnico Mettler Toledo Excellence XS 205 Dual Range.

3.2.4 DOLOČANJE KALIJA

Koncentracija kalija (mg/L) smo določili z atomsko absorpcijsko spektrometrično metodo z atomskim absorpcijskim spektrofotometrom znamke Perkin Elmer 2280 pri valovni dolžini 766,5 nm.

3.3 Izvedba poskusa

3.3.1 PREDPOSKUS

Predposkus smo izvedli z namenom določitve potrebnega časa, v katerem bi se izločili kristali vinskega kamna v osnovnem nestabiliziranem vinu pri temperaturi 7,0 °C.

3.3.2 POSKUSI

Poskuse smo izvedli v štirih vzorcih vina. Uporabljeni volumen posameznega vzorca je obsegal 2 L, prenasičenje pa dosegli z dodatkom 5,7 g KHT/L vzorca pri 20 °C. Poskus smo izvedli v dveh 1000 mL čašah, v katere smo nalili 700 mL vzorca. V te vzorce smo potopili ploščice iz nerjavnega jekla ter jih premestili na določeno temperaturo. Po desetih urah, ko se je temperatura ustalila, smo pričeli z vzorčenjem na vsake tri ure. Poskus je trajal dva dni. Potem smo ploščice posušili v sušilniku pri temperaturi 105 °C do konstantne mase. Sledilo je ohlajanje ploščic v eksikatorju in potem tehtanje. Vzorce vina smo pred in po poskusu tudi kemijsko analizirali. V prvem poskusu smo ugotavljali razliko med obdelanimi in neobdelanimi ploščicami, v ostalih treh poskusih pa smo dodali manoproteine.

Preglednica 5: Pregled uporabljenih manoproteinov

Oznaka manoproteina	Komercialno ime	Priporočen dodatek
1	Batonnage Plus Structure	55 g/hL
2	Opti White	30 do 50 g/hL



Slika 6: Manoproteini Batonnage Plus Structure



Slika 7: Manoproteini Opti White



Slika 8: Nastavitev poskusa – 1000 mL merilne čaše, volumen vina v čaši je 700 mL



Slika 9: Ploščica iz nerjavnega jekla (AISI 304)

4 REZULTATI

4.1 Rezultati predposkusa

V predposkusu smo hoteli dokazati, da preiskovano osnovno vino ni stabilno na vinski kamen, vendar ko se po osmih dnevih trajanja poskusa, pri konstantni temperaturi ohlajanja 7,0 °C kristali niso izločili, smo predposkus prekinili. Razlogov za to je lahko več: previsoka temperatura ohlajanja, posledica tega pa je stabilno vino, idr.

4.2 Rezultati poskusov

4.2.1 VPLIV OBDELANE IN NEOBDELANE POVRŠINE NERJAVNEGA JEKLA NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA

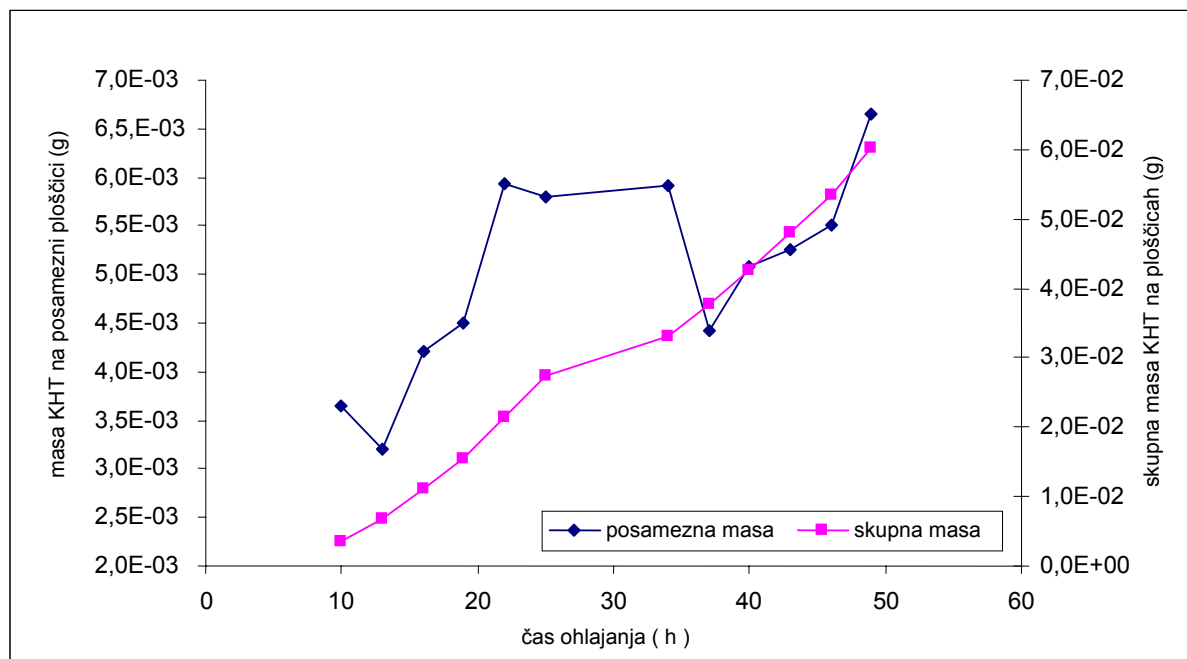
Preglednica 6: Vpliv obdelane in neobdelane površine nerjavnega jekla na kemijske parametre v primerjavi s kontrolo

Oznaka vzorca	pH	K ⁺ (mg/L)	TK ₁ (g/L)	TK ₂ (g/L)	SOLI (mg/L)	PK _{ORI.} (mmol/LpH)	PK _{DEJ.} (mmol/LpH)	PK _{RAZL.} (mmol/LpH)
Kontrola 1	3,457	762	4,49	4,77	286	32,32	26,52	5,80
Obdelana površina	3,415	686	4,28	4,53	258	30,11	23,97	6,14
Neobdelana površina	3,415	656	4,28	4,54	257	30,15	24,59	5,56

Poskus je potekal pri temperaturi 7,5–4,0 °C, na neobdelani in obdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla.

Pri prvem poskusu je bila vrednost pH za 0,04 enote nižja po poskusu in sicer v obeh primerih enako. Vsebnost kalija se je po poskusu tudi znižala, kar smo predvidevali, ker je sestavni del vinskega kamna in sicer se je vsebnost kalija v poskusu z obdelano površino ploščic iz nerjavnega jekla znižala za 76 mg/L, pri poskusu z neobdelano površino ploščic pa se je znižala za 106 mg/L. V primerjavi s kontrolo je vzorec z obdelano površino ploščic vseboval 28 mg/L manj soli, vzorec z neobdelano površino ploščic pa 29 mg/L. Po poskusu se je znižala tudi vsebnost titrabilnih in skupnih kislin. Vsebnost titrabilnih kislin se je pri obdelani površini ploščic znižala za 0,21 g/L, pri neobdelani površini ploščic pa prav tako za 0,21 g/L. Skupne kisline so bile nižje pri obdelani površini ploščic za 0,24 g/L, pri neobdelani površini ploščic pa za 0,23 g/L. Orientacijska pufna kapaciteta se je po poskusu v obeh primerih znižala za 2,2 mmol/LpH, dejanska pufna kapaciteta pa je bila nižja pri obdelani površini ploščic za 2,5 mmol/LpH, pri neobdelani površini ploščic pa za 1,9 mmol/LpH, tako je razlika pri obdelani površini ploščic 6,1 mmol/LpH, pri neobdelani površini ploščic pa 5,6 mmol/LpH.

4.2.1.1 Grafični rezultati prvega poskusa na obdelanih ploščicah

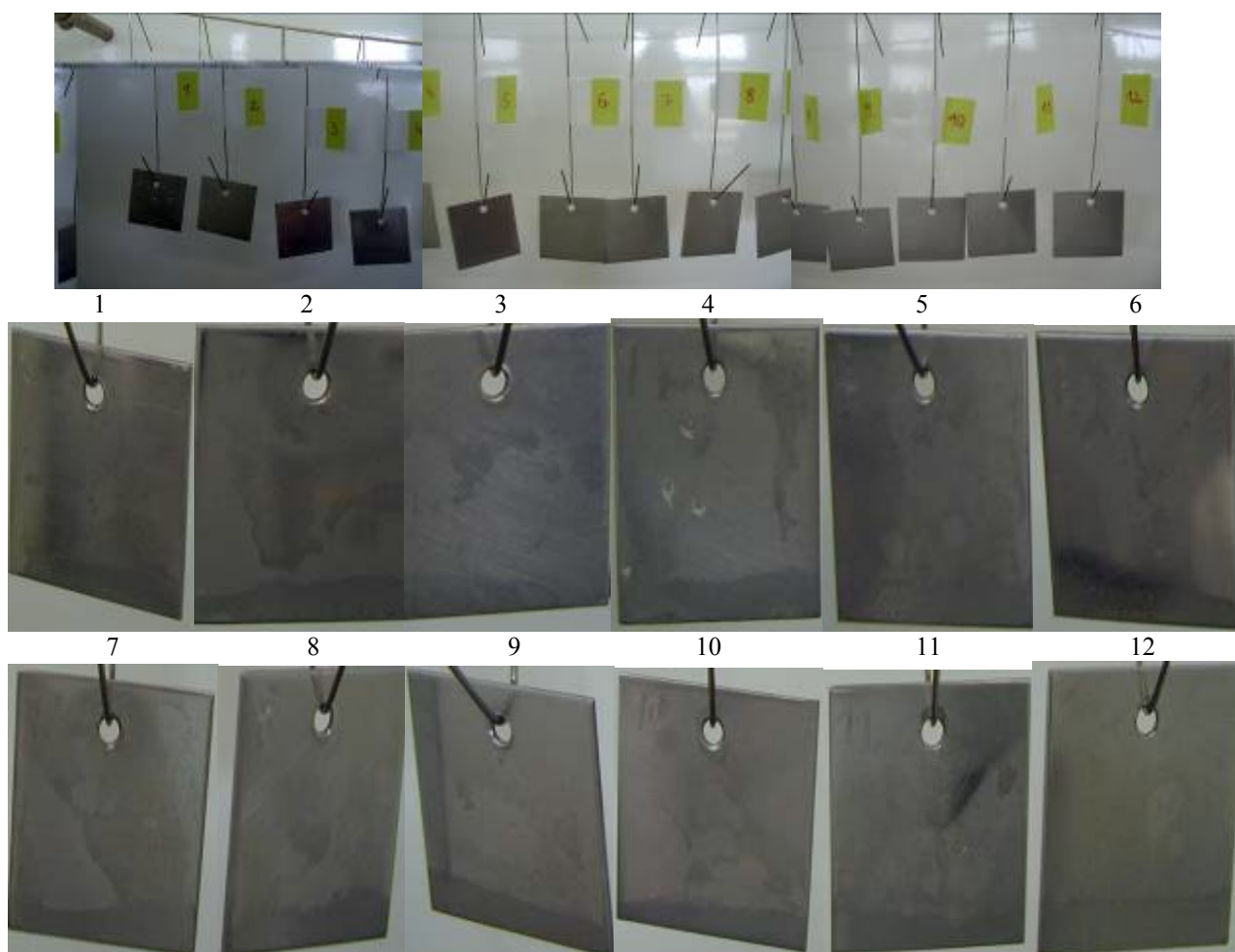


Slika 10: Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na obdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri temperaturi ohlajanja 7,5–4 °C

Poskus je potekal na obdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla, v prvi točki, pri temperaturi 7,5 °C, v drugi točki pri 5,5 °C, v tretji točki pri 5,0 °C, v četrti točki pri 4,5 °C potem pa do konca pri temperaturi ohlajanja 4,0 °C. Nihanje temperature je v tem poskusu povzročilo velika odstopanja pri samem izločanju vinskega kamna na površino obdelane ploščice. V prvih desetih urah poskusa se je na površino obdelane ploščice izločilo 3,65 mg kristalov vinskega kamna, po 49 urah oziroma na koncu poskusa pa je bilo na površini obdelane ploščice 6,65 mg kristalov vinskega kamna. Razlika je tako 3,0 mg kristalov vinskega kamna v delovnem volumnu poskusa, 700 mL. Skupna masa kristalov KHT na obdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pa je bila 60,14 mg vinskega kamna v 700 mL, tako bi se v 1000 mL izločilo 86 mg. Predvidevali smo, da se pri znižanju kislin za 1 g/L izloči 1,25 g/L kristalov KHT (Šikovec, 1993), tako bi se po teoretičnem izračunu moralo izločiti 210 mg kristalov KHT/L. Razlika 124 mg/L se je deloma izgubila zaradi narave dela s ploščicami – sušenje, tehtanje, deloma pa se je izločila na dno posode in ne na same ploščice.

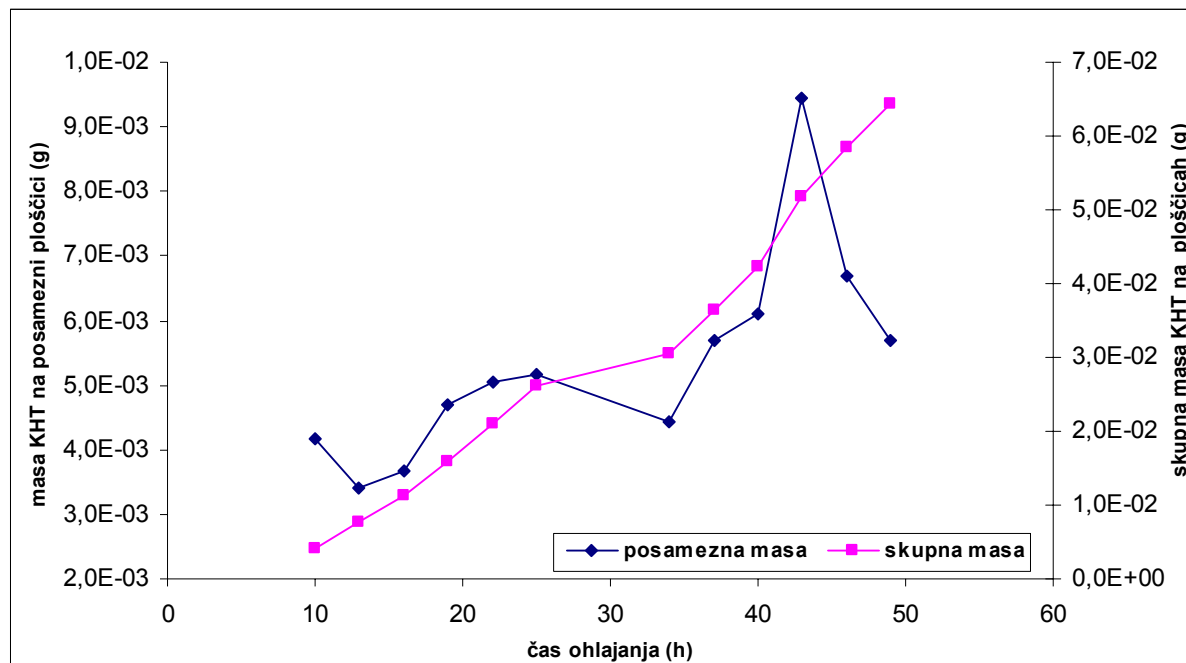
Ta poskus je primer omejene možnosti hlajenja v vinskih kletih, ki jo srečamo zlasti pri majhnih vinogradnikih. Ti za namen hladne stabilizacije izkoriščajo nizke zimske temperature, to je z odpiranjem vrat vinske kleti, zato se v praksi pogosto srečajo s takimi pogoji.

Slika 11 prikazuje obdelane površine ploščic po poskusu. Kristali vinskega kamna so majhni in svetlo rjavkaste do rumene barve.



Slika 11: Obdelana površina ploščic po poskusu

4.2.1.1 Grafični rezultati prvega poskusa na neobdelanih ploščicah



Slika 12: Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri temperaturi ohlajanja 7,5-4 °C

Poskus je potekal na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla, pri temperaturi ohlajanja 7,5 do 4,0 °C. Prav tako je bilo nihanje mase vinskega kamna na neobdelani površini ploščic, kar pa je povzročilo nihanje temperature in kasneje delo s ploščicami. Po prvih desetih urah poskusa se je na površino neobdelane ploščice v 700 mL izločilo 4,16 mg kristalov vinskega kamna, po 49 urah oziroma na koncu poskusa pa 5,70 mg kristalov vinskega kamna, čeprav se je največ vinskega kamna izločilo po 43 urah, to je 9,45 mg. Razlika mase izločenih kristalov KHT med prvim in zadnjim vzorčenjem je 1,54 mg v 700 mL vzorca. Boljši pokazatelj je v tem primeru skupna masa vinskega kamna na ploščicah, ki je 64,26 mg v 700 mL, v 1000 mL pa 92 mg. Po teoretičnem izračunu bi se izločilo 202 mg/L kristalov KHT. Do razlike 110 mg/L je prišlo iz enakih razlogov kot v prvem primeru.

Pred izvedbo poskusa smo predvidevali, da se bo na površini neobdelanih ploščic izločilo bistveno več kristalov vinskega kamna. Razlika v skupni masi med neobdelano in obdelano površino ploščic je 4,12 mg/700 mL kristalov vinskega kamna, kar je pod pričakovanji.

Slika 13 prikazuje neobdelano površino ploščic po poskusu. Kristali vinskega kamna so majhni, svetlo rjave do rumene barve.



Slika 13: Neobdelana površina ploščic po poskusu

4.2.2 VPLIV DODATKA MANOPROTEINOV 1 (0,5 g/L IN 1,0 g/L) NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA

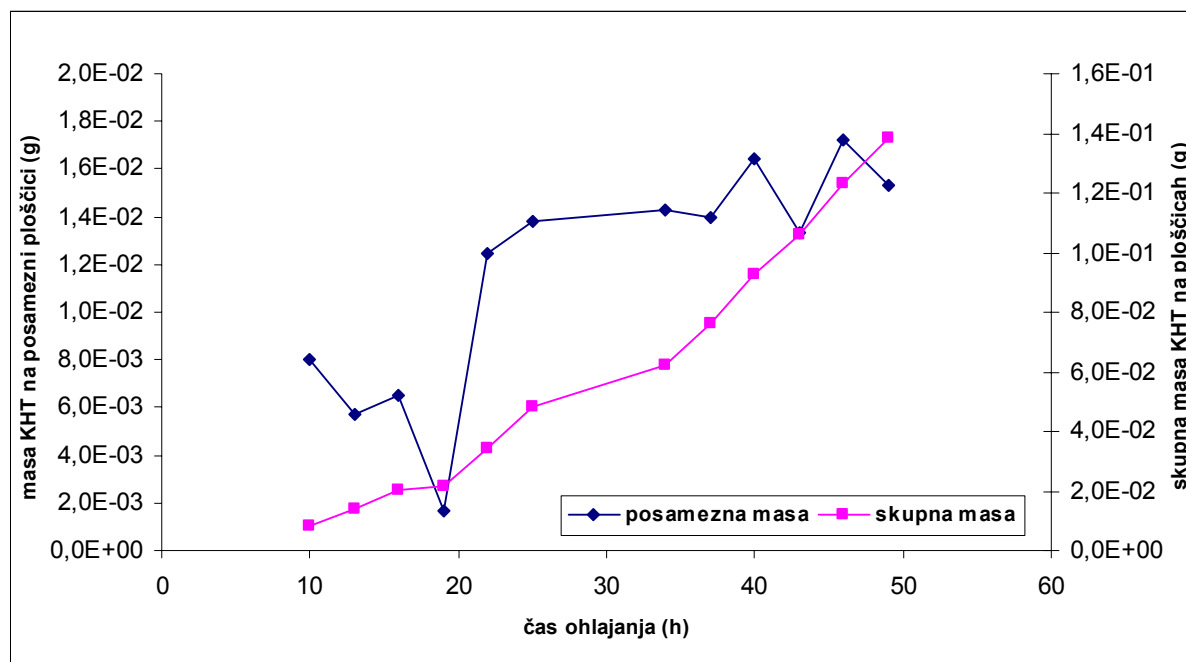
Preglednica 7: Vpliv dodatka manoproteinov 1 (0,5 g/L in 1,0 g/L) na kemijske parametre

Oznaka vzorca	pH	K ⁺ (mg/L)	TK ₁ (g/L)	TK ₂ (g/L)	SOLI (mg/L)	PK _{ORI.} (mmol/LpH)	PK _{DEJ.} (mmol/LpH)	PK _{RAZL.} (mmol/LpH)
Kontrola 2	3,496	912,5	4,39	4,61	221	32,07	27,63	4,44
Manoproteini 1 – 0,5 g/L	3,467	853	3,96	4,18	194	31,06	25,58	5,48
Manoproteini 1 – 1,0 g/L	3,491	807	3,91	4,15	237	32,03	26,74	5,29

Poskus je potekal pri konstantni temperaturi ohlajanja 2,0 °C na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla z dodatkom manoproteinov 1.

V drugem poskusu se je po poskusu vrednost pH znižala in sicer pri manjšem dodatku manoproteinov 1 za 0,03 enote, pri večjem dodatku pa za 0,01 enoto. Prav tako se je po poskusu znižala vsebnost kalija, pri manjšem dodatku manoproteinov 1 za 59 mg/L, pri večjem dodatku pa za 105 mg/L. Soli je pri manjšem dodatku manoproteinov 1, v primerjavi s kontrolo manj za 27 mg/L, pri večjem dodatku pa so se soli povečale za 16 mg/L. Titrabilne kisline se po poskusu znižajo za 0,43 g/L pri manjšem dodatku manoproteinov 1, pri večjem dodatku pa za 0,47 g/L. Skupne kisline so se znižale za 0,43 g/L pri manjšem dodatku manoproteinov 1, pri večjem pa za 0,46 g/L. Orientacijska pufna kapaciteta je po poskusu nižja, pri manjšem dodatku manoproteinov za 1,0 mmol/LpH, pri večjem dodatku pa je skoraj nespremenjena. Dejanska pufna kapaciteta pa je nižja za 2,1 mmol/LpH pri manjšem dodatku manoproteinov 1, pri večjem pa za 0,9 mmol/LpH, tako je razlika 5,48 mmol/LpH pri manjšem dodatku manoproteinov 1, pri večjem pa 5,29 mmol/LpH.

4.2.2.1 Grafični rezultati poskusa na neobdelanih ploščicah – dodatek manoproteinov 1 (0,5 g/L)

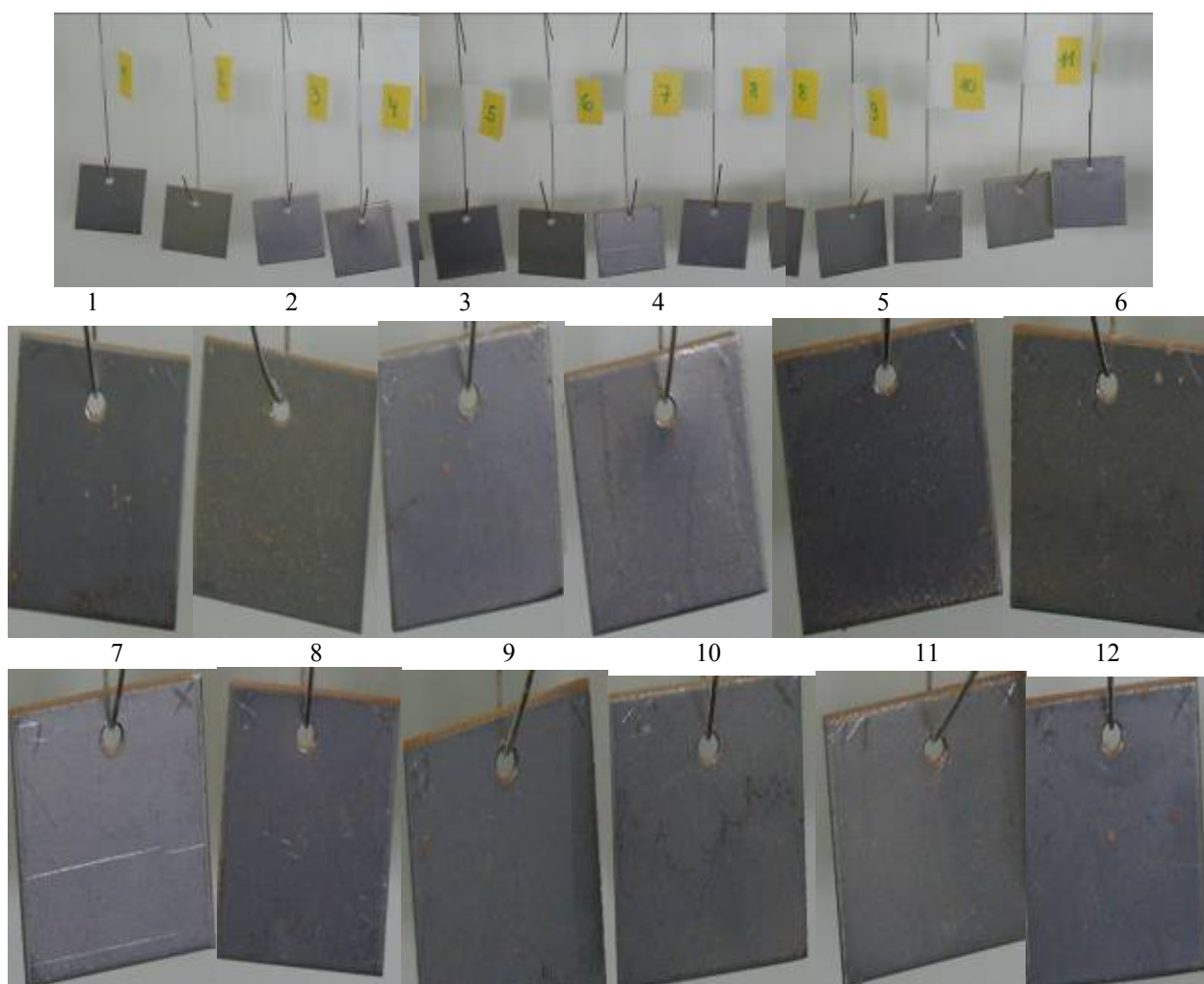


Slika 14: Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri manjšem dodatku manoproteinov 1 (0,5 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 2 °C

Poskus je potekal na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla, z manjšim dodatkom manoproteinov 1 (0,5 g/L), pri konstantni temperaturi ohlajanja 2,0 °C. Po prvih desetih urah poskusa se je na površino neobdelane ploščice izločilo 8,05 mg/700 mL kristalov vinskega kamna, po 49 urah oziroma na koncu poskusa pa 15,32 mg/700 mL kristalov KHT. Razlika v masi kristalov vinskega kamna med prvim in zadnjim vzorčenjem je tako 7,27 mg/700 mL. Skupna masa kristalov vinskega kamna pa je bila 138,59 mg v 700 mL vzorca, tako bi se v 1000 mL izločilo 198 mg. Po teoretičnem izračunu bi se izločilo 377 mg/L kristalov KHT. Razlika je 197 mg/L kristalov KHT. Do razlike je prišlo deloma zaradi izgub, možna pa je tudi razlaga, da se je vinski kamen izločil na dno čaše.

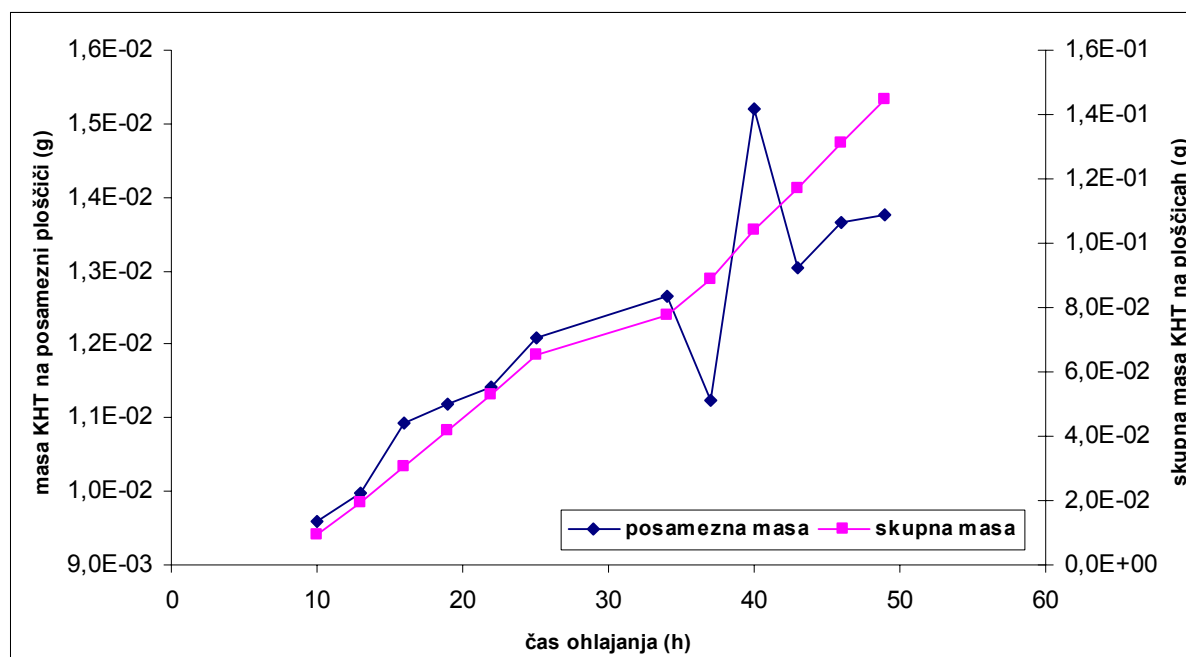
V primerjavi s poskusom z neobdelanimi ploščicami brez dodatka manoproteinov je razlika zelo velika, to je 74,33 mg/700 mL kristalov KHT, če primerjamo skupno maso kristalov KHT na ploščicah, kar pomeni, da so manoproteini 1 služili kot jedra, na katera so se nalagali kristali vinskega kamna.

Slika 15 prikazuje neobdelane ploščice z manjšim dodatkom manoproteinov 1 po poskusu. Kristali vinskega kamna so srednje veliki in so rjave barve, kot sami manoproteini 1. To dokazuje, da so manoproteini 1 služili kot jedra za nastanek kristalov vinskega kamna. Iz slike je razvidno, da so se kristali vinskega kamna in manoproteini 1 nalagali na robove ploščic.



Slika 15: Neobdelana površina ploščic (manjši dodatek manoproteinov 1; 0,5 g/L) po poskusu

4.2.2.2 Grafični rezultati poskusa na neobdelanih ploščicah – dodatek manoproteinov 1 (1,0 g/L)



Slika 16: Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri večjem dodatku manoproteinov 1 (1,0 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 2 °C

Poskus je potekal na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla z večjim dodatkom manoproteinov 1 (1,0 g/L), pri konstantni temperaturi ohlajanja 2,0 °C. Po desetih urah se je na površino neobdelane ploščice v 700 mL vzorca izločilo 9,60 mg, po 49 urah pa 13,75 mg kristalov vinskega kamna. Razlika med prvim in zadnjim vzorčenjem je 4,15 mg/700 mL kristalov KHT. Skupna masa kristalov KHT v 700 mL na neobdelani površini ploščic je 144,77 mg, kar pomeni, da bi se v 1000 mL izločilo 207 mg. Po teoretičnem izračunu bi se izločilo 403 mg/L kristalov KHT. Razlika je 196 mg/L. Do razlike je prišlo zaradi izgub in nalaganja vinskega kamna na dno čaše.

Po primerjavi rezultatov skupnih mas kristalov KHT na površini ploščic z dodatkom manoproteinov 1 smo ugotovili, da se je pri večjem dodatku oziroma dvakratnem dodatku manoproteinov 1 izločilo le 6,18 mg/700 mL več kristalov KHT, kot pri manjšem dodatku, kar dokazuje zaščitno delovanje manoproteinov 1. Skupno maso kristalov KHT z večjim dodatkom manoproteinov 1 smo primerjali tudi s skupno maso kristalov KHT na neobdelanih ploščicah in ugotovili, da je razlika 80,51 mg/700 mL. Služili so tudi kot jedra, na katera so se nalagali kristali vinskega kamna.

Slika 17 prikazuje neobdelano površino ploščic z večjim dodatkom manoproteinov 1 po poskusu. Kristali vinskega kamna so srednje veliki in so rjave barve, kot sami manoproteini 1. Iz slike je razvidno, da so se kristali vinskega kamna in manoproteini 1 nalagali na robove ploščic, kot tudi pri manjšem dodatku.



Slika 17: Neobdelana površina ploščic (večji dodatek manoproteinov 1; 1,0 g/L) po poskusu

4.2.3 VPLIV DODATKA MANOPROTEINOV 2 (0,2 g/L IN 0,4 g/L) NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA

Preglednica 8: Rezultati kemijskih analiz – vpliv dodatka manoproteinov 2 (0,2 g/L in 0,4 g/L)

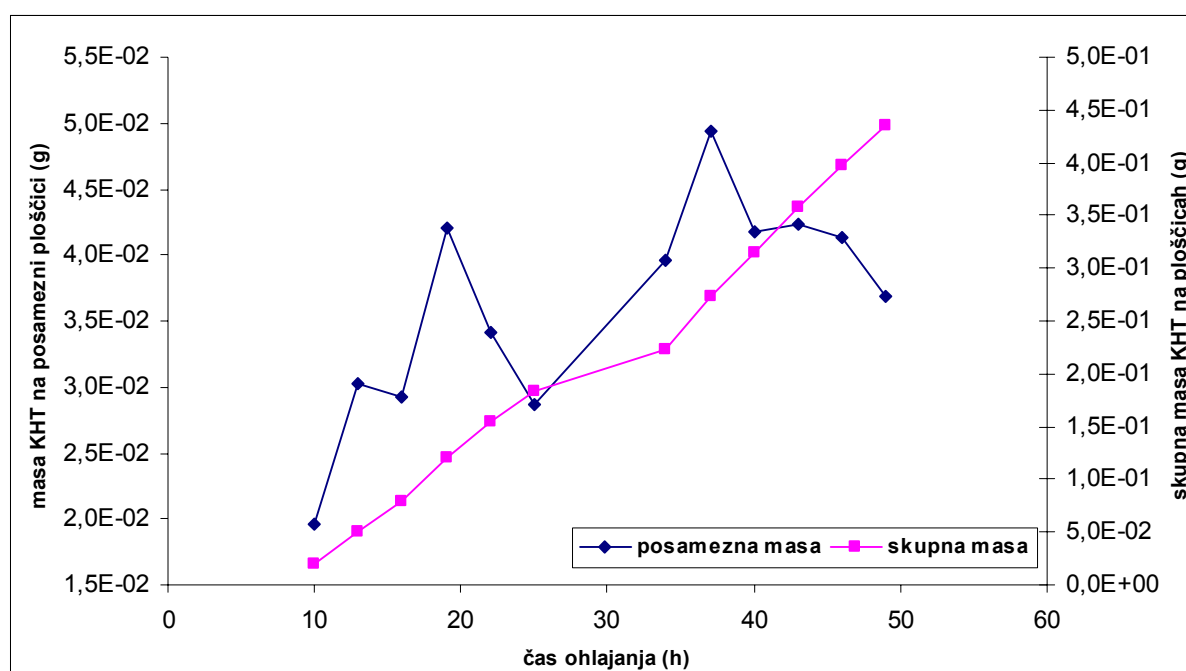
Oznaka vzorca	pH	K ⁺ (mg/L)	TK ₁ (g/L)	TK ₂ (g/L)	SOLI (mg/L)	PK _{ORL} (mmol/LpH)	PK _{DEJ} (mmol/LpH)	PK _{RAZL} (mmol/LpH)
Kontrola 3	3,471	883	4,29	4,64	341	33,74	27,80	5,94
Manoproteini 2 – 0,2 g/L	3,436	837	3,84	4,20	358	30,02	24,20	5,82
Manoproteini 2 – 0,4 g/L	3,431	798	3,82	4,16	346	29,14	23,79	5,35

Poskus je potekal pri konstantni temperaturi ohlajanja 3,0 °C na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla z dodatkom manoproteinov 2.

V tretjem poskusu smo uporabili manoproteine 2 in tudi tukaj se je vrednost pH znižala po poskusu in sicer pri manjšem dodatku manoproteinov 2 za 0,03 enote, pri večjem pa za 0,04 enote. Vsebnost kalija se je znižala pri manjšem dodatku manoproteinov 2 za 46 mg/L, pri večjem dodatku pa za 85 mg/L. Soli je bilo več v primerjavi s kontrolo, pri manjšem

dodatku manoproteinov 2 za 17 mg/L, pri večjem dodatku pa za 5 mg/L. Vsebnost titrabilnih kislin se je znižala za 0,45 g/L pri manjšem dodatku manoproteinov 2 in za 0,48 g/L pri večjem dodatku. Skupne kisline pa so se prav tako znižale po poskusu in sicer za 0,44 g/L pri manjšem dodatku manoproteinov 2 in za 0,48 g/L pri večjem dodatku. Orientacijska pufrna kapaciteta je bila nižja za 3,7 mmol/LpH pri manjšem dodatku manoproteinov 2 in 4,6 mmol/LpH pri večjem dodatku manoproteinov 2. Dejanska pufrna kapaciteta pa je bila nižja za 3,6 mmol/LpH pri manjšem dodatku manoproteinov 2, pri večjem pa za 4,0 mmol/LpH, tako je razlika 5,82 mmol/LpH pri manjšem dodatku manoproteinov 2, pri večjem dodatku pa 5,35 mmol/LpH.

4.2.3.1 Grafični rezultati poskusa na neobdelanih ploščicah – dodatek manoproteinov 2 (0,2 g/L)

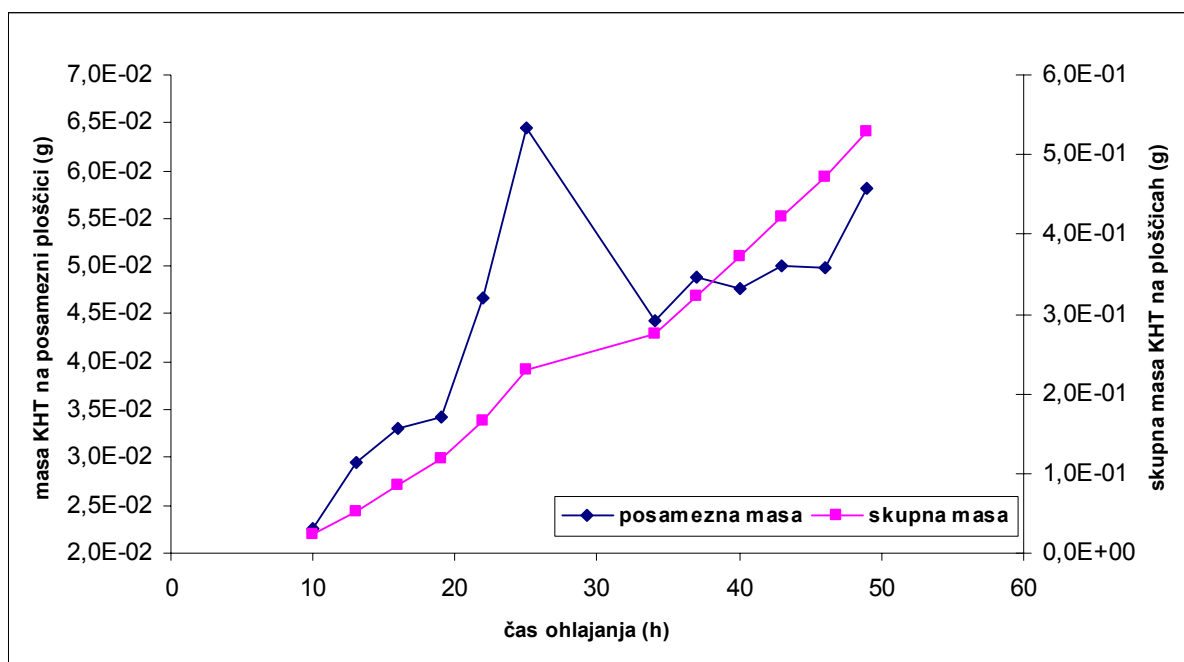


Slika 18: Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri manjšem dodatku manoproteinov 2 (0,2 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 3 °C

Poskus je potekal na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla z manjšim dodatkom manoproteinov 2 (0,2 g/L), pri konstantni temperaturi ohlajanja 3,0 °C. Po desetih urah se je v 700 mL vzorca na površino neobdelane površine ploščice izločilo 19,54 mg vinskega kamna, po 49 urah pa 36,83 mg kristalov KHT. Razlika je 17,29 mg/700 mL kristalov KHT. Skupna masa kristalov KHT na neobdelani površini ploščic je v 700 mL vzorca bila 435,14 mg, kar bi bilo v 1000 mL 621 mg. Po teoretičnem izračunu bi se moralo izločiti 385 mg/L kristalov KHT. Razliko 239 mg/L v tem poskusu predstavljajo manoproteini 2.

Primerjava z neobdelanimi ploščicami brez dodatka manoproteinov je pokazala, da so tudi manoproteini 2 delovali kot jedra, na katera so se nalagali kristali vinskega kamna. Razlika v skupni masi je 370,88 mg/700 mL kristalov KHT, če primerjamo neobdelano površino ploščic z manjšim dodatkom manoproteinov 2 in neobdelano površino ploščic brez dodatka.

4.2.3.2 Grafični rezultati poskusa na neobdelanih ploščicah – dodatek manoproteinov 2 (0,4 g/L)

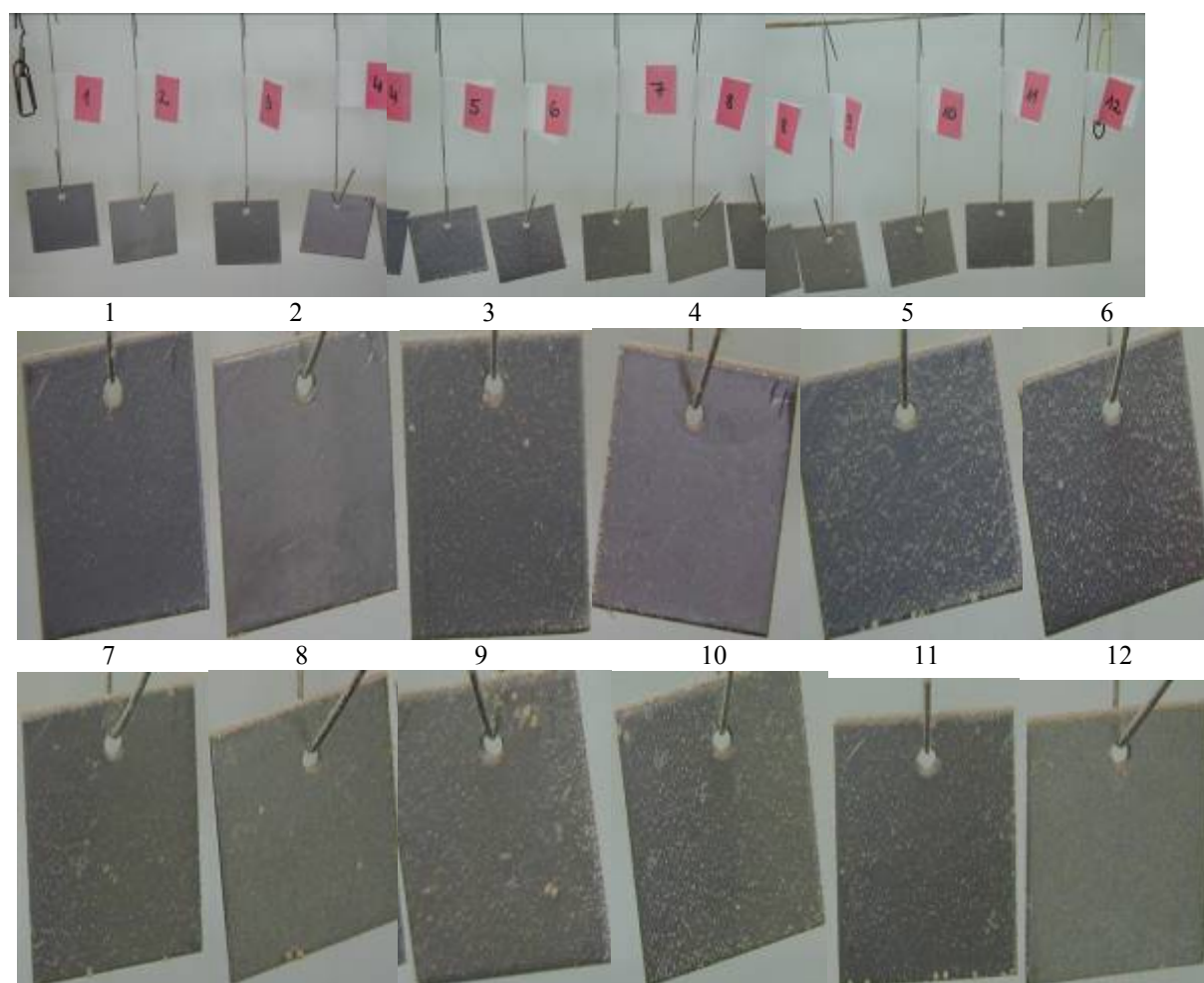


Slika 20: Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri večjem dodatku manoproteinov 2 (0,4 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 3 °C

Poskus je potekal na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla z večjim dodatkom manoproteinov 2 (0,4 g/L), pri konstantni temperaturi ohlajanja 3,0 °C. Po desetih urah se je v 700 mL vzorca na površino neobdelane ploščice izločilo 22,59 mg kristalov vinskega kamna, po 49 urah pa 58,62 mg kristalov vinskega kamna. Razlika je 36,03 mg/700 mL kristalov vinskega kamna. Skupna masa kristalov KHT v 700 mL vzorca na površini ploščic je bila 529,46 mg, kar bi v 1000 mL znašalo 756 mg. Po teoretičnem izračunu bi se moralo izločiti 420 mg/L kristalov KHT. Razliko 336 mg/L predstavljajo manoproteini 2.

Pri večjem dodatku manoproteinov 2 se je izločilo 94,32 mg več kristalov KHT kot pri manjšem dodatku manoproteinov 2, če primerjamo skupno maso kristalov KHT v 700 mL vzorca. Manoproteini 2 so delovali zgolj kot jedra za nalaganje kristalov KHT.

Slika 21 prikazuje neobdelano površino ploščic z večjim dodatkom manoproteinov 2 po poskusu. Kristali so majhni do srednje veliki in bele barve, kot so sami manoproteini 2. Največ vinskega kamna in manoproteinov se je glede na sliko 20 izločilo na peti in šesti ploščici.



Slika 21: Neobdelana površina ploščic (dodatek manoproteinov Opti White 0,4 g/L) po poskusu

4.2.4 VPLIV DODATKA MANOPROTEINOV 2 (0,3 g/L IN 0,6 g/L) NA IZLOČANJE VINSKEGA KAMNA

Preglednica 9: Rezultati kemijskih analiz – vpliv dodatka manoproteinov 2 (0,3 g/L in 0,6 g/L)

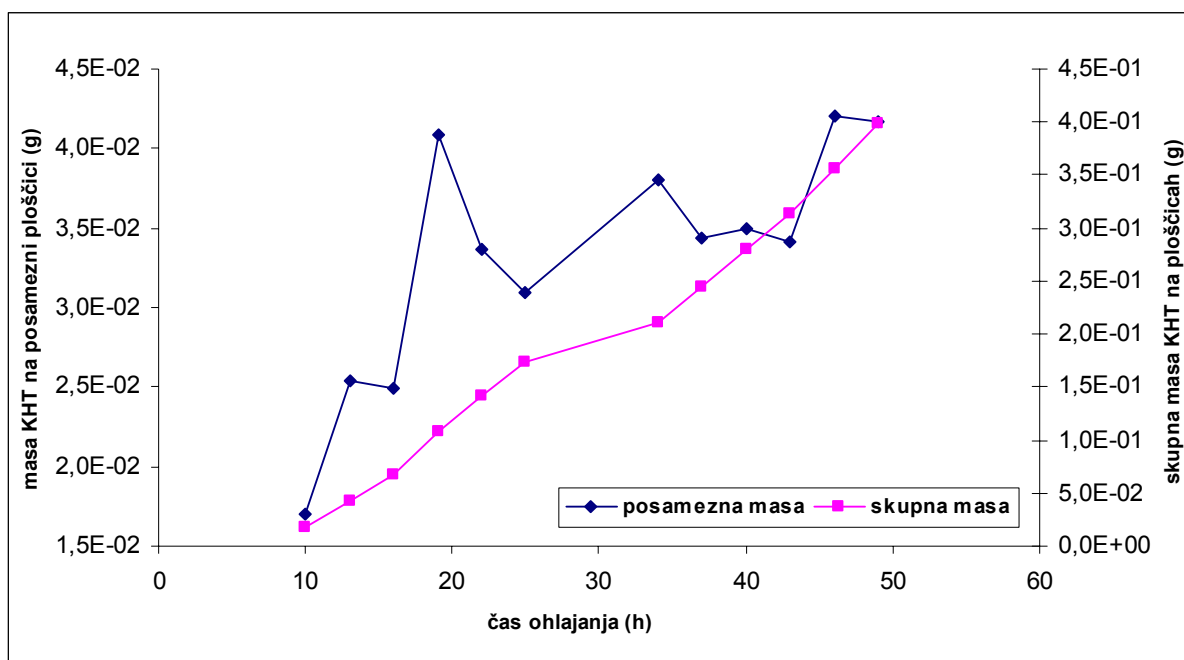
Oznaka vzorca	pH	K ⁺ (mg/L)	TK ₁ (g/L)	TK ₂ (g/L)	SOLI (mg/L)	PK _{ORI.} (mmol/LpH)	PK _{DEJ.} (mmol/LpH)	PK _{RAZL} (mmol/LpH)
Kontrola 2	3,496	912,5	4,39	4,61	221	32,07	27,63	4,44
Manoproteini 2 – 0,3 g/L	3,447	853	3,95	4,18	226	28,02	23,65	4,37
Manoproteini 2 – 0,6 g/L	3,456	771	3,92	4,15	231	27,87	23,42	4,45

Poskus je potekal pri konstantni temperaturi ohlajanja 2,0 °C na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla z dodatkom manoproteinov 2.

V četrtem poskusu se je vrednost pH po poskusu znižala za 0,05 enote pri manjšem dodatku manoproteinov 2, pri večjem dodatku za 0,04 enote. Vsebnost kalija se je znižala za 59 mg/L pri manjšem dodatku manoproteinov in za 141 mg/L pri večjem dodatku. Soli so se v

primerjavi s kontrolo povečale in sicer pri manjšem dodatku manoproteinov za 5 mg/L, pri večjem dodatku pa 10 mg/L. Povečanje soli smo zasledili v obeh poskusih z dodatkom manoproteinov 2, kar dokazuje, da so soli sestavni del pripravka teh manoproteinov, česar pa proizvajalec v deklaraciji ni navedel. Titrabilne kisline so bile pri manjšem dodatku manoproteinov 2 nižje za 0,44 g/L, pri večjem dodatku pa za 0,47 g/L. Skupne kisline pa so bile nižje za 0,43 pri manjšem dodatku manoproteinov 2, pri večjem dodatku pa za 0,46 g/L. Orientacijska pufna kapaciteta se je znižala za 4,1 mmol/LpH pri manjšem dodatku manoproteinov 2 in za 4,2 mmol/LpH pri večjem dodatku manoproteinov 2. Dejanska pufna kapaciteta se je znižala za 4,0 mmol/LpH pri manjšem dodatku manoproteinov 2 in za 4,2 enote pri večjem dodatku, tako je razlika pri manjšem dodatku manoproteinov 4,37 mmol/LpH, pri večjem dodatku pa 4,45 mmol/LpH.

4.2.4.1 Grafični rezultati poskusa na neobdelanih ploščicah – dodatek manoproteinov 2 (0,3 g/L)



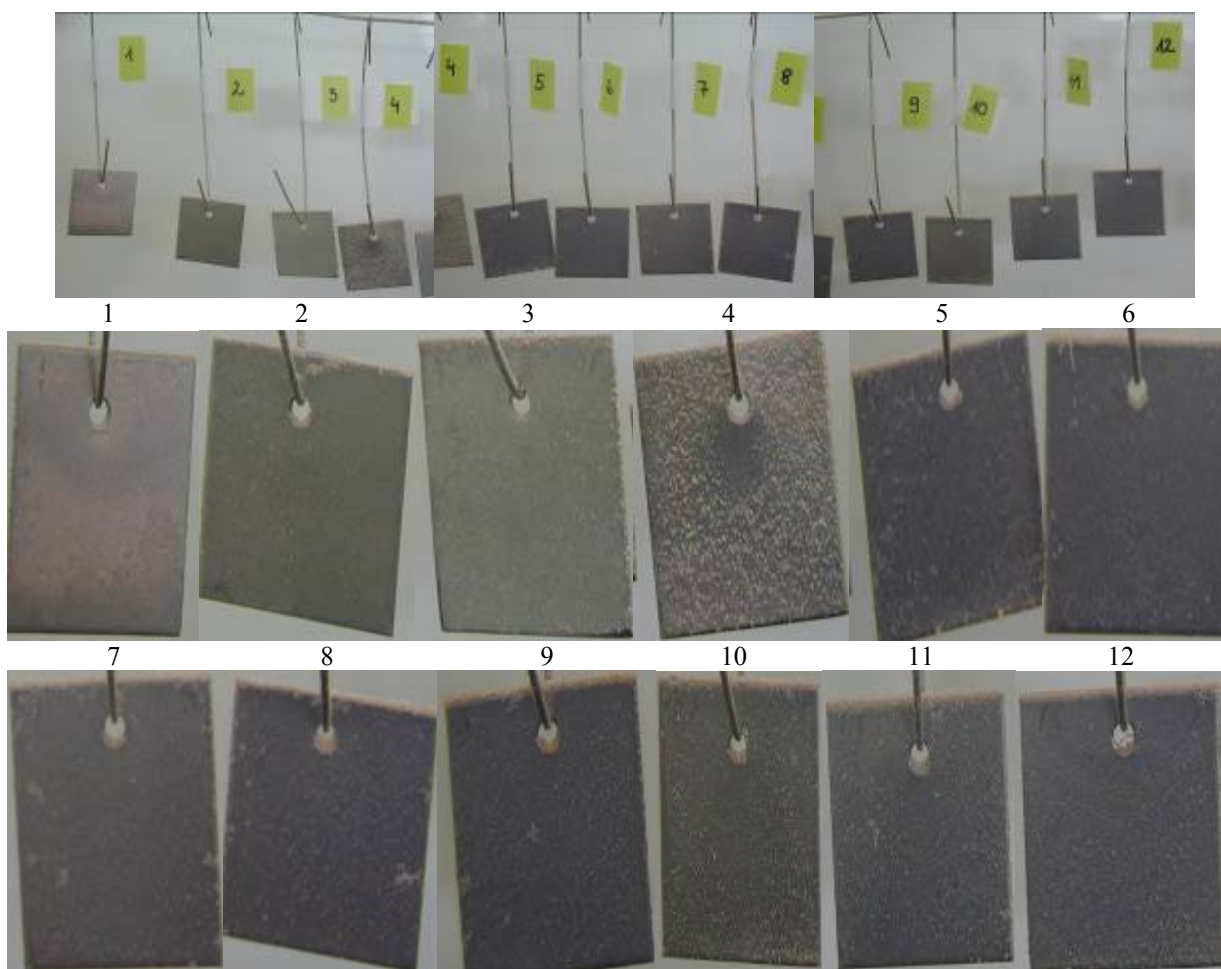
Slika 22: Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri manjšem dodatku manoproteinov 2 (0,3 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 2 °C

Poskus je potekal na neobdelani površini ploščic z manjšim dodatkom manoproteinov 2 (0,3 g/L), pri konstantni temperaturi ohlajanja 2,0 °C. Po desetih urah se je v 700 mL vzorca na površino neobdelane ploščice izločilo 17,04 mg kristalov vinskega kamna, po 49 urah pa 41,86 mg kristalov vinskega kamna. Razlika je tako 24,82 mg/700mL. Skupna masa kristalov KHT na ploščicah v 700 mL je 398,07 mg, kar je 569 mg/L. Po teoretičnem izračunu bi se moralo izločiti 376 mg/L kristalov KHT. Razlika 193 mg/L predstavlja manoproteine 2.

Oba poskusa z manjšim dodatkom manoproteinov 2 smo primerjali in ugotovili, da se je pri dodatku 0,2 g/L manoproteinov 2 izločilo 37,07 mg/700 mL več, kot pri dodatku 0,3 g/L manoproteinov 2, kljub dejstvu, da je bila temperatura ohlajanja za 1 °C nižja, prav tako pa je

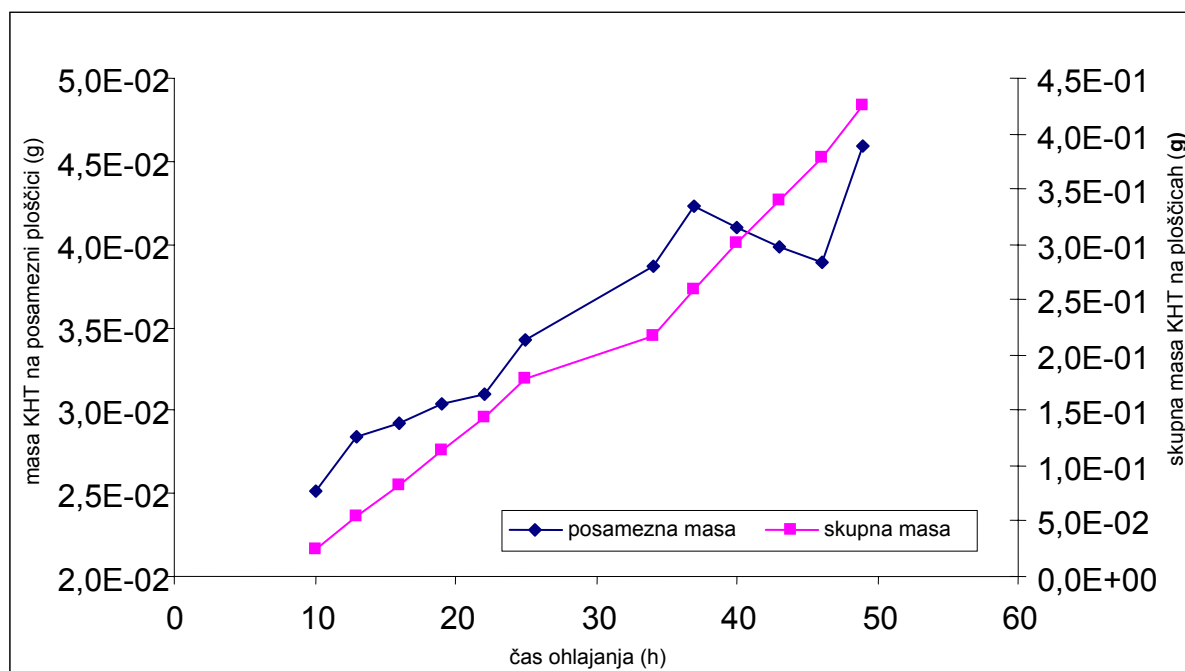
bil večji tudi dodatek manoproteinov 2 in sicer za 0,1 g/L. Vse to kaže, da so manoproteini 2 z večjim dodatkom in pri nižji temperaturi delovali inhibitorno na izločanje kristalov vinskega kamna.

Slika 23 prikazuje neobdelano površino ploščic z manjšim dodatkom manoproteinov 2 po poskusu. Kristali so majhni do srednje veliki in bele barve. Primerjava s sliko 22 pokaže, da se je na četrto in sedmo ploščico iz nerjavnega jekla naložilo največ kristalov vinskega kamna in manoproteinov 2. Kristali vinskega kamna in manoproteini 2 so se nalagali po vsej površini ploščic.



Slika 23: Neobdelana površina ploščic (manjši dodatek manoproteinov 2; 0,3 g/L) po poskusu

4.2.4.2 Grafični rezultati poskusa na neobdelanih ploščicah – dodatek manoproteinov 2 (0,6 g/L)

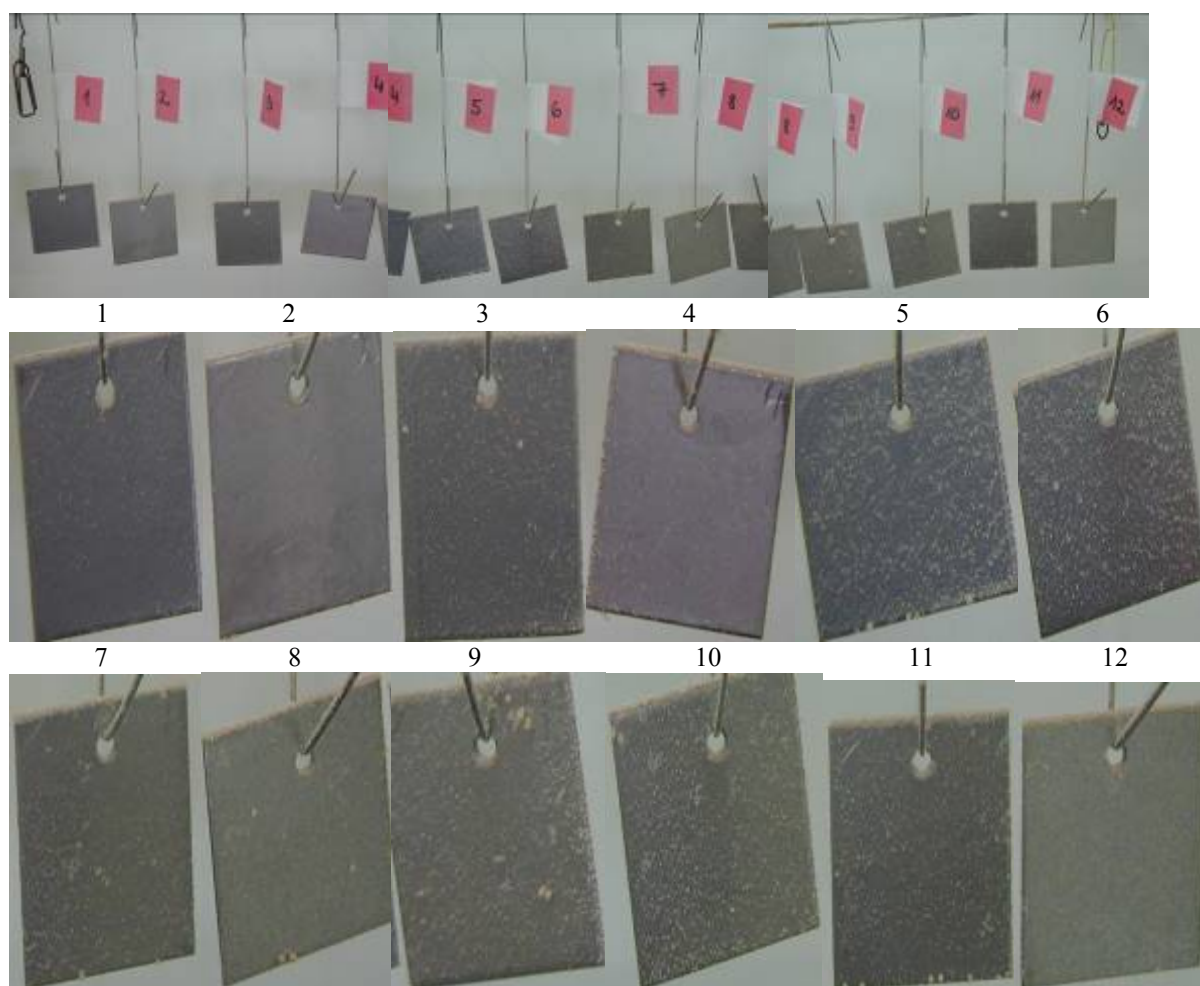


Slika 24: Časovna odvisnost mase izločenih kristalov na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla pri večjem dodatku manoproteinov 2 (0,6 g/L) in konstantni temperaturi ohlajanja 2 °C

Poskus je potekal na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla z večjim dodatkom manoproteinov 2 (0,6 g/L), pri konstantni temperaturi ohlajanja 2,0 °C. Po desetih urah se je v 700 mL vzorca na površino neobdelane ploščice izločilo 25,08 mg kristalov vinskega kamna, po 49 urah pa 45,91 mg. Razlika je masa 20,83 mg/700 mL kristalov KHT. Skupna masa izločenega KHT na površini ploščic je v 700 mL 424,92 mg, kar je v 1000 mL 607 mg. Teoretično bi se moralo izločiti 402 mg/L kristalov vinskega kamna. Razlika je 205 mg, ki pa predstavlja manoproteine 2.

Primerjava poskusov z višjim dodatkom manoproteinov 2 je pokazala, da se je pri dodatku 0,4 g/L manoproteinov 2 izločilo 104,54 mg/700 mL KHT več kot pri dodatku 0,6 g/L manoproteinov 2, pri nižji temperaturi ohlajanja za 1 °C. Tako smo tudi v tem primeru dokazali inhibitorni vpliv manoproteinov 2 na izločanje kristalov vinskega kamna, kljub večjemu dodatku manoproteinov in nižji temperaturi ohlajanja.

Slika 25 prikazuje neobdelano površino ploščic z večjim dodatkom manoproteinov 2 po poskusu. Kristali so majhni do srednje veliki in bele barve. Primerjava s sliko 24 pokaže, da je v tem primeru izločanje kristalov vinskega kamna potekalo enakomerno brez velikih odstopanj.



Slika 25: Neobdelana površina ploščic (večji dodatek manoproteinov 2; 0,6 g/L) po poskusu

Preglednica 10: Pregled rezultatov poskusov z dodatkom manoproteinov

Poskusi z dodatkom manoproteinov	Vsebnost K ⁺ v raztopini (mg/L)	Skupna masa KHT na ploščicah (mg/L)	Delež znižanja K ⁺ (%)
Kontrola 2	912,5	/	/
Manoproteini 1 – 0,5 g/L	853	198	6,5
Manoproteini 1 – 1,0 g/L	807	207	11,5
Kontrola 3	883	/	/
Manoproteini 2 – 0,2 g/L	837	621	5,2
Manoproteini 2 – 0,4 g/L	798	756	9,6
Kontrola 2	912,5	/	/
Manoproteini 2 – 0,3 g/L	853	569	6,5
Manoproteini 2 – 0,6 g/L	771	607	15,5

V preglednici 10 je predstavljen pregled rezultatov poskusov pri katerih smo uporabili različne dodatke manoproteinov. Delež znižanja K⁺ smo izračunali glede na vsebnost kalijevih ionov v kontroli. Pri večjem dodatku manoproteinov 1 se je izločilo le za 9 mg/L več kristalov vinskega kamna in 5 % več kalija, kar si razlagamo, da so uporabljeni manoproteini pri manjšem dodatku pospešili kristalizacijo in nalaganje na površino nerjavnega jekla, po

drugi strani pa je večji dodatek preprečil nalaganje kristalov na površino iz nerjavnega jekla. Prav tako so tudi manoproteini 2 pri manjših dodatkih delovali kot nukleacijska jedra, saj je razlika med dodatkoma 0,2 g/L in 0,6 g/L v masi kristalov KHT le 14 mg/L v prid manjšemu dodatku, 196 mg/L pa se je izločilo več kristalov KHT pri dodatku 0,4 g/L, če ga primerjamo z manjšim dodatkom 0,3 g/L. Odstotek znižanja kalija je pri dodatku manoproteinov 2 naraščal z naraščanjem dodatka manoproteinov. Razlika med dodatkoma 0,6 g/L in 0,2 g/L je 10,3 %. Vzrok za razliko je izločanje vinskega kamna na dno posode, ne pa na površino ploščic.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 Razprava

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti vpliv obdelave površine nerjavnega jekla na izločanje vinskega kamna v odvisnosti od temperature ter vpliv le-te na indukcijski čas kristalizacije KHT. Eksperimenti so simulirali tehnološki postopek stabilizacije vina v kletih in sicer s hlajenjem brez mešanja oziroma z dodatkom avtolizatorov celičnih sten kvasovk v obliki manoproteinov, ki po eni strani delujejo zaščitno, po drugi pa predstavljajo jedra in s tem pospešijo kristalizacijo.

5.1.1 PREDPOSKUS

Predposkus smo izvedli, ker smo hoteli dokazati, da vino, ki ga preiskujemo ni stabilno na vinski kamen, vendar se po osmih dneh trajanja stabilizacije, pri konstantni temperaturi ohlajanja 7,0 °C, kristali vinskega kamna niso izločili in smo predposkus prekinili. S tem smo dokazali, da je bilo osnovno vino stabilno ali pa smo uporabili previsoko temperaturo ohlajanja. Slednje je prav gotovo, saj se za hladno stabilizacijo ponavadi uporabljajo temperature blizu zmrzišča.

5.1.2 POSKUSI

Poskuse smo izvedli na prenasičenem vzorcu nestabiliziranega belega vina letnika 2003. Prenasičenje smo dosegli z dodatkom 5,7 g KHT/L. Vsak poskus je trajal 49 ur. Poskuse smo izvedli v 1000 mL čašah, z delovno površino 700 mL. Vzorčenje ploščic iz nerjavnega jekla se je pričelo po desetih urah, ko se je temperatura ustalila in je potekalo na tri ure.

V prvem poskusu, kjer smo ugotavljali vpliv obdelane in neobdelane površine iz nerjavnega jekla na izločanje kristalov vinskega kamna, je temperatura nihala od 7,5 °C do 4,0 °C. Ta poskus je bil primer omejene možnosti hlajenja v vinskih kletih, ki jo srečamo pri manjših vinogradnikih, ki za namen hladne stabilizacije izkoriščajo nizke zimske temperature. To nihanje temperature je vplivalo tudi na izločanje vinskega kamna, saj je potrebno za učinkovito hladno stabilizacijo posvečati pozornost stalni temperaturi. Nihanje temperature upočasni rast kristalov, v najslabšem primeru sploh ne pride do nastanka jeder, brez njih pa kristalizacija ne poteče (Jackson, 2000). To je razlaga, zakaj se je v tem primeru izločilo malo vinskega kamna. Temperatura ohlajanja je bila tudi previsoka, ker večino vina hladimo pri temperaturi – 4,0 °C (Jackson, 2000). Skupna masa izločenega vinskega kamna na obdelani površini ploščic je bila v vzorcu po 49 urah trajanja poskusa 60,14 mg/700mL, kar pomeni 86 mg/L. Teoretično bi se moralo izločiti 210 mg/L vinskega kamna, če vemo, da se izloči 1,25 g/L kristalov KHT, če se zniža vinska kislina za 1 g/L (Rodež, 1983). Če pa izhajamo iz dejstva, da se je ves KHT izločil na površino ploščic, bi se teoretično pri masi 60,14 mg/700 mL skupne kisline znižale za 0,05 g/700 mL oziroma 0,07 g/L, dejansko pa so bile nižje za 0,24 g/L. Na neobdelani površini ploščic je bila v 700 mL vzorca skupna masa

izločenega vinskega kamna 64,26 mg, kar pomeni 92 mg/L. Teoretično bi se moralo izločiti 202 mg/L vinskega kamna. Teoretično znižanje skupnih kislin bi bilo 0,05 g/700mL oziroma 0,07 g/L, dejansko pa so se znižale za 0,23 g/L. Zaradi izločanja soli vinske kisline iz mošta ali vina se lahko zniža kislost, ki pogosto dosega 2 do 3 g/L in sicer: 1 g izločenega primarnega KHT iz vina zniža kislost za 0,4 g/L (Šikovec, 1993). Razliko med izločenim vinskim kamnom in znižanjem skupnih kislin si lahko razlagamo tako, da se je vinski kamen izločil, vendar pa ne tudi odložil na ploščice iz nerjavnega jekla. Vrednost pH se je po poskusu znižala pri obdelani in neobdelani površini ploščic za 0,04 enote, kar je bilo proti pričakovanju, saj se z znižanjem kislin vrednost pH poveča, kar pa je odvisno od začetne vrednosti pH vzorca, če je višja ali nižja od vrednosti 3,7. Vendar pa je podobno dokazal tudi Zoecklein (1988), ko je hladno stabiliziral penino iz zvrsti vin in se je pH vrednost po hlajenju znižala za 0,08 enote. Vsebnost kalija se je po poskusu pri obdelani površini ploščic znižala za 76 mg/L, pri neobdelani površini pa za 106 mg/L, kar smo tudi pričakovali. Znano je, da kalij predstavlja 40 % vseh mineralnih snovi v vinu. 50 do 80 % kalija se v vinu nahaja v ionski obliki, ostalih 20 do 50 % pa je vezanega na tartrat, hidrogentartrat, sulfat in barvila (Bolčina, 2002). Pri obdelani površini ploščic so se soli v primerjavi s kontrolo zmanjšale za 28 mg/L, pri neobdelani površini pa za 29 mg/L. Dejanska pufrna kapaciteta se je znižala za 2,5 mmol/LpH pri obdelani površini ploščic in za 1,9 mmol/LpH pri neobdelani površini ploščic. Po Ribéreau-Gayonu in sod. (2000) smo pričakovali, da se bo med hladno stabilizacijo na vinski kamen, pufrna kapaciteta zmanjšala.

V drugem poskusu smo opazovali vpliv dodatka manoproteinov 1 na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla. Za neobdelano površino ploščic smo se odločili, zato ker se vinarji tako v manjših, kot v velikih kletah pri nas srečujejo s takim nerjavnim jeklom. S tem smo se približali tehnološkemu postopku v kletah. Uporabljena sta bila dva dodatka manoproteinov 1 in sicer 0,5 g/L in 1,0 g/L. Poskus je potekal pri konstantni temperaturi ohlajanja 2,0 °C. Kristalizacija vinskega kamna je tem bolj učinkovita, kolikor je temperatura hlajenja bližje točki zmrzišča vina, to pa v praksi pomeni 1 do 2 °C nad zmrziščem (Vodovnik in Vodovnik-Plevnik, 2003). Po Jacksonu (2000) večino vin hladimo pri temperaturi -4,0 °C. Skupna masa izločenega vinskega kamna na neobdelani površini ploščic z dodatkom 0,5 g/L manoproteinov 1 je bila v 700 mL vzorca 138,59 mg, kar pomeni 198 mg/L. Teoretično bi se moralo izločiti 377 mg/L vinskega kamna. Teoretično bi se skupne kisline znižale za 0,11 g/700 mL oziroma 0,16 g/L, dejansko pa so se znižale za 0,43 g/L. Skupna masa izločenega vinskega kamna na neobdelani površini z dodatkom 1,0 g/L manoproteinov 1 je bila v 700 mL vzorca 144,77 mg, kar pomeni 207 mg/L. Teoretično bi se moralo izločiti 403 mg/L kristalov vinskega kamna. Teoretično znižanje skupnih kislin bi bilo 0,12 g/700 mL oziroma 0,17 g/L, dejansko pa so se znižale za 0,46 g/L. Manoproteini lahko inhibirajo kristalizacijo vinskega kamna. Delujejo na principu kompetitivne inhibicije, kar omejuje kristalizacijo, vendar pa količina tartrata ni ogrožena (Lubbers, 1993). Po drugi strani pa lahko manoproteini delujejo kot heterogena primarna nukleacijska jedra za kristalizacijo KHT, tako se naloži plast kvasnih celic oziroma manoproteinov in kristalov KHT (Boulangé-Petermann in sod., 1999). To trditev smo potrdili z dejstvom, da so bili na ploščicah iz nerjavnega jekla vidni kristali vinskega kamna in tudi manoproteini 1, ki so sami rjave barve. Vrednost pH se je pri dodatku 0,5 g/L manoproteinov 1 znižala za 0,03 enote in pri dodatku 1,0 g/L pa le za 0,01 enote. Vsebnost kalija se pri manjšem dodatku manoproteinov 1 znižala za 59 mg/L, pri večjem dodatku pa za 105 mg/L. Soli so se v primerjavi s kontrolo, pri manjšem dodatku manoproteinov zmanjšale za 27 mg/L, pri večjem dodatku pa so se povečale za 16 mg/L. Dejanska pufrna kapaciteta se je pri manjšem dodatku znižala 0,04 mmol/LpH, pri večjem dodatku pa za 0,9 mmol/LpH.

V tretjem poskusu smo dodali manoproteine 2 in sicer v količinah 0,2 g/L in 0,4 g/L in opazovali potek kristalizacije vinskega kamna pri konstantni temperaturi ohlajanja 3,0 °C na neobdelani površini nerjavnega jekla. Tudi v tem primeru se nismo približali temperaturi zmrzišča, kot najprimernejši temperaturi za hladno stabilizacijo. Pri dodatku 0,2 g/L manoproteinov 2 se je v 700 mL vzorca izločilo 435,14 mg skupne mase vinskega kamna na ploščicah, kar pomeni 621 mg/L. Teoretično bi se moralo izločiti 385 mg/L. Skupne kisline bi se teoretično znižale za 0,35 g/700mL oziroma 0,50 g/L, dejansko pa so se znižale za 0,44 g/L. Pri dodatku 0,4 g/L manoproteinov 2 je bila skupna masa vinskega kamna na površini ploščic iz nerjavnega jekla 529,46 mg/700 mL oziroma 756 mg/L, teoretično bi se moralo izločiti 420 mg/L. Skupne kisline bi se teoretično morale znižati za 0,42 g/700 mL oziroma 0,61 g/L, dejansko pa so bile nižje za 0,48 g/L. V tem primeru so manoproteini 2 delovali izključno kot heterogena primarna nukleacijska jedra, na katera so se kopičili kristali vinskega kamna. Razliko med izločenim vinskim kamnom in teoretično izračunanim predstavljajo sami manoproteini 2, ki so bili vidni tudi na ploščicah in so skoraj bele barve. Vrednost pH se je v obeh primerih znižala za 0,04 enote. Vsebnost kalija se je znižala pri poskusu z manjšim dodatkom manoproteinov 2 za 46 mg/L, pri večjem dodatku pa za 85 mg/L. Soli so se v primerjavi s kontrolo, pri manjšem dodatku manoproteinov 2 povečale za 17 mg/L, pri večjem dodatku pa za 5 mg/L. Dejanska pufna kapaciteta je bila v prvem primeru nižja za 3,6 mmol/LpH, v drugem primeru pa za 4,0 mmol/LpH.

V četrtem poskusu smo ponovili poskus z manoproteini 2 in sicer z dodatkom 0,3 g/L in 0,6 g/L. Poskus je potekal pri konstantni temperaturi ohlajanja 2,0 °C na neobdelani površini ploščic iz nerjavnega jekla. Skupna masa izločenega vinskega kamna je v 700 mL vzorca, pri dodatku 0,3 g/L manoproteinov 2 bila 398,07 mg, kar pomeni 569 mg/L. Teoretično bi se moralo izločiti 376 mg/L kristalov KHT. Skupne kisline so se dejansko znižale za 0,43 g/L, teoretično pa bi se morale znižati za 0,50 g/700 mL oziroma 0,71 g/L. Skupna masa izločenega vinskega kamna na ploščicah z dodatkom 0,6 g/L manoproteinov 2 je bila 424,92 mg/700 mL oziroma 607 g/L, teoretično pa bi se moralo izločiti 402 mg/L vinskega kamna. Teoretično bi se skupne kisline znižale za 0,34 g/700 mL oziroma 0,49 g/L, dejansko pa so se znižale za 0,46 g/L. Tudi v tem poskusu z dodatkom manoproteinov 2 smo dokazali, da so delovali kot kristalizacijska jedra, vendar se je izločilo v tem primeru manj vinskega kamna kljub večji količini dodatka manoproteinov 2 in nižji temperaturi ohlajanja, kar pomeni, da so manoproteini 2 delovali inhibitorno na izločanje vinskega kamna. Vrednost pH se je pri dodatku 0,3 g/L manoproteinov 2 znižala za 0,05 enot, pri dodatku manoproteinov 2 0,6 g/L pa za 0,04 enote. Vsebnost kalija se je v prvem primeru znižala za 59 mg/L, v drugem primeru pa za 141 mg/L. Soli so se v primerjavi s kontrolo povečale, pri manjšem dodatku manoproteinov 2 za 5 mg/L, pri večjem dodatku pa za 10 mg/L. Dejanska pufna kapaciteta se je pri obeh dodatkih manoproteinov 2 znižala za 4,2 mmol/LpH.

5.2 Sklepi

Opazovanje poteka kinetike kristalizacije in ugotavljanje indukcijskega časa kristalizacije je v praksi zelo zahtevna naloga. Za določanje indukcijskega časa uporabljamo različne metode, pri katerih pa dobimo tudi zelo različne rezultate. Ena izmed možnih metod je vizualna zaznava pojava vidnih delcev KHT na uporabljeni posodi iz nerjavnega jekla, a je povezana z zelo 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.

Iz naših opazovanj je razvidno:

- da obdelava notranje površine iz nerjavnega jekla bistveno ne vpliva na potek kristalizacije,
- dodatek manoproteinov čas kristalizacije pospeši, če delujejo kot heterogena primarna nukleacijska jedra za kristalizacijo KHT, kot so do neke mere delovali manoproteini 1, saj so bili na ploščicah vidni kristali vinskega kamna in sami manoproteini. Kristalizacijo so pospešili tudi manoproteini 2 pri manjših dodatkih,
- manoproteini lahko tudi čas kristalizacije podaljšajo, če delujejo na principu kompetitivne inhibicije, kar omejuje kristalizacijo, kot so delovali manoproteini 1, saj se je izločilo veliko manj kristalov vinskega kamna, kot je bilo teoretično predvidevano. Pri večjih dodatkih in nižji temperaturi ohlajanja so tudi manoproteini 2 delovali zaščitno. Za podrobnejše ugotovitve bi morali uporabiti še kakšne druge pripravke manoproteinov.

6 POVZETEK

Z eksperimentom smo potrdili domnevo, da je na neobdelani notranji površini iz nerjavnega jekla pri nižjih temperaturah in pri dodatku manoproteinov v pogojih prenasičenja s KHT, značilno večja količina izločenih kristalov vinskega kamna. Na količino izločenih kristalov vinskega kamna in kinetiko kristalizacije je najbolj vplivala temperatura ohlajanja in tudi dodatek manoproteinov oziroma avtolizatorov kvasovk. Glavni dejavnik pri kinetiki kristalizacije je stopnja prenasičenja, ki skrajša indukcijski čas in je odvisna od mnogih dejavnikov. Najpomembnejši so temperatura ter koncentraciji kalijevega in hidrogenkarbonatnega iona. Nižja kot je uporabljena temperatura, krajši je indukcijski čas, saj s padajočo temperaturo stopnja prenasičenja raste. Predvidevali smo tudi, da bo razlika v količini izločenih kristalov vinskega kamna med obdelano in neobdelano notranjo površino iz nerjavnega jekla zelo velika, ki pa ni bila. Sklepamo, da je že sama neobdelana površina bila dovolj gladka in to ni vplivalo, da bi se kristali zato bolj ali manj oprijemali površine. Je pa bila opazna razlika med uporabljenimi manoproteini 1 in manoproteini 2. Prvi so delovali do neke mere zaščitno, potem pa kot jedra na katera so se nalagali kristali KHT, drugi pa so delovali samo kot jedra, vendar pa pri večjih dodatkih tudi zaščitno.

Na podlagi ugotovitev obdelava notranje površine iz nerjavnega jekla, iz katerega so izdelane cisterne za vino, ni smotrna, ker s tem ne dosežemo želenega efekta. Ta bi bil dosežen v primeru, da se na obdelano površino ne bi izločil vinski kamen in bi predstavljal samo usedlino, ki bi jo brez težav lahko odstranili, kar bi bilo v praksi idealno. Dodatek avtolizatorov kvasovk oziroma manoproteinov pa je ena od možnih rešitev, kako pospešiti kristalizacijo oziroma jo inhibirati, vendar pa predstavljajo dodaten strošek, ki pa je manjši v primerjavi s tradicionalno hladno stabilizacijo. Potrebne pa bi bile še dodatne raziskave v povezavi s časom trajanja stabilizacije ter temperaturo skladiščenja in distribucije izdelkov.

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*, 10: 105-109
- Bolčina U. 2002. Vpliv tehnoloških postopkov na vsebnost mineralnih snovi v belih vinih. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67 str.
- Berta P. 1993. La misura della stabilità tartarica dei vini. *Vignevini*, 20, 11: 22-46
- Blouin G., Guimberteau, Audonit P. 1982. Revention des précipitations tartariques dans les vin par le procede par contact. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 16: 63-77
- Boulangé-Petermann L., Vernhet A., Dupre K., Moutounet M. 1999. KHT cold stabilization: scanning electron microscopy study of the formation of surface deposits on stainless steel in model wines. *Vitis*, 38, 1: 43-45
- 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
- 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
- Feuillat M., Charpentier C. 1998. Les mannoprotéines de levure: Un adjuvant oenologique possible. *Bulletin de l' OIV* 71, 813 – 814: 929 – 940
- Feuillat M. 2003. Yeast macromolecules: Origin, composition, and enological interest. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54, 3: 211-213
- Gaillard M., Ratsimba B., Faravel J. L. 1990. Stabilité tartrique des vins: Comparaison de différents tests mesure de l' influence des polyphénols. *Revue Française d' Oenologie*, 30, 123: 7-13
- Guilloux-Benantier M., Guerreau J., Feuillat M. 1995. Influence of initial colloid content on yeast macromolecule production and on the metabolism of wine microorganisms. *American Journal of Enology and Viticulture*. 46, 486-492.
- Jackson R. S. 2000. Wine science. Principles, practice, perception. San Diego, Academic Press: 648 str.
- Judež M. 1981. Klasično in sodobno kletarstvo. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 391 str.

- Koch J., Schiller H. 1964. Kinetik der kristallisation von Weinstein. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung, 109: 180-183
- Košmerl T., Francetič V. 2002 . Prenasičenje alkoholnih raztopin kalijevega hidrogenartrata (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. 2004. Osnove kemijske analize mošta in vina. Laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo:
- Ledoux V., Dulau L., Dubourdieu D. 1992. Interpretation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin. 26. 239-251.
- Lubbers S., Charpentier C., Feuillat M., Voilley A. 1994. Influence of yeast walls on the behaviour of aroma compounds in a model wine. American Journal of Enology and Viticulture 45: 29-33
- Mannoproteins: Batonage Plus Structure. 2006. Brescia. Aeb-Group: 1
<http://www.aeb-group.com/or4/or?uid=aeb.main.index&oid=78277>
- Mannoproteins: Opti-White.2006. Lallemandwine. 3
<http://www.lallemandwine.us/products/others.php>
- Maujean A., Sausy L., Vallée D. 1985. Détermination de la sursaturation en bitartrate de potassium d'un vin. Quantification des effets colloïdes protecteurs. Revue Française d' Oenologie, 100: 39-49
- Perin J. 1977. Compte rendu de quelques essais de refrigeration des vins. Le Vigneron Champenios 98, 3: 97-101
- Racman K. 2001. Uporaba konduktometrije za odstranjevanje kalijevega hidrogenartrata pri tehnologiji vin. Diplomsko delo. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 86 str.
- Radovanović V. 1986. Tehnologija vina. Beograd, Građevinska knjiga: 686 str.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2000. Handbook of enology. Volume 2. The chemistry of wine stabilization and treatments. New York, John Wiley & Sons: 3-40
- Rodež S. 1983. Vpliv dveh različnih postopkov stabilizacije vina na vinski kamen. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 64 str.

- Rosi I., Gheri A., Domizio P., Fia G. 1999. Production of parietal macromolecules by *Saccharomyces cerevisiae* and their influence on malolactic fermentation. V: Lallemand Technical Meeting, May 27-29, Booklet number 7, Colloids and Mouthfeel in Wines. Montreal, Lallemand: 35 – 39
- Saucier C., Roux D., Glories Y. 1996. Stabilité colloïdale polymer catéchiques. Influence des polysaccharides. V: Oenologie 1995. 5e Symposium International d'Oenologie, Juin 17 – 19. Lonvaund-Fumel A. (Ed.). Paris, Lavoisier Tec-Doc: 395-400
- Šikovec S. 1993. Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 284 str.
- Vernhet A., Dupre K., Boulange-Peterman 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
- Vodovnik A., Vodovnik-Plevnik T. 2003. Od mošta do kozarca: pridelava vina, pridelava sadjevca. Maribor, Kmetijsko gozdarski zavod Maribor: 205 str.
- 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
- Zoecklein B.W. 2002. Bitartrate (cold stability) and estimating cold stability. Blacksburg, Department of Food Science and Technology; Enology notes 38, January 2002
<http://www.fst.vt.edu/extension/enology/downloads/PotBitar.pdf> (oktober 2002): 14 str.
- Wurding G., Müller T., Fiedrich G. 1982. Méthode pour caractériser la stabilité du vin vis-à-vis du tartre par détermination de la température de saturation. Bulletin de l' OIV, 55, 613: 220-229

ZAHVALA

Za vso strokovno pomoč, vodenje, usmerjanje, koristne nasvete pri izdelavi diplomskega dela in potrpežljivosti z mano se v največji meri zahvaljujem mentorici doc. dr. Tatjani Košmerl.

Iskreno se zahvaljujem gospe Zdenki Zupančič za pomoč pri laboratorijskem delu in za prijetno delovno vzdušje.

Zahvaljujem se doc. dr. Rajku Vidrihu za nasvete in strokovne popravke diplomske naloge.

Hvala knjižničarkama Barbari Slemenik in Ivici Hočevar pri iskanju knjižnega gradiva in urejanju diplomske naloge.

Prav tako se zahvaljujem svojima sodelavkama, gospe Cvetki Sakelšek in gospe Slavici Kočevar za podporo in razumevanje.

Iskrena hvala tudi mojim staršem in bratu za moralno in materialno podporo v času študija.

Hvala Darku za vso podporo in razumevanje.