

UNIVERZA V NOVI GORICI
VISOKA ŠOLA ZA VINOGRADNIŠTVO IN VINARSTVO

**VPLIV EMBALAŽE IN SKLADIŠČNIH POGOJEV NA
VSEBNOST FENOLNIH SPOJIN V VINIH
MODRI PINOT IN ZELEN**

DIPLOMSKO DELO

Karin Kurinčič

Mentorja: Melita Sternad Lemut, *univ. dipl. inž. živil. tehnol.*, dr. Kajetan Trošt

Nova Gorica, 2012

ZAHVALA

Zahvalila bi se staršem za spodbudo v času študija, ter Primožu in hčerki Miki.

Iskreno se zahvaljujem mentorjema Meliti Sternad Lemut in dr. Kajetanu Troštu za vso strokovno pomoč pri izvajanju in pisanju diplomske naloge.

Enaka zahvala gre Meliti Sternad Lemut in Matjažu Lemutu, ki sta mi odstopila vino za poskuse in omogočila opravljanje eksperimentalnega dela v njuni vinski kleti Tilia ter tudi Univerzi v Novi Gorici, ki mi je omogočila opravljanje poskusov na Univerzitetnem vinu Zelen. Zahvaljujem se še podjetju Polona, trgovina - posredništvo Polona Ukmar s.p., iz Črnič, za izposojno zapiralnega stroja za navojne pokrovčke ter za njihovo pomoč pri izvedbi poskusa.

Najlepša hvala tudi vsem ostalim, ki ste mi bili kakorkoli v pomoč pri opravljanju diplomske naloge.

POVZETEK

Kakovost vina v steklenici med zorenjem oziroma staranjem je v precejšnji meri odvisna tudi od izbrane embalaže in skladiščnih pogojev, v katerih hranimo stekleničeno vino. V našem poskusu smo opazovali vpliv izbora materiala zamaškov, volumna steklenic in ustreznosti skladiščnih pogojev na razvoj fenolnih spojin (antocianov, hidroksicimetnih kislin), ki so močno povezane s senzorično kakovostjo vina. Pod izenačenimi pogoji smo stekleničili vino Zelen 2009 v 0,75L buteljčne steklenice ter vino Modri Pinot 2007 v steklenice dveh različnih velikosti (0,75L buteljčno steklenico in 1,5L magnum steklenico) ter nato izbrane vzorce zaprli z zamaški iz različnih materialov: plutovinastimi, sintetičnimi in kovinskimi (navojnimi). Vzorce tako pripravljenih steklenic vina smo shranili na dva načina: v priporočenih pogojih (12°C, stalna temperatura, tema) in v pogojih, kakršnim so izpostavljena vina na komercialni trgovinski polici (sobna, nihajoča temperatura, izpostavljenost svetlobi). Po treh letih smo v obravnavanih vzorcih vina preverili vsebnost fenolnih spojin, parametre barve in preostanek prostega SO₂. Rezultati so pokazali velik vpliv skladiščnih pogojev na vsebnost opazovanih fenolnih spojin in na parametre barve v vinu, občutno manj pa je (po treh letih staranja) na opazovane fenolne profile vplival izbor različne embalaže.

Ključne besede: vinski zamaški, vinske steklenice, skladiščni pogoji, antociani, hidroksicimetne kisline, barva vina.

SUMMARY

The quality of wine during its maturation and aging can largely depend on the chosen packaging material as well as on the storage conditions in which the bottled wine is stored. In our experiment, we have studied the effect of different closure materials, bottle volumes and storage conditions on the development of some phenolic compounds (anthocyanins, hydroxycinnamic acids) that are strongly associated with sensorial wine quality. We have bottled Zelen 2009 wine into 0,75L bottles and Pinot Noir 2007 wine into classic 0,75L and into 1,5L volume magnum bottles. All those bottles were then closed with three different types (materials) of closers: natural cork, synthetic cork and metal screw cap. Finally all treatments were stored under two different storage conditions: in the recommended conditions (12°C constant temperature, darkness) and in the conditions simulating the situation on the commercial wine shelves (unstable room temperature, light exposure). After three years of storage we have analyzed the content of phenolic compounds, color parameters and free SO₂ in the observed wines. The results indicated significant influence of storage conditions on the observed phenolic compounds and associated wine color properties, while the chosen packaging material (cork type, bottle volume) showed lesser impact on the phenolic profiles under investigation.

Key words: wine closers, wine bottles, storage conditions, anthocyanins, hydroxycinnamic acids, wine color.

KAZALO VSEBINE

POVZETEK.....	V
SUMMARY.....	VI
KAZALO VSEBINE	VII
SEZNAM TABEL	X
SEZNAM SLIK	XI
OKRAJŠAVE	XIII
SIMBOLI.....	XIV
1 UVOD	1
1.1 Povod za delo.....	1
1.2 Delovna hipoteza.....	2
2 TEORETIČNE OSNOVE.....	4
2.1 Vinska embalaža	4
2.1.1 STEKLENA VINSKA EMBALAŽA	4
2.1.1.1 Oblike steklenic	4
2.1.1.2 Barve steklenic	4
2.1.1.3 Volumni steklenic.....	5
2.1.2 DRUGA VINSKA EMBALAŽA.....	5
2.2 Zamaški vinskih steklenic	6
2.2.1 PLUTOVINASTI ZAMAŠKI.....	6
2.2.2 NAVOJNI ZAMAŠKI.....	7
2.2.3 SINTETIČNI ZAMAŠKI.....	8
2.2.4 DRUGI ZAMAŠKI	8
2.3 Dejavniki, ki vplivajo na zorenje vina v steklenici	8
2.3.1 DEJAVNIKI IZ OKOLJA.....	9
2.3.1.1 Temperatura.....	9
2.3.1.2 Svetloba	9
2.3.2 OSTALI DEJAVNIKI.....	10
2.3.2.1 Vpliv pH	10
2.3.2.2 Vpliv SO ₂	10
2.3.2.3 Vpliv kisika	10

2.3.3	FENOLNE SNOVI V VINU	11
2.3.3.1	Flavanoidi	11
2.3.3.2	Neflavonoidi	13
3	EKSPERIMENTALNI DEL	14
3.1	Materiali	14
3.1.1	VINA	14
3.1.2	VINSKA EMBALAŽA	15
3.1.2.1	Steklenice	15
3.1.2.2	Zamaški	15
3.2	Metode	19
3.2.1	PRIPRAVA VZORCEV	19
3.2.1.1	Skladiščenje vina	19
3.2.1.2	Priprava vzorcev za analize	19
3.2.2	ANALIZA KEMIJSKIH PARAMETROV	20
3.2.2.1	Merjenje prostega SO ₂ po modificirani metodi po Ripperju	20
3.2.2.2	Določanje skupnih fenolov	21
3.2.2.3	Določanje skupnih antocianov	23
3.2.2.4	Določanje parametrov barve	24
3.2.2.5	Določanje deleža polimerne barve	24
3.2.2.6	Kromatografsko določanje posameznih antocianov in hidroksicimetnih kislín	25
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	27
4.1	Vsebnost prostega SO₂	28
4.1.1	VSEBNOST PROSTEGA SO ₂ V VINU MODRI PINOT	28
4.1.2	VSEBNOST PROSTEGA SO ₂ V VINU ZELEN	29
4.2	Vsebnost skupnih fenolov	30
4.2.1	VSEBNOST SKUPNIH FENOLOV V VINU MODRI PINOT	30
4.2.2	VSEBNOST SKUPNIH FENOLOV V VINU ZELEN	31
4.3	Vsebnost skupnih antocianov	31
4.3.1	VSEBNOST SKUPNIH ANTOCIANOV V VINU MODRI PINOT	32
4.4	Parametri barve	33
4.4.1	PARAMETRI BARVE V VINU MODRI PINOT	33

4.4.2	PARAMETRI BARVE V VINU ZELEN	34
4.5	Delež polimerne barve.....	34
4.5.1	DELEŽ POLIMERNE BARVE V VINU MODRI PINOT	35
4.6	Ton barve	36
4.6.1	TON BARVE V VINU MODRI PINOT	36
4.7	Kvalitativni in kvantitativni profil monomernih antocianov	37
4.7.1	VSEBNOST POSAMEZNIH IN SKUPNIH MONOMERNIH ANTOCIANOV V VINU MODRI PINOT	37
4.8	Kvalitativni in kvantitativni profil hidroksicimetnih kislin	39
4.8.1	VSEBNOST POSAMEZNIH IN SKUPNIH HIDROKSICIMETNIH KISLIN V VINU MODRI PINOT	39
4.8.2	VSEBNOST POSAMEZNIH IN SKUPNIH HIDROKSICIMETNIH KISLIN V VINU ZELEN.....	40
5	ZAKLJUČKI	42
6	VIRI	43

SEZNAM TABEL

Tabela 1: Volumni in imena posameznih vinskih steklenic glede na njihov volumen (Jacobson, 2006: 235).....	5
Tabela 2: Rezultati analize hitrega testa za vino Modri Pinot (opravljena analiza na KGZ Nova Gorica - agroživilski laboratorij, dne 30.4.2009).	14
Tabela 3: Rezultati analize hitrega testa za vino Zelen (opravljena analiza na KGZ Nova Gorica - agroživilski laboratorij, dne 30.4.2009).	15
Tabela 4: Legenda uporabljenih oznak za obravnave v poskusu.	27
Tabela 5: Vpliv izbora embalaže in skladiščnih pogojev na absorbanco pri izbranih valovnih dolžinah, barvni indeks (CI) in na koordinate barvnega prostora CIE $L^*a^*b^*$ v vinu Modri Pinot. V tabeli so predstavljene povprečne vrednosti treh paralelk s pripadajočimi standardnimi odkloni.	33
Tabela 6: Vpliv izbora embalaže in skladiščnih pogojev na absorbanco pri izbranih valovnih dolžinah, na barvni indeks (CI) in na koordinate barvnega prostora CIE $L^*a^*b^*$ v vinu Zelen. V tabeli so predstavljene povprečne vrednosti treh paralelk s pripadajočimi standardnimi odkloni.	34

SEZNAM SLIK

Slika 1: Osnovna struktura antocianov (Margalit, 2004).	12
Slika 2: Strukturna formula hidroksicimetnih kislin (Vrhovšek, 2000)	13
Slika 3: Prikaz uporabljenih steklenic: buteljčna (spodaj) in magnum (zgoraj) ter uporabljenih vrst zamaškov: plutovinasti (levo spodaj), kovinski navojni (v sredini spodaj) in silikonski (desno spodaj). (Foto: Melita Sternad Lemut, 2011)	16
Slika 4: Shema poteka eksperimentalnega dela poskusa za vino Modri pinot.	17
Slika 5: Shema poteka eksperimentalnega dela poskusa za vino Zelen.	18
Slika 6: Priprava vzorčnikov za vzorce vina pred odpiranjem steklenic (Foto: Karin Kurinčič, 2011)	20
Slika 7: Določanje prostega SO ₂ v vzorcih vina z avtomatskim titratorjem (Foto: Karin Kurinčič, 2011)	21
Slika 8: Postopek priprave vzorcev in analiza določanja skupnih fenolov s spektrofotometrično metodo (Foto: Karin Kurinčič, 2011)	22
Slika 9: Povprečna koncentracija prostega SO ₂ v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev. *Vzorci napoljnji v magnum steklenice so bili analizirani v eni paralelki, zato standardni odkloni tu niso prikazani.	28
Slika 10: Povprečna koncentracija prostega SO ₂ (mg/L) v vinih Zelen v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.	29
Slika 11: Povprečna koncentracija skupnih fenolov (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.	30
Slika 12: Povprečna koncentracija skupnih fenolov (mg/L) v vinih Zelen v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.	31
Slika 13: Povprečna koncentracija skupnih antocianov (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.	32
Slika 14: Delež polimerne barve (%) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in	

volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.	35
Slika 15: Razmerje absorbanca pri 420 in 520nm (ton barve) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.	36
Slika 16: Povprečna koncentracija skupnih in posameznih monomernih antocianov (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.	37
Slika 17: Povprečna koncentracija skupnih in posameznih hidroksicimetnih kislin (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji,	39
Slika 18: Povprečna koncentracija skupnih in posameznih hidroksicimetnih kislin (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji,	40

OKRAJŠAVE

/b/ = buteljčna steklenica (0,75L)

/M/ = magnum steklenica (1,5L)

SF = skupni fenoli

SA = skupni antociani

HCK = hidroksicimetne kisline

TKA = 2,4,6-trikloroanizol

FC = Folin-Ciocalteujev reagent

TFA = trifluoroocetna kislina

Del 3-glu = delphinidin 3-glukozid

Pet 3-glu = petunidin 3-glukozid

Peo 3-glu = peonidin 3-glukozid

Mal 3-glu = malvidin 3-glukozid

DF = faktor redčitve

SIMBOLI

T = temperatura

λ_{vis} = valovna dolžina v vidnem delu spektra

1 UVOD

1.1 Povod za delo

Danes so vinarjem na razpolago različne vrste zamaškov za steklenice, ki omogočajo različne pogoje za hranjenje oz. staranje vina v steklenici. Poleg tradicionalnih in preizkušenih plutovinastih zamaškov, so na trgu vedno bolj pogosti tudi sintetični silikonski, kovinski (navojni) in celo stekleni zamaški.

Za zorenje vin vlada splošno prepričanje, da vino potrebuje nekaj kisika, ki se lahko izmenja skozi plutovinast zamašek, medtem ko skozi druge zamaške to skoraj ni mogoče (Rusjan, 2004). Takšna interakcija omejenih količin kisika z ustekleničenim vinom je lahko še posebej koristna za razvoj rdečih vin (Hart in Kleining, 2005).

V primerjavi s plutovinastimi zamaški, je uporaba novejših tipov zamaškov manj preizkušena na različnih sortah in za različne stile vina, poleg tega pa se dostopni podatki o njihovem dejanskem vplivu precej razhajajo.

Poleg različnih vrst zamaškov, je na trgu tudi cela paleta različnih vinskih steklenic. Tako lahko vinarji za stekleničenje vina poleg različne barve, oblike in gramature stekla izbirajo med različnimi volumni steklenic. Med temi je najpogostejša 0,75L t.i. buteljčna steklenica, pogosto pa se (vsaj za del svoje letne polnitve boljših letnikov) vinarji odločajo za uporabo magnum steklenic, za katere velja mnenje, da boljše oziroma dlje ohranjajo kondicijo vina.

Tudi različni skladiščni pogoji kot so svetloba, temperatura in relativna vlaga različno vplivajo na ohranjanje kakovosti stekleničenega vina. Slabi pogoji, kakršnim so izpostavljena vina na klasičnih komercialnih policah v trgovini, lahko negativno vplivajo na kakovost in trajnost vina.

Ustrezna izbira skladiščenja in dobra izbira embalaže imata lahko torej zelo velik vpliv na dolgoročno kakovost vina (Sternad Lemut in Trošt, 2010). Občutljivost nekaterih vinu lastnih fenolnih spojin na prisotnost kisika oz. oksidacijo v kombinaciji z večjo ali manjšo razpoložljivostjo kisika lahko pogojujeta določene senzorične lastnosti vina -

predvsem videz vina (barva, intenzivnost in ton) in okus vina (grenkoba, astringenca) (Giusti in Wrolstad, 2001).

Da bi podrobneje preučili te vplive, smo pod drobnogled vzeli polnitvi dveh vin, ki sta zaradi svojih značilnosti lahko še posebej občutljivi na večje vsebnosti kisika.

Sorta '**Zelen**' (*Vitis vinifera* L.) je avtohtona slovenska sorta vinske trte, ki izhaja iz vinorodnega okoliša zgornje Vipavske doline. Vina iz grozdja sorte 'Zelen' imajo po poročanjih v primerjavi z drugimi belimi sortami veliko vsebnost hidroksicimetnih kislin (Vanzo in sod., 2007), ki so zelo podvržene oksidaciji (Bavčar, 2006).

Sorta '**Modri pinot**' (*Vitis vinifera* L.) najverjetneje izvira iz Burgundije in je danes po celem svetu razširjena sorta. Čeprav poznana bolj kot »severna« rdeča sorta, pa dosega dobre rezultate tudi v Vipavski dolini. Vina iz grozdja sorte 'Modri Pinot' so lahko problematična z vidika barve, saj ima grozdje te sorte nizko naravno vsebnost antocianov (Girard in sod., 1997), ob tem pa tudi nizko obstojnost barve med staranjem (Sternad Lemut in sod., 2011).

1.2 Delovna hipoteza

V okviru diplomskega dela smo raziskovali vpliv vrste embalaže (material zamaškov, velikost oz. volumen steklenic) in skladiščnih pogojev (temperatura ter izpostavljenost svetlobi) na razvoj nekaterih fenolnih snovi, ki so tesno povezane z razvojem barve med staranjem v steklenici. Za opazovanje smo kot osnovo izbrali eno belo in eno rdeče vino (Zelen in Modri Pinot).

V skladu s strokovno in znanstveno literaturo je naše delo temeljilo na naslednjih predpostavkah:

1. Zamaški iz različnih materialov različno vplivajo na prepustnost za kisik (in/ali stopnjo z zamaškom vtisnjene kisika) ob stekleničenju in s tem na stopnjo oksidacije vsebine v vinski steklenici po določenem času staranja. To v nadaljevanju vpliva na kvantitativne in kvalitativne profile nekaterih fenolnih spojin v vinu, pomembnih tudi za senzorično kakovost (belega in rdečega) vina.

2. Različni volumni steklenic zaradi različnega razmerja med volumnom vina in količino skozi zamašek prepuščenega kisika (in/ali med stekleničenjem vtisnjene

kisika) različno vplivajo na razvoj opazovanih fenolnih spojin tekom skladiščenja in s tem na lastnosti (belega in rdečega) vina po določenem času staranja v steklenici.

3. Različni skladiščni pogoji različno vplivajo na ohranjanje kakovosti (belih in rdečih) vin z vidika razvoja fenolnih komponent vina in povezanih parametrov barve vina.

2 TEORETIČNE OSNOVE

2.1 Vinska embalaža

2.1.1 STEKLENA VINSKA EMBALAŽA

Za shranjevanje vina se največkrat uporablja steklena embalaža oz. vinske steklenice. Steklo je utrdilo svoj položaj kot prevladujoči tip embalaže na svetovnem vinskem trgu v času od 1998-2003, saj je v tem obdobju prevzelo več kot 70-odstotni tržni delež (Jenster in sod., 2008). Priljubljenost stekla temelji na tradicionalnem povezovanju z visoko kakovostjo izdelkov (Jenster in sod., 2008) in tako predstavlja poseben odnos do vina (Bavčar, 2006). Med pomembnimi lastnostmi steklenic, ki vplivajo na kakovost vina in/ali na percepcijo strank so predvsem: oblika, barva, gramatura stekla in volumen steklenice.

2.1.1.1 Oblike steklenic

Danes imamo na trgu mnogo oblik vinskih steklenic, od katerih so za mirna vina najbolj razširjene t.i. Bordojska in Burgundska steklenica, ki izvirata iz Francije ter Renska steklenica, ki je najbolj pogosta predvsem v germanskih deželah. Bordojska oblika steklenice je valjasta s hitrim prehodom v kratek, raven vrat, medtem, ko je Burgundska steklenica znana po bolj trebušasti obliki s počasnim in manj očitnim prehodom v vrat. Renska steklenica je praviloma ožja in višja, z manj očitno mejo med telesom in vratom.

2.1.1.2 Barve steklenic

Poleg vpliva na percepcijo kupcev ima barva steklenic pomembno vlogo tudi pri skladiščenju vina iz vidika prepustnosti svetlobe, saj z določenimi barvami steklenic bolj ali manj preprečimo, da bi svetloba prehajala v vino in povzročala določene kemijske reakcije (Selli in sod., 2002). V vinarski praksi se uporablja barve steklenic od belih (prozornih), zelenih, olivno zelenih do rjavih. Izbor barve se prilagaja potrebam vina v steklenici glede zaščite pred svetlobo (Jacobson, 2006). V nekaterih primerih pri

izboru barve steklenice prevlada želja po poudarjanju realne barve vina kupcu (prozorne steklenice), kar pa načeloma predstavlja kompromis na račun kakovosti in trajnosti vina.

2.1.1.3 Volumni steklenic

Vina višje kakovosti se pretežno polnijo v t.i. buteljčne steklenice z volumnom 0,75L. Poleg tega se za polnitev vina uporabljajo še druge steklenice z manjšimi in večjimi volumni. Njihova poimenovanja so razvidna iz tabele 1.

Tabela 1: Volumni in imena posameznih vinskih steklenic glede na njihov volumen (Jacobson, 2006: 235)

<i>VOLUMEN</i>	<i>IME STEKLENICE</i>
375 mL	Polovična steklenica
750 mL	Klasična buteljčna velikost steklenice
1,5 L	Magnum steklenica
2,25 L	Marie-Jean
3 L	Dvojni magnum
3 L	Jeroboam (Šampanija in Burgundija)
4,5 L	Jeroboam (Bordeaux)
4,5 L	Reboam (Šampanija in Burgundija)
6 L	Imperial (Bordeaux)
6 L	Methuselah (Šampanija in Burgundija)
9L	Salmanazar (Šampanija in Burgundija)
12 L	Balthazar (Šampanija in Burgundija)
15 L	Nebuchadnezzar (Šampanija in Burgundija)

2.1.2 DRUGA VINSKA EMBALAŽA

Poleg steklenic se za polnjenje vina lahko uporablja tudi kartonska embalaža, ki je druga najpomembnejša oblika vinske embalaže v svetovnem merilu obsega. V zadnjem času se uveljavlja tudi t.i. 'bag in a box' embalaža, katere tržni delež je leta 2005 znašal 4% (povzeto po Jenster in sod., 2008). V takšno embalažo se polni predvsem sveža in mlada vina (Bavčar, 2006).

2.2 Zamaški vinskih steklenic

Zamaški iz plute še vedno zavzemajo 70-odstotni delež med vsemi vrstami zamaškov na vinskem trgu, medtem ko predstavljajo sintetični zamaški 15 do 20-odstotni, navojni pa 10 do 15-odstotni delež (Lopes, 2011). Vsak vinski zamašek ima svoje prednosti in slabosti za različne vinske sorte in stile vina in sicer s tem, ko bolj ali manj prepreči stik s kisikom in s tem oksidacijo pomembnih sestavin vina in/ali pojav negativnih arom v vinu (Gardner, 2008).

2.2.1 PLUTOVINASTI ZAMAŠKI

Zamaški iz plutovine so največkrat uporabljeni zamaški za zapiranje vinskih steklenic in imajo več kot 200-letno tradicijo (Vodovnik in Vodovnik, 1999). Kemična sestava celične membrane ter njena struktura predstavljata največjo prednost plute (Rusjan, 2004), saj je kot material primerno elastična in lahka. Čeprav so plutovinasti zamaški kljub prepričanju v resnici zelo slabo propustni za zrak, pa je lahko že sam kisik, ki je vpet v strukturo plute, dovolj pomemben vir kisika za sproščanje v vino med njegovim zorenjem (Lopes in sod., 2007).

Eden izmed znanih problemov plutovinastih zamaškov je možnost pojava neprijetnega "vonja po zamašku" kar je posledica prisotnosti 2,4,6-trikloranizola ali TKA. Čeprav je TKA poznan kot glavni vzrok za napako okusa po zamašku, pa ni edini. Trenutno je poznanih 12 spojin, ki so lahko soudeležene pri pojavu te relativno pogoste napake (Sefton in Simpson, 2005).

Plutovinasti zamaški morajo biti nujno pravilno hranjeni, primerna mora biti zračna vlaga (od 40–60%), v prostoru ne sme biti tujih vonjav, temperatura ne sme biti pod 0°C, zamaški pa morajo biti porabljeni v 6 mesecih od nakupa (Nemanič, 2000).

Glede na način predelave jih lahko razdelimo na naravne in industrijske (Vodovnik in Vodovnik, 1999). Naravni plutovinasti zamaški so narejeni iz enega kosa ali pa iz več odbranih kosov, ki so ponovno zlepljeni. Industrijski plutovinasti zamaški pa so sestavljeni na različne načine iz naravne plute in zlepljenih delov in delcev (Vodovnik in Vodovnik, 1999). T.i. kombiniran zamašek je sestavljen iz jedra, ki je iz drobljene oz. mlete plute in iz zunanjšega dela, kjer je lepljenih več kolobarjev masivne plute. Slednje lahko uporabljamo tudi za vina višjega cenovnega razreda oziroma za tiste ki se bodo

arhivirala (Bavčar, 2006). Zamašek iz mlete plute je izdelan iz ostankov in drobcev mlete plute, ki so zlepjeni z organskimi lepili brez vonja in okusa. Takšne zamaške se največkrat uporablja za vina nekoliko nižjega kakovostnega razreda.

Zamaški iz plute so največkrat premera 24mm in dolžine od 38mm, lahko pa so tudi drugih dimenzij, odvisno od zahtev in želja vinarjev (Bavčar, 2006). Za vina, namenjena zorenju, so plutovinasti zamaški zaželjeni, ker omogočajo minimalen vstop kisika do vina – v praksi je ta količina zelo majhna – približno 1mL kisika na liter vina v enem letu (Bavčar, 2006).

Glede na kakovost plute, so plutovinasti zamaški lahko zelo variabilni v prepustnosti kisika, vendar pa vsi prepuščajo majhne količine kisika postopno, kar omogoča postopno staranje vina (Gardner, 2008) in hkrati dovolj nizko stopnjo oksidacije vina (Lopes in sod., 2007).

2.2.2 NAVOJNI ZAMAŠKI

Navojni zamaški oziroma pokrovčki (v nadaljevanju samo zamaški) v skladu z objavami prepuščajo najnižjo stopnjo kisika v vino, vendar pa s tem tudi onemogočajo razvoj določenih pozitivnih aromatičnih komponent (Lopes in sod., 2007). Po drugi strani se zaradi zmanjšane vnosa kisika skozi navojni zamašek lahko zmanjša tudi razvoj nezaželenih vonjev, kot je merkaptanski vonj. V skladu z ugotovitvami Gardnerja (2008) ter Lopesa in sodelavcev (2007) izkazujejo vina, zaprta z navojnimi zamaški, po dveh letih najnižjo stopnjo vdora kisika skozi zamašek. Tako zaprta vina ohranijo tudi največ CO₂ v vinu (Nemanič, 2006) in največjo stopnjo SO₂ in askorbinske kisline (ki delujeta antioksidativno) v vinu ter imajo posledično najnižjo stopnjo oksidacije (Godden in sod., 2001).

Klub temu, da ti zamaški zavirajo razvoj nekaterih aromatskih spojin in tudi razvoj terciarnega okusa vina, so vedno bolj uporabljeni v vinarski industriji, saj se največkrat uporabljajo za zapiranje mladih svežih vin (Gardner, 2008), kjer je ohranjanje stanja vina kot ob stekleničenju najbolj zaželeno – ali z drugimi besedami: kjer zorenje vsebine steklenice ni potrebno.

Glavni praktični problem, ki nastane pri prehodu na uporabo navojnih zamaškov je, da potrebujejo posebne steklenice z navojem (saj se mora zamašek lepo prilagoditi

steklenici) ter posebno aparaturo za zapiranje takšnih zamaškov (Gardner, 2008). Problem, poznan iz prakse, pa je tudi (pre)pogosto slabo tesnenje določenega odstotka tovrstnih zamaškov.

2.2.3 SINTETIČNI ZAMAŠKI

Kljub prvotnemu prepričanju, da sintetični (silikonski) zamaški ne omogočajo prepustnosti za kisik in da so kot taki najprimernejši za mlada, letna vina, v katerih želimo čim bolj ohraniti sveže primarne arome, pa nekatere raziskave kažejo ravno nasprotno: sintetični zamaški v skladu z nekaterimi dognanji kažejo veliko stopnjo prepustnosti za kisik in s tem veliko stopnjo oksidacije, posledično pa hitro izgubo sadnih arom (Lopes in sod., 2007). To je še posebej problematično ob daljšem času uporabe sintetičnega zamaška, kar je najverjetneje posledica slabe elastičnosti materiala in njegove slabe prilagodljivosti skladiščnim pogojem, tudi spremembam temperature.

Največja težava sintetičnih zamaškov se torej vrti ravno okoli prenosa kisika skozi zamašek v steklenico. Zato se takšne zamaške uporablja največkrat za vina, ki se bodo porabila/popila v obdobju od 12 do 18 mesecih. Druga, bolj praktična težava pa je, da se jih težje odstrani iz steklenic (Gardner, 2008).

Vendar pa imajo tudi svojo prednost, saj so na videz zelo podobni tradicionalnim plutovinastim zamaškom in v vinu ne pustijo okusa po plesni (ni problema napake TKA), kot se to lahko dogaja ob uporabi plutovinastih zamaškov (Gardner, 2008).

2.2.4 DRUGI ZAMAŠKI

Novost na trgu vina so še stekleni zamaški, ki so jih v Evropi začeli uvajati po letu 2000. Uporablja se jih predvsem za mlada vina, kjer želimo v večji meri ohraniti svežino oziroma primarno aromatiko (Sternad Lemut in Trošt, 2010). Žal ni veliko raziskav oziroma oprijemljivih podatkov o tem, kako vino dejansko zori pod takšnimi zamaški v primeru daljšega staranja v steklenici.

2.3 Dejavniki, ki vplivajo na zorenje vina v steklenici

Zamaški oziroma uporabljena vinska embalaža so najbolj očitna spremenljivka, ki vpliva na razvoj vina v steklenici, vendar pa ni edina. Nekateri drugi dejavniki so: sama

sestava vina - odvisna od uporabljene surovine, ter uporabljeni postopki predelave in pogoji skladiščenja vina (Lopes in sod. 2007; Hart in Kleining, 2005).

Dejavnike, ki vplivajo na staranje vina v steklenicah lahko delimo na dejavnike iz okolja (kot so npr. temperatura, vlaga in svetloba prostora) in ostale dejavnike (pH vrednost vina, vsebnost SO₂ in prisotnost kisika), ki imajo velik vpliv na razvoj stekleničenega vina (Gao in sod., 2008).

Glavni cilj vinarjev je, da izbrani pogoji vplivajo pozitivno in ne negativno na kakovost njihovega vina (Skouroumounis in sod., 2005).

2.3.1 DEJAVNIKI IZ OKOLJA

2.3.1.1 Temperatura

Temperatura prostora ima velik vpliv na obnašanje vina med skladiščenjem (Sims in Morris, 1984). Temperatura vpliva na hitrost in na vrsto kemijskih reakcij, ki potekajo v vinu, saj lahko pospeši oz. aktivira reakcije, ki so pozitivne za vino, lahko pa tudi reakcije, ki nanj vplivajo negativno (Jackson, 2008).

Pri vinih, skladiščenih pri temperaturah okoli 30°C, lahko pride do hidrolize aromatičnih estrov (razpad izoamil acetata in heksil acetata) in izgube terpenov, kar pomeni, da vino izgublja sadni in sortni značaj (Bavčar, 2006; Jackson, 2008) ter do sprostitve norizoprenoidov, ki so vezani v glukozidih.

Stalne temperature okoli 20°C načeloma niso škodljive za razvoj senzoričnih lastnosti vina tekom njegovega staranja, kar velja zlasti za rdeča vina. Vendar skladiščenje pri temperaturi okoli 10°C bolje zadrži svežino in sadnost v belih vinih, saj se pri tej temperaturi zmanjša možnost porjavitve (Jackson, 2008). Previsoke temperature med skladiščenjem zmanjšajo kakovost barve in povzročijo porjavitev (pojav rjavih odtenkov) v vinu (Sims in Morris, 1984).

2.3.1.2 Svetloba

Izpostavljanje steklenic sončni svetlobi (vitrina) povzroči, da se poviša temperatura v steklenici, pri čemer se poveča volumen vina, ki nato pritiska na zamašek, posledica tega pa je slabše tesnenje zamaškov (Jackson, 2008). Svetloba poleg tega aktivira vrsto

negativnih reakcij vključno s tvorbo negativnih žveplovih spojin (merkaptani) ter tudi nastanek napak, kot je npr. t.i. priokus po svetlobi. Zato je priporočljivo, da se vino hrani v temnem prostoru in temnih steklenicah, ki manj prepuščajo UV žarke (Jackson, 2008).

Porjavitveni indeks, ki so ga Selli in sod. (2002) določili glede na to, koliko procentov UV žarkov prehaja skozi steklenico pri valovnih dolžinah 350–550nm, je pokazal, da so imele opazovane steklenice rjave barve najnižji porjavitveni indeks (saj ne prepuščajo žarkov valovne dolžine 450nm, do 500nm pa samo 20%). Sledile so zelene steklenice in nato steklenice bele (prozorne) barve, ki so prepuščale 95% UV žarkov.

2.3.2 OSTALI DEJAVNIKI

2.3.2.1 Vpliv pH

Vina z višjim pH izkazujejo večjo izgubo antocianov, zato sta izguba v intenziteti barve in porjavitev vina večja (Sims in Morris, 1984). Vrednost pH vpliva tudi na stopnjo reakcij in na kemične lastnosti, ki se pojavljajo v vinu med staranjem. Ima namreč vpliv na barvo in na samo stabilnost vina oziroma na dovzetnost fenolov za oksidacijo ter vpliva na ravnovesje med estri in njihovimi alkoholi in kislinami (Jackson, 2008). Po fermentaciji se intenziteta barve zmanjša. Vina iz rdečih sort vinske trte hitreje porjavijo pri višjem pH (Bavčar, 2006).

2.3.2.2 Vpliv SO₂

Žveplo v vinu ima veliko vlog: deluje kot antioksidant, ki prepreči in zavira porjavitev fenolnih komponent, ker se veže na snovi, ki bi se sicer oksidirale; ima antimikrobno delovanje, saj prepreči rast in razvoj določenih bakterij in kvasovk; pospešuje maceracijo, izluževanje barve iz jagodnih kožic v mošt in kasneje v vino; veže se na sestavine, ki bi povzročile neprijeten vonj in okus (acetaldehid) in upočasnjuje mikrobne procese in s tem pospeši bistrenje vina (Plahuta, 2005).

2.3.2.3 Vpliv kisika

Oksidacija vina je izraz, ki zajema veliko različnih reakcij med samim postopkom pridelave in med staranjem vina. Opisuje različne reakcije med kisikom in drugimi

komponentami vina kot so: fenoli, aldehidi, sladkorji, žveplove spojine (Margalit, 2004). Že med samo vinifikacijo (pecljanje, drozganje, črpanje, filtracija, stekleničenje) prihaja kisik v stik z moštom in kasneje tudi z vinom (Margalit, 2004).

Spojine, ki so pretežno vključene v oksidacijo vina so kisik, fenolne spojine (sicer poznane kot zaščitniki pigmentov pred porjavitvijo) ter kovinski ioni (kot so Fe³⁺ in Cu²⁺ in Mn²⁺), ki katalizirajo procese oksidacije. Dva dejavnika, ki bi lahko bila odgovorna za stopnjo raztopljenega kisika v buteljčnih vinih in sta lahko teoretično pod nadzorom proizvajalca, sta stopnja razpoložljivega kisika v prostoru, ki nastane med zamaškom in vinom (Skouroumounis in sod. 2005) ter stopnja prehodnosti za kisik skozi zamašek in/ali med steklenico in zamaškom (Godden in sod., 2001).

2.3.3 FENOLNE SNOVI V VINU

Fenoli so ciklične benzenove spojine, ki imajo eno ali več hidroksilnih skupin povezanih na strukturo obroča. Grozdni fenoli so sekundarni metaboliti vinske trte, to je spojine, ki niso neposredno vključene v osnovne biokemične procese (Croizer in sod., 2006), vendar so izrednega pomena za rastlino, saj predstavljajo njeno obrambo pred stresi iz okolja (Wink, 2003). Fenolne spojine grozdja prispevajo k organoleptičnim lastnostim vina (Ribereau-Gayon in sod., 2006). Odgovorne so za barvo vina, astringenco, grenkobo in s tem za okus vina ter igrajo pomembno vlogo pri staranju vina (Margalit, 2004). Fenoli v vinu lahko delujejo kot antioksidanti in konzervansi, znana pa je tudi njihova antimikrobna aktivnost (Bavčar, 2006). Razdelimo jih v dve skupini: na flavonoide in neflavonoide (Jackson, 2008).

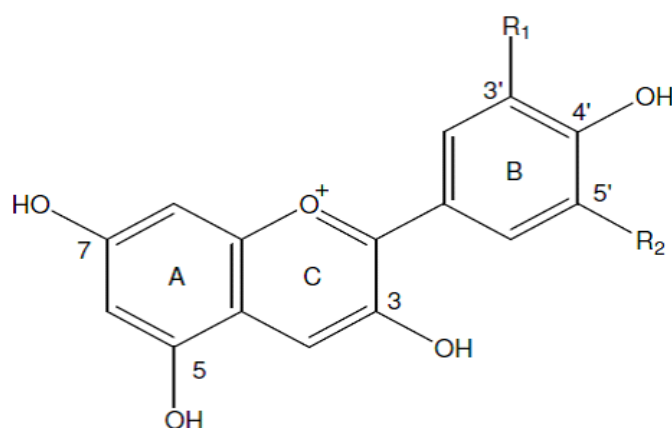
2.3.3.1 Flavanoidi

Za flavonoide je značilna oblika skeleta C₆-C₃-C₆, sestavljena iz dveh fenolnih obročev A in B, povezanih z verigo, v katerega je vključen kisikov atom (Jackson, 2008). Tipične spojine rdečih vin so flavanoidi, ki predstavljajo 85% vseh prisotnih fenolov, medtem ko jih v belih vinih najdemo le 20% (Bavčar, 2006). Flavanoidi so v grozdju lahko v prosti obliki (aglikoni) ali pa so vezani na druge flavonoide, sladkorje, neflavonoide oziroma kombinacijo teh. Fenole, ki so vezani na neflavonoide ali sladkorje imenujemo tudi glikozidi (Jackson, 2008).

Najpogostejši flavonidi v vinu so: antociani, flavan-3-oli oz. flavanoli (katehin, epikatehin, kondenzirani tanini) in flavonoli (kvartecin, miricetin, kamferol) (Bavčar, 2006).

2.3.3.1.1 Antociani

Samo rdeče sorte vinske trte (*V. vinifera*) vsebujejo rdeča barvila - antociane. Ti so poleg taninov glavni fenoli rdečih vin, saj so odgovorni za njihovo barvo (Vrhovšek, 2002).



Slika 1: Osnovna struktura antocianov (Margalit, 2004).

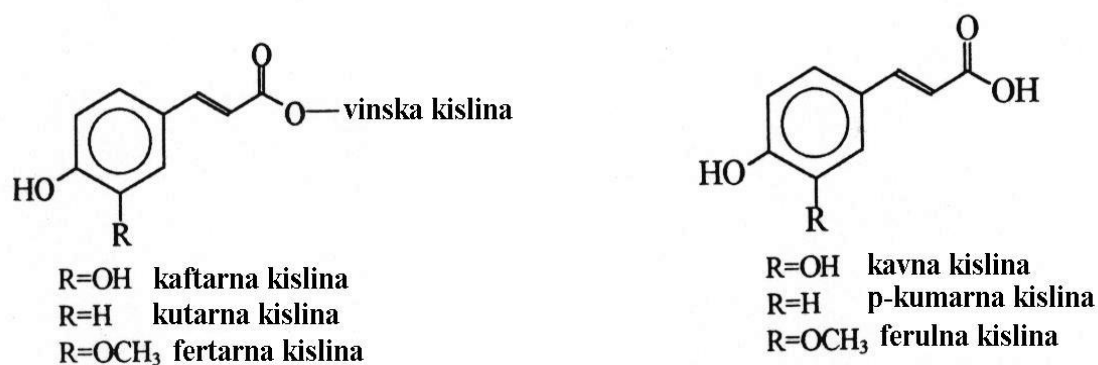
Sorta 'Modri Pinot' je znana po tem, da vsebuje zelo majhne količine antocianov (Vrhovšek, 2002), ki se nahajajo v grozdni kožici. Hkrati je edina rdeča sorta (*V. vinifera*), ki ne vsebuje aciliranih oblik antocianov (Tarara in sod., 2008). Za razliko od drugih rdečih sort vsebuje samo pet različnih antocianov (v glikolizirani obliki): cianidin 3-glukozid, petunidin 3-glukozid, peonidin 3-glukozid, delfinidin 3-glukozid in malvidin 3-glukozid. Slednji je praviloma najbolj zastopan (50-90%) in zato primarno odgovoren za barvo rdečega vina (Ribereau-Gayon, 2006). Antociani se lahko vežejo med sabo ali z drugimi spojinami kot so polifenili, alkaloidi, aminokisliline in organske kisline (kopigmentacija antocianov). Posledica procesa kopigmentacije je povečana stabilnost barve. Ta se krepi s povečanjem koncentracije antocianov in večanjem razmerja koncentracije med kopigmenti in antociani, kar pa je odvisno od temperature in pH vrednosti vina (Košmerl, 2011).

2.3.3.2 Neflavonoidi

Neflavonoidi so večinski predstavniki fenolnih snovi v belih vinih. Najbolj pogosti v grozdju in vinu so: hidroksicimetne kisline, hidroksibenzojske kisline in stilbeni (Vrhovšek, 2000).

2.3.3.2.1 Hidroksicimetne kisline

So najpomembnejši fenoli v belih vinih (Košmerl, 2011). Nahajajo se v celičnih vakuolah grozdne jagode in mesu (Ribereau-Gayon, 2006). Najbolj zastopani so derivati hidroksicimetnih kislin, ki so vezani na sladkorje, alkohole ali na kisline.



Slika 2: Strukturna formula hidroksicimetnih kislin (Vrhovšek, 2000)

Glavne hidroksicimetne kisline v vinu sort *Vitis vinifera*, praviloma zaestrene z vinsko kislino so: kaftarna, ki je tudi najbolj zastopana (75%) kot ester vinske in kavne kisline, ter kutarna in fertalna kislina (Robins, 2003). Prostih oblik hidroksicimetnih kislin kot so ferulna, p-kumarna in kavna kislina praviloma ni v grozdju, vendar se lahko tvorijo med vinifikacijo (Robins, 2003). Hidroksicimetne kisline se hitro oksidirajo, kar povzroči porjavitev vina in s tem povezano pogosto težavo belih vin (Bavčar, 2006).

3 EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 Materiali

3.1.1 VINA

V poskus smo vključili vino sorte 'Zelen' (Univerziteni Zelen 2009, Vipavska dolina) in vino sorte 'Modri Pinot' (Modri Pinot Tilia 2007, Vipavska dolina).

Stekleničenje: Vino Zelen smo stekleničili pod izenačenimi pogoji v raziskovalni kleti Centra za raziskave vina v Vrhopolju s pomočjo polnilne linije proizvajalca Gao (Italija), Modri Pinot pa ob izenačenih pogojih v vinski kleti Tilia ob uporabi polnilca za šest steklenic (Enoop, Slovenija).

Ob stekleničenju sta imeli obravnavani vini kemijske karakteristike, kot so razvidne iz tabel 2 in 3.

Tabela 2: Rezultati analize hitrega testa za vino Modri Pinot (opravljena analiza na KGZ Nova Gorica - agroživilski laboratorij, dne 30.4.2009).

<i>Parameter</i>	<i>Enota</i>	<i>V vzorcu</i>	<i>Metoda</i>
Prosto žveplo	mg/L(ppm)	33	Ur RS 43/2001
Specifična teža	-	0,9941	WSC
Alkohol WSC	%	14,2	WSC
Skupni ekstrakt WSC	-	30	WSC
Reducirajoči sladkorji <10 g/l	g/l	2,7	WSC
Skupne kisline WSC	g/l	5,6	WSC
Hlapne kisline WSC	g/l	0,87	WSC
pH WSC	-	3,52	WSC
Jabolčna kislina WSC	g/l	0,10	WSC
Citronska kislina WSC	g/l	0,20	WSC
Mlečna kislina WSC	g/l	1,50	WSC
Vinska kislina WSC	g/l	2,30	WSC

Tabela 3: Rezultati analize hitrega testa za vino Zelen (opravljena analiza na KGZ Nova Gorica - agroživilski laboratorij, dne 30.4.2009).

<i>Parameter</i>	<i>Enota</i>	<i>V vzorcu</i>	<i>Metoda</i>
Prosto žveplo	mg/L (ppm)	66	UR RS 43/2001
Specifična teža	-	0,9914	WSC
Alkohol WSC	%	12,4	WSC
Skupni ekstrakt WSC	-	18	WSC
Reducirajoči sladkorji < 10 g/l	g/l	0,7	WSC
Skupne kisline WSC	g/l	5,3	WSC
Hlapne kisline WSC	g/l	0,26	WSC
pH WSC	-	3,42	WSC
Jabolčna kislina WSC	g/l	2,10	WSC
Citronska kislina WSC	g/l	0,40	WSC
Mlečna kislina WSC	g/l	0,50	WSC
Vinska kislina WSC	g/l	1,70	WSC

3.1.2 VINSKA EMBALAŽA

3.1.2.1 Steklenice

Modri Pinot: Uporabili smo steklenice enakih oblik in gramatur (burgunska oblika kot tipična oz. najpogosteje uporabljena oblika za Modri Pinot) ter enake barve (zelena-uvag) in sicer z dvema različnima volumnoma (ob enakem premeru grla):

0,75L volumen (buteljčna steklenica)

1,5L volumen (magnum steklenica)

Zelen: Uporabili smo steklenice enakih oblik in gramatur (bordojska oblika kot najpogosteje uporabljena oblika za Zelen) ter enake barve (zelena-schen) in sicer z volumnom 0,75L (buteljčna steklenica).

3.1.2.2 Zamaški

V poskusu smo uporabili tri vrste zamaškov istega ponudnika in podobnega cenovnega razreda glede na vrsto zamaškov: zamaške iz polne plute, sintetične silikonske zamaške in navojne kovinske zamaške.

Izbrani plutovinasti in sintetični zamaški so imeli enako dolžino (44mm) in enak premer (24mm) medtem, ko so bili navojni zamaški izbrani glede na uporabljen način zapiranja (za izbran stroj za zapiranje).

3.1.2.2.1 Zapiranje steklenic

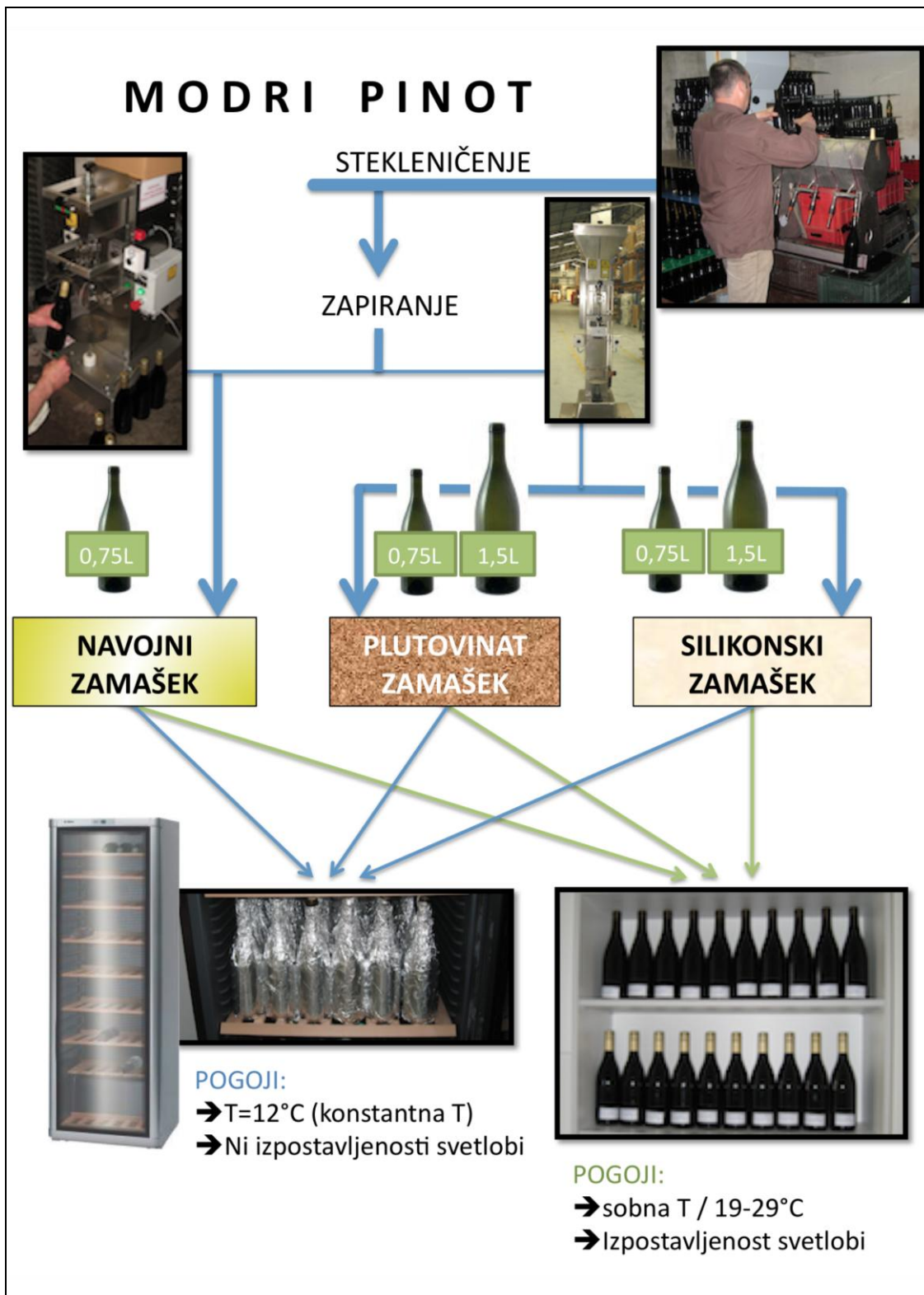
Pri zapiranju steklenic smo upoštevali navodila proizvajalcev steklenic glede nivoja polnitve, kot je to standardno označeno na dnu steklenic (npr. za točen, predpisan volumen 750mL v burgundski steklenici je pri 20°C predpisano polnjenje z 5,5cm nivojem, merjeno od zgornjega roba steklenice navzdol).

Steklenice smo zapirali takoj po polnjenju, v istem prostoru in pri isti temperaturi. V primeru vina Zelen se je pri vseh vzorčnih vinih zapiranje s plutovinastimi in sintetičnimi zamaški (dve tretjini steklenic) izvedlo v okviru polnilne linije Gao M100 (Italija), vzporedno pa smo z zapiralcem za navojne pokrovčke (Core, Avt 400, Italija) zaprli preostalo tretjino poskusnih steklenic. V primeru vina Modri Pinot se je pri vseh vzorčnih vinih zapiranje s plutovinastimi in sintetičnimi zamaški (dve tretjini steklenic) izvedlo s pomočjo pol-avtomatskega zapiralca proizvajalca Enolta mapan (Italija), vzporedno pa smo z zapiralcem za navojne zamaške (Core, Avt 400, Italija) zapirali preostalo tretjino poskusnih steklenic.

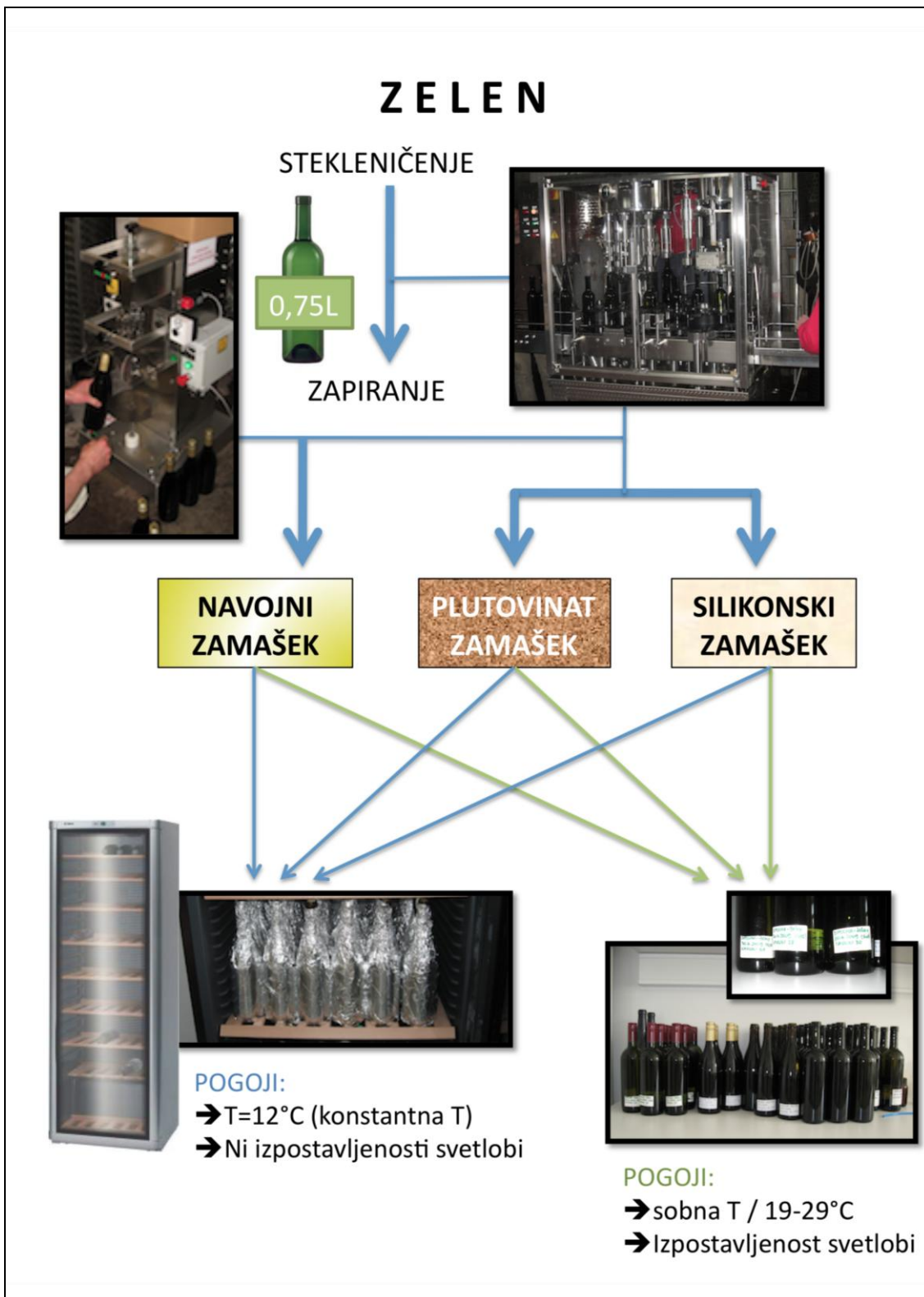
Polnjenje in zapiranje 0,75L in 1,5L steklenic je potekalo na enak način.



Slika 3: Prikaz uporabljenih steklenic: buteljčna (spodaj) in magnum (zgoraj) ter uporabljenih vrst zamaškov: plutovinasti (levo spodaj), kovinski navojni (v sredini spodaj) in silikonski (desno spodaj). (Foto: Melita Sternad Lemut, 2011)



Slika 4: Shema poteka eksperimentalnega dela poskusa za vino Modri pinot.



Slika 5: Shema poteka eksperimentalnega dela poskusa za vino Zelen.

3.2 Metode

3.2.1 PRIPRAVA VZORCEV

3.2.1.1 Skladiščenje vina

Po stekleničenju smo vzorce vina prenesli v prostore Univerze v Ajdovščino in jih shranili na dva načina. Polovico steklenic vina Modri Pinot in Zelen z vsemi vrstami uporabljenih zamaškov smo zavili v alu folijo in jih shranili v hladilnik, kjer so imela vina stalne in enake pogoje (priporočena temperatura in tema). Drugo polovico vzorcev vina pa smo shranili na odprte police, kjer so bili vzorci stekleničenega vina izpostavljeni (nihajoči) sobni temperaturi in svetlobi, podobno kot so vina tretirana tudi na komercialni trgovinski polici. Vse steklenice so bile hranjene v pokončnem stanju.

3.2.1.2 Priprava vzorcev za analize

Po treh letih smo za vsak vzorec vina pred odpiranjem pripravili primerne vzorčnike: 2 x po 50-mL centrifugirke (eno smo shranili v hladilniku, drugo na -20°C), 1 x po 15-mL centrifugirko (za hranjenje vzorca na -20°C), 2 x po 2-mL epice (ependorf centrifugirke) (za hranjenje na -80°C) in 1 x temne steklene kozarčke s pokrovom (z MeOH za pripravo metanolnega ekstrakta v razmerju MeOH:vino;30:70).

Pripravljene vzorčnike smo pravilno označili in jih napolnili z obravnavanimi vzorci vin takoj po odprtju vsake posamezne steklenice.

Del analiz smo izvedli takoj, v svežih vzorcih, za preostale analize pa smo vzorce takoj spravili tako, da smo čimbolje ohranili opazovane komponente vina (zamrzovanje ali priprava metanolnega ekstrakta). Analize smo opravljali v treh ponovitvah za vsak vzorec vina.



Slika 6: Priprava vzorčnikov za vzorce vina pred odpiranjem steklenic (Foto: Karin Kurinčič, 2011)

3.2.2 ANALIZA KEMIJSKIH PARAMETROV

3.2.2.1 Merjenje prostega SO₂ po modificirani metodi po Ripperju

Za določanje prostega SO₂ smo uporabili metodo po Ripperju, ki temelji na oksidacijsko redukcijski reakciji z raztopino joda (I₂) (Košmerl in Kač, 2007). Vzorce vina smo nakisali s kislino H₂SO₄ in izvedli meritev s pomočjo avtomatskega titratorja z dvojno platinasto elektrodo (Titrino 848 plus, Metrohm; Švica).

3.2.2.1.1 Uporabljeni materiali in oprema

Vzorci vina Zelen in Modri Pinot, avtomatski titrator z dvojno platinasto elektrodo (Titrino 848 plus, Metrohm; Švica), raztopina H₂SO₄ v vodi (1:3;V:V), (Hanna, Romunija), raztopina Jodit/jodat c(I₂)=1/128 mol/L (Sigma-Aldrich, Nemčija), stabilizator KI (Hanna, Romunija), magnetno mešalo, čaše, pipete.

3.2.2.1.2 Postopek

V čaše smo odmerili 50mL vzorca vina (Zelen ali Modri Pinot), nato smo dodali 5mL raztopine H₂SO₄ ter stabilizator KI. V nadaljevanju smo v čaše dodali magnetno mešalo ter ob mešanju titriral vsebino čaše z raztopino Jodit/jodat do ekvivalentne točke.



Slika 7: Določanje prostega SO_2 v vzorcih vina z avtomatskim titratorjem (Foto: Karin Kurinčič, 2011)

3.2.2.2 Določanje skupnih fenolov

Vsebnost skupnih fenolov smo določili na podlagi redukcijske reakcije fosfovolframove in fosfomolibdenove kisline (Folin-Ciocalteu reagent) in oksidacije fenolov v modre pigmente v alkalni raztopini (Di Stefano in Guidoni, 1989; Košmerl in Kač, 2007) z manjšo prilagoditvijo metode po Waterhouse (2002) v primeru meritev vzorcev vina Zelen, kjer je bil uporabljen protokol prilagojen manjšim količinam vzorca. Rezultate smo izračunali na podlagi pripravljene umeritvene krivulje in jih izrazili kot mg/L vina.

3.2.2.2.1 Uporabljeni materiali in oprema

Galna kislina (Sigma, Nemčija), etanol (Carlo Erba, Italija), deionizirana voda, tehtnica (Kern, ABS 120-4, Nemčija), vzorci vina, FC reagent (Folin-Ciocalteujev reagent), (Merck, Nemčija), Na_2CO_3 (Sigma-Aldrich, Nemčija), centimeterske in milimeterske kivete, pipete, bučke, Spektrofotometer Lambda 35 (PerkinElmer, Velika Britanija).

3.2.2.2.2 Postopki

Priprava galne raztopine: V 100mL bučko smo zatehtali 0,5g galne kisline, dodali 10ml etanola, dobro premešali, nato pa čaše dopolnili z deionizirano vodo do oznake. Za umeritvene krivulje smo pripravili raztopine v koncentracijah 0, 50, 100, 250, 500, 1000 in 2500mg/L galne kisline. Kot slepo probo smo uporabili deionizirano vodo.

Analiza skupnih fenolov v vinu Zelen: Tu smo za delo uporabili milimetrske kivete. Vanje smo odmerili 20 μ L vzorca vina in dodali 1,58mL deionizirane vode ter 100 μ L FC reagenta. To smo dobro premešali in dodali najkasneje v 8 minutah še 300 μ L NaCO₃, ponovno premešali in pustili na sobni temperaturi 2 uri. Po tem času smo izmerili absorbanco pri 765nm valovne dolžine s spektrofotometrom Lambda 35 (PerkinElmer, Velika Britanija).

Analiza skupnih fenolov v vinu Modri Pinot: Tu smo pri delu uporabili centimetrske kivete. Iz vsakega vzorca vina smo odvzeli 10 μ L vina in ga prenesli v pripravljene kivete. Nato smo dodali 3,19mL deionizirane vode in 200 μ L FC reagenta. To smo dobro premešali. Najkasneje v 8 minutah smo dodali še 600 μ L Na₂CO₃, ponovno premešali ter pustili 2 uri na sobni temperaturi. Po tem času smo izmerili absorbanco pri 765nm valovne dolžine s spektrofotometrom Lambda 35 (PerkinElmer, Velika Britanija).



Slika 8: Postopek priprave vzorcev in analiza določanja skupnih fenolov s spektrofotometrično metodo (Foto: Karin Kurinčič, 2011)

3.2.2.3 Določanje skupnih antocianov

Skupne antociane smo določili s pomočjo pH diferencialne metode. Absorbanco smo merili pri valovni dolžini 520nm (Giusti in Wrolstad, 2001).

3.2.2.3.1 Uporabljeni materiali in oprema

Vzorci vina, centimetrskve kivete, Pufer s pH vrednostjo 1 (0,025 M KCl pufer) (Sigma-Aldrich, Nemčija), Pufer s pH vrednostjo 4.5 (NaCH₃COO pufer) (Merck, Nemčija), malvadin 3-glukozid (Extrasynthese, Francija), pipete, Spektrofotometer Lambda 35 (PerkinElmer, Velika Britanija).

3.2.2.3.2 Postopki

Priprava pufra (pH 1): V čaši smo zamešali 1,86g KCl (0,025M) in 980mL deionizirane vode. To smo prenesli v bučko z volumnom 1L. Nato smo preverili pH vrednost raztopine in jo uravnavali na 1.0 s pomočjo koncentrirane HCl. Na koncu smo bučko dopolnili do oznake z deionizirano vodo.

Priprava pufra (pH 4.5): V čašo smo zatehtali 54,43g CH₃CO₂NaX3H₂O (0,45 M) in 980mL deionizirane vode. Raztopino smo premešali in prenesli v bučko z volumnom 1L. Nato smo preverili pH vrednost in jo uravnavali na pH 4,5 s pomočjo koncentrirane HCl ter dopolnili bučko do oznake z deionizirano vodo.

Potek dela: Za vsak vzorec vina smo pripravili po dve centimetrski kiveti: kiveto A (v A kivete smo odpipetirali pufer s pH vrednostjo 1) in kiveto B (kamor smo odpipetirali pufer s pH vrednostjo 4,5). V obe kiveti smo najprej odpipetirali po 0,2mL vzorca vina. V nadaljevanju smo v kiveto A dodali 1,8mL pufra s pH vrednostjo 1, v kiveto B pa 1,8mL pufra s pH vrednostjo 4,5. To smo dobro premešali in pustili reagirati 15 minut, po pretečenem času pa smo s pomočjo spektrofotometra PerkinElmer Lambda 35 izmerili absorbanco pri 520 in 700nm valovne dolžine. Rezultate smo izračunali na podlagi pripravljene umeritvene krivulje (s standardom malvadin 3-glukozidom) in jih izrazili kot mg/L vina.

3.2.2.4 Določanje parametrov barve

Absorbanco pri značilnih valovnih dolžinah in parametre barvnega prostora CIE L* a* in b* smo določili z metodo spremljanja absorbance čez celoten vidni del spektra.

3.2.2.4.1 Uporabljeni materiali in oprema

Vzorci vina, centimeterske kivete, pipete, deionizirana voda, Spektrofotometer Lambda 35 (PerkinElmer, Velika Britanija).

3.2.2.4.2 Postopek

15mL vzorca vina smo prefiltrirali skozi filter (Cromafil xtra PTFE 0,45 µm, Nemčija) v označene epruvete.

V vzorcih smo merili oziroma izračunali (Ribereau-Gayon in sod., 2006):

Intenziteto barve rdečih vin (I)= $ABS_{420}+ABS_{520}+ABS_{620}$

Intenziteta barve belih vin (I)= ABS_{420}

Ton barve= ABS_{420}/ABS_{520}

Parametre CIE lab prostora:

Parameter L: označuje barvo od rdeče do črne, ki je definirana z 0 in bele barve, ki je definirana z 100.

Parameter a*: označi spreminjanje barve oziroma odtenka barve zelene, če je (a<0) negativen in rdeče oziroma vijolične barve, če je (a>0) pozitiven.

Parameter b*: označuje spreminjanje barve od rumene do modre, če je (b>0) pozitiven bo prevladala rumena barva in če je (b<0) negativen bo barva bolj modrikasta (Ribereau-Gayon in sod., 2006).

3.2.2.5 Določanje deleža polimerne barve

Antociansko-taninski kompleksi (polimerna barva) so odporni na bisulfit. Reakcija monomernih antocianov z bisulfitom poteče hitro, pri tem pa antociani izgubijo značilno rdečo barvo. Vzorec, tretiran z bisulfitom ima značilen maksimum absorbance pri 420nm in nam lahko služi za izračun deleža polimerne barve (Giusti in Wrolstad, 2001).

3.2.2.5.1 Uporabljeni materiali in oprema

Vzorci vina, deionizirana voda, centimetrskve kivete, pipete, bisulfit ($K_2S_2O_5$) (Sigma-Aldrich, Nemčija), spektrofotometer Lambda 35 (PerkinElmner, Velika Britanija).

3.2.2.5.2 Postopek

Priprava bisulfita: V bučko smo zatehtali 4g $K_2S_2O_5$ in dodali 20mL deionizirane vode.

Potek dela: Uporabili smo centimetrskve kivete, ki smo jih prej izmenično označili z A in B. Najprej smo v vse označene kivete odpipetirali po 280 μ L vzorca vina in dodali 2,520 μ L deionizirane vode. Nato smo v kivete z oznako A dodali 0,2mL bisulfita, v kivete z oznako B pa 0,2mL deionizirane vode. Vsebinsko tako pripravljenih kivet smo pustili reagirati od 15 do 60 minut. Po tem času smo s Spektrofotometrom Lambda 35 (PerkinElmer, Velika Britanija) izmerili absorbanco pri valovni dožini 420, 520 in 700nm. Polimerno barvo smo izračunali po formuli za polimerno barvo = $[(A_{420nm} - A_{700nm}) + (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})] \times DF$. (DF=faktor redčitve) (Giusti in Wrolstad, 2001).

3.2.2.6 Kromatografsko določanje posameznih antocianov in hidroksicimetnih kislin

Posamezne antociane in hidroksicimetne kisline smo določili s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) v skladu s predhodnimi objavami (Sternad Lemut in sod., 2011) in z manjšimi prilagoditvami glede na specifiko analiziranih vzorcev.

3.2.2.6.1 Uporabljeni materiali in oprema

Vzorci vina, deionizirana voda, metanol (Sigma-Aldrich, Nemčija), TFA (trifluoroocetna kislina) (Fluka, Nemčija), pipete, malvidin 3-glukozid (Extrasynthese, Francija), kaftarna kislina (Sigma, Nemčija), kafeinska kislina (Sigma, Nemčija), p-kumarna kislina (Sigma, Nemčija), HPLC UV-VIS (Waters, ZDA) 2 črpalki (Waters, ZDA) avtomatski podajalnik vzorcev 717+, dual UV-Vis 2487 detektor, programska oprema: Empower Millennium, kolona Phenomenex Luna PFP, C18, 4.6 x 250mm, 5mm (Phenomenex, ZDA).

3.2.2.6.2 Postopek

Vzorci vina smo redčili z 10% (V:V) TFA v razmerju 90:10 (V:V) ter filtrirali z 45 mm filtri Cromafil xtra 0,45 μ m. Vse meritve smo izvedli pri sobni temperaturi, ob injiciranju 40 μ L delovnega vzorca. Kromatografsko analizo smo izvajali pri valovni dolžini 520nm za posamezne antociane in pri 320nm za posamezne hidroksicimetne kisline. Pri ločevanju smo uporabili gradient mobilnih faz: mobilna faza A je bila sestavljena iz metanola (Sigma, Nemčija), za mobilno fazo B pa smo uporabili deionizirano vodo. Obe mobilni fazi sta vsebovali 0,2% TFA. Mobilna faza B se je v 20 minutah spremenila iz 20% na 45%, v naslednjih 10 minutah iz 45% na 55% ter v zadnjih 10 minutah na 79%. Pretok je bil 1mL/min.

Identifikacijo posameznih antocianov je potekala v skladu s predhodnimi objavami (Sternad Lemut in sod., 2011). Za kvantitativno določitev koncentracije posameznega antociana smo uporabili eksterno umeritveno krivuljo malvadin 3-glukozida ($k=49920$, $R^2=88,84\%$, $DL=2,9\text{mg/Kg}$, $QL=8,9\text{ mg/kg}$).

Hidroksicimetne kisline smo identificirali glede na standardne dodatke posameznih spojin in v skladu s predhodnimi objavami (Mozetič Vodopivec in sod., 2006). Koncentracijo *cis* in *trans*-kutarne kisline smo izrazili kot ekvivalent kafeinske kisline. Kvantifikacija pa je bila izvedena glede na umeritvene krivulje dostopnih standardov: *trans*-kaftarne kisline ($k=97262$, $R^2=99,99\%$, $DL=0,9\text{ mg/kg}$, $QL=2,8\text{ mg/kg}$), kafeinske kisline, ($k=124206$, $R^2=99,99\%$, $DL=0,7\text{ mg/kg}$, $QL=2,2\text{ mg/kg}$) in p-kumarne kisline ($k=149471$, $R^2=99,99\%$, $DL=0,4\text{ mg/kg}$, $QL=1,3\text{ mg/kg}$).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

V tabeli 4 so predstavljene oznake posameznih obravnavanj, kot smo jih uporabili pri prikazu rezultatov za obe vini: Modri Pinot in Zelen.

Tabela 4: Legenda uporabljenih oznak za obravnave v poskusu.

pluta /b/ +	= plutovinast zamašek / buteljčna steklenica / priporočeni pogoji (hladilnik, tema)
silikon /b/ +	= silikonski zamašek / buteljčna steklenica / priporočeni pogoji (hladilnik, tema)
navoj /b/ +	= navojni zamašek / buteljčna steklenica / priporočeni pogoji (hladilnik, tema)
pluta /b/ -	= plutovinast zamašek / buteljčna steklenica / neugodni pogoji (odprta polica)
silikon /b/ -	= silikonski zamašek / buteljčna steklenica / neugodni pogoji (odprta polica)
navoj /b/ -	= navojni zamašek / buteljčna steklenica / neugodni pogoji (odprta polica)
pluta /M/ +	= plutovinast zamašek / magnum steklenica / priporočeni pogoji (hladilnik, tema)
silikon /M/ +	= silikonski zamašek / magnum steklenica / priporočeni pogoji (hladilnik, tema)
pluta /M/ -	= plutovinasti zamašek / magnum steklenica / neugodni pogoji (odprta polica)
silikon /M/ -	= silikonski zamašek / magnum steklenica / neugodni pogoji (odprta polica)

b = buteljčna steklenica

M = magnum steklenica

+ = skladiščenje vina v priporočenih pogojih (T=12°C, tema)

- = skladiščenje vina v neugodnih pogojih (sobna T, izpostavljenost svetlobi)

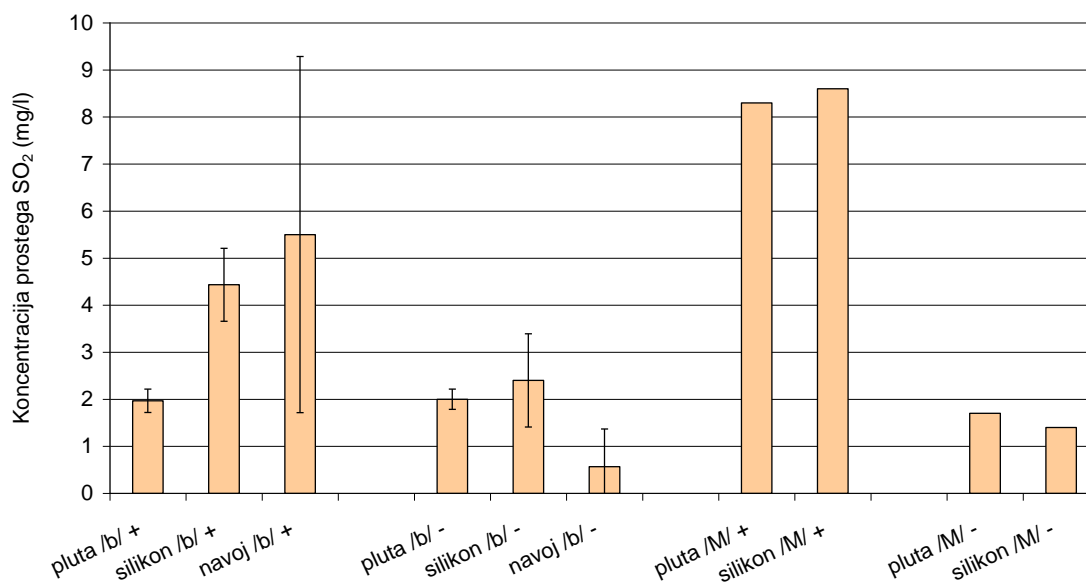
Pri belem vinu Zelen smo določili: prosti SO₂, skupne fenole, parametre barve in vsebnost hidroksicimetnih kislin.

Pri rdečem vinu Modri Pinot smo poleg parametrov, določenih v vinih Zelen, določevali še druge parametre, vezane predvsem na barvo rdečega vina: skupni antociani, skupni in posamezni monomerni antociani, polimerna barva in ton barve.

4.1 Vsebnost prostega SO₂

Ker SO₂ v vinu med drugim deluje kot antioksidant, ki prepreči in zavira porjavitev fenolnih komponent s tem, da nase veže snovi, ki bi se sicer oksidirale (Plahuta, 2005), je preostanek prostega (zaščitnega) SO₂ v vinu lahko posredno tudi pokazatelj stopnje oksidacijskih procesov v vinu.

4.1.1 VSEBNOST PROSTEGA SO₂ V VINU MODRI PINOT

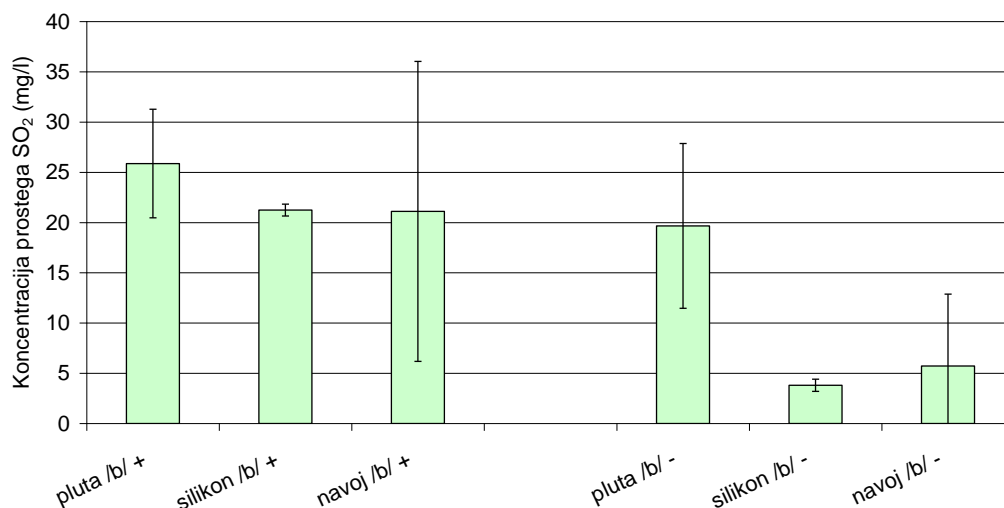


Slika 9: Povprečna koncentracija prostega SO₂ (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev* znotraj posameznih paralelek enako obravnavanih vzorcev. *Vzorci napolnjeni v magnum steklenice so bili analizirani v eni paralelki, zato standardni odkloni tu niso prikazani.

Kot je razvidno iz slike 9, je v primeru buteljčnih steklenic vina Modri Pinot, ki so bile hranjene v priporočenih pogojih, v povprečju največ prostega žvepla zadržala steklenica, zaprta z navojnim zamaškom - vendar so bili tu tudi standardni odkloni največji - najverjetneje na račun neenakomernega tesnenja posameznih zamaškov, kar je problem, nad katerim se pogosto pritožujejo tudi v praksi. Sledila je steklenica zaprta s silikonskim zamaškom, najmanj zaščitnega žvepla pa je v priporočenih pogojih ohranila pluta. V primeru buteljčnih steklenic, ki so bile spravljene na odprti polici, so najmanj prostega žvepla zadržale steklenice z navojnim zamaškom, nekoliko več pa pluta in

silikon (slednji z večjimi standardnimi odkloni). Prosti (zaščitni) SO₂ se je sicer najboljše ohranil v primeru magnum steklenice, hranjene v priporočenih pogojih (silikon, sledi pluta) vendar glede na to, da je bila tu v primeru sorte Modri Pinot izvedena le ena meritev prostega žvepla, nismo mogli preveriti standardnega odklona med več paralelkami, zaradi česar tudi ne moremo argumentirano zaključiti v prid te kombinacije. Iz istega razloga ne moremo argumentirano komentirati ohranjanja SO₂ v magnum steklenicah, hranjenih na odprtih policah.

4.1.2 VSEBNOST PROSTEGA SO₂ V VINU ZELEN



Slika 10: Povprečna koncentracija prostega SO₂ (mg/L) v vinih Zelen v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.

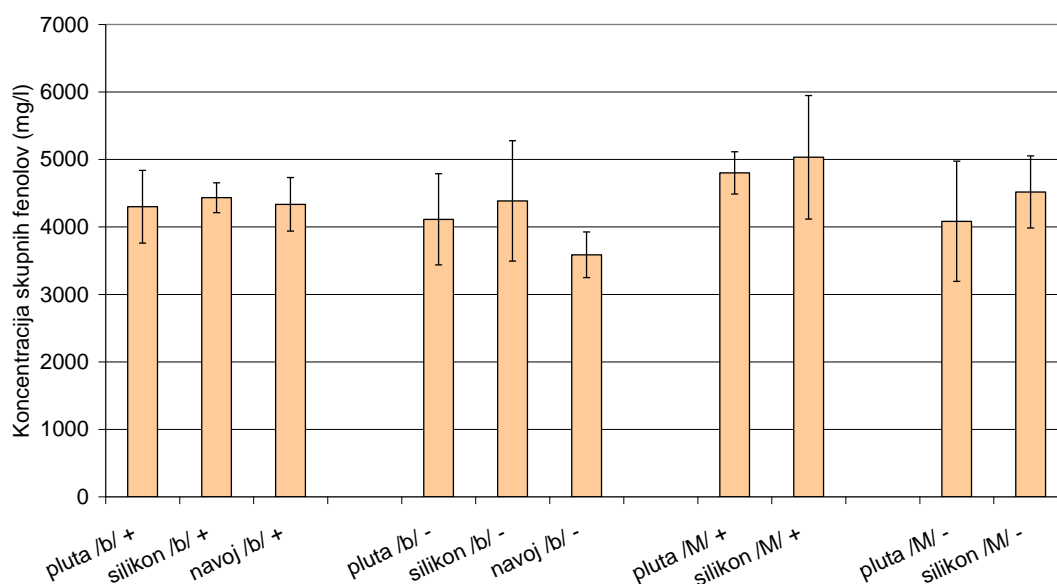
Podobno kot pri vinih Modri Pinot, smo tudi pri vinih Zelen opazili največje standardne odklone v izmerjenih koncentracijah prostega žvepla (SO₂) v primeru uporabe navojnega zamaška. To je verjetno spet povezano s precejšnjimi razlikami v kakovosti tesnenja tovrstnih zamaškov. Slabo tesnenje pri nekaterih tako zaprtih steklenicah smo opazili že pri pripravi vzorcev za analizo (pri fizičnem odpiranju teh steklenic po treh letih).

Če primerjamo med seboj rezultate pridobljene ob uporabi plutovinastih in silikonskih zamaškov, lahko opazimo, da je silikonski zamašek ohranil opazno večjo koncentracijo

SO₂ v priporočenih pogojih kot v slabših (polica); medtem, ko smo pri plutovinastem zamašku (sicer ob večjih standardnih odklonih) opazili manjši vpliv skladiščnih pogojev. V povprečju najnižje koncentracije prostega SO₂ smo zaznali v primeru steklenic, ki so bile zaprte s silikonskimi zamaški in hranjene na odprti polici (slika 10).

4.2 Vsebnost skupnih fenolov

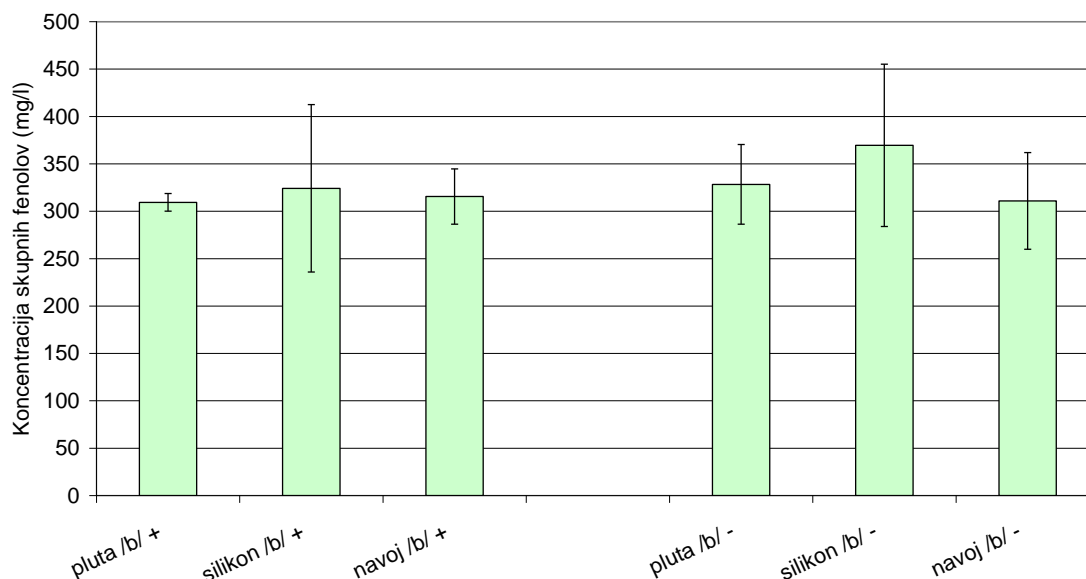
4.2.1 VSEBNOST SKUPNIH FENOLOV V VINU MODRI PINOT



Slika 11: Povprečna koncentracija skupnih fenolov (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Pri vinih Modri Pinot nismo zaznali bistvenih razlik v vsebnosti skupnih fenolov (SF) v odvisnosti od vrste zamaškov in/ali različnega volumna steklenic. V povprečju smo sicer izmerili najvišje koncentracije SF pri magnum steklenicah, hranjenih v priporočenih pogojih - vendar so bili standardni odkloni med paralelkami posameznih obravnavanj preveliki za primerne zaključke v tej smeri (slika 11).

4.2.2 VSEBNOST SKUPNIH FENOLOV V VINU ZELEN



Slika 12: Povprečna koncentracija skupnih fenolov (mg/L) v vinih Zelen v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Tudi pri opazovanju vsebnosti SF v vinu Zelen po treh letih staranja nismo zaznali bistvenih razlik niti v primeru uporabe različnih zamaškov, niti na račun različnih skladiščnih pogojev (slika 12).

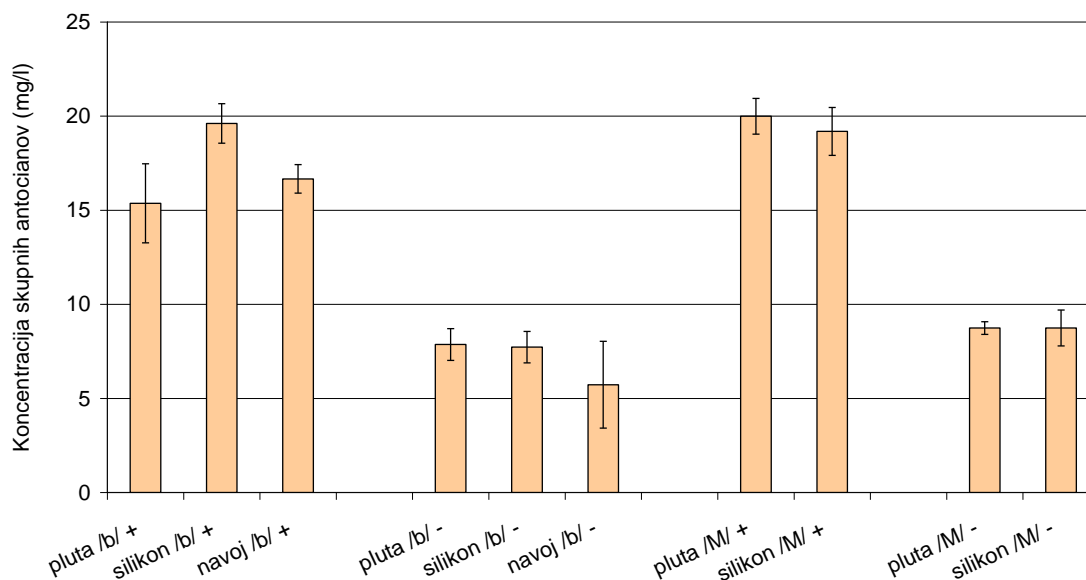
Rezultati so bili v skladu z našimi pričakovanji, saj smo že v fazi priprave hipoteze skleпали, da z izbiro različne embalaže in skladiščnih pogojev sicer ne moremo vplivati na samo koncentracijo vinu lastnih - vhodnih fenolov, lahko pa vplivamo na bolj ali manj ugodna razmerja med posameznimi skupinami fenolnih komponent s tem, da vplivamo na intenzivnost njihovih pretvorb (vstopi v kopigmentacijske in polimerizacijske reakcije).

4.3 Vsebnost skupnih antocianov

Ker je prisotnost rdečih pigmentov - antocianov značilna samo za rdeča vina (iz grozdja rdečih sort *V. vinifera*), smo vse analize antocianov izvajali samo pri vinu Modri Pinot. Antociani so znani kot slabo obstojni pigmenti, podvrženi številnim razgradnih reakcijam tako med predelavo, kot tudi med skladiščenjem živil. Njihovi

kvantitativni in kvalitativni profili pa imajo lahko zelo velik vpliv na kakovost v smislu primernosti barve kot tudi na samo prehransko vrednost živil (Wrolstad in sod., 2005).

4.3.1 VSEBNOST SKUPNIH ANTOCIANOV V VINU MODRI PINOT



Slika 13: Povprečna koncentracija skupnih antocianov (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Pri določanju vsebnosti skupnih antocianov (SA) smo prvič zaznali opazne razlike med vini hranjenimi v različnih pogojih, pri čemer so imela vina, hranjena v priporočenih pogojih bistveno večje vsebnosti izmerjenih skupnih antocianov kot vina, ki so smo jih hranili na odprti polici (slika 13).

V primeru buteljčnih steklenic, hranjenih v priporočenih pogojih, so v povprečju največ skupnih antocianov ohranile steklenice, ki so bile zaprte s silikonskimi zamaški. Tudi vina v magnum steklenicah (hranjenih v priporočenih pogojih) so ohranila visoko koncentracijo SA in sicer v primeru uporabe plute kot tudi ob uporabi silikona. V priporočenih pogojih smo v povprečju najmanj SA določili pri buteljčnih steklenicah, zaprtih s pluto ali navojnim zamaškom.

V povprečju je bil v manj ugodnih pogojih (polica) opazen boljši trend ohranitve SA v primeru izbora magnum steklenice, najmanjše vsebnosti (v povprečju) pa smo zaznali

pri izboru kombinacije buteljčne steklenice in navojnega zamaška, vendar so bili standardni odkloni preveliki za zanesljive zaključke v prid katerekoli kombinacije (slika 13).

4.4 Parametri barve

4.4.1 PARAMETRI BARVE V VINU MODRI PINOT

Tabela 5: Vpliv izbora embalaže in skladiščnih pogojev na absorbanco pri izbranih valovnih dolžinah, barvni indeks (CI) in na koordinate barvnega prostora CIE L*a*b* v vinu Modri Pinot. V tabeli so predstavljene povprečne vrednosti treh paralelk s pripadajočimi standardnimi odkloni.

Modri Pinot	A420 (AU)	A520 (AU)	A620 (AU)	CI (AU)	L* (/)	a* (/)	b* (/)
pluta /b/ +	3,6 ± 0,2	3,6 ± 0,1	0,8 ± 0,0	8,0 ± 0,3	20,9 ± 0,4	49,8 ± 0,5	35,8 ± 0,7
silikon /b/ +	3,2 ± 0,0	3,4 ± 0,0	0,8 ± 0,0	7,3 ± 0,0	22,1 ± 0,1	51,2 ± 0,1	37,3 ± 0,1
navoj /b/ +	3,3 ± 0,2	3,4 ± 0,2	0,8 ± 0,0	7,4 ± 0,4	22,0 ± 1,0	50,7 ± 0,6	37,2 ± 1,3
pluta /b/ -	4,2 ± 0,0	3,1 ± 0,1	0,7 ± 0,0	8,1 ± 0,1	23,5 ± 1,2	47,9 ± 0,3	40,3 ± 2,0
silikon /b/ -	4,1 ± 0,0	3,1 ± 0,0	0,7 ± 0,0	8,0 ± 0,0	23,7 ± 0,1	48,4 ± 0,0	40,7 ± 0,1
navoj /b/ -	3,5 ± 1,0	2,3 ± 1,0	0,4 ± 0,2	6,2 ± 2,2	40 ± 17,4	46,5 ± 4,6	64,4 ± 22,6
pluta /M/+	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,1	0,7 ± 0,0	6,6 ± 0,2	23,7 ± 0,1	52,0 ± 0,0	39,0 ± 0,4
silikon /M/+	2,8 ± 0,3	3,0 ± 0,2	0,7 ± 0,0	6,5 ± 0,5	24,2 ± 1,2	52,3 ± 0,7	39,3 ± 0,7
pluta /M/ -	3,7 ± 0,3	3,0 ± 0,1	0,7 ± 0,0	7,3 ± 0,5	23,3 ± 0,5	49,3 ± 0,8	39,6 ± 0,4
silikon /M/ -	3,7 ± 0,3	3,0 ± 0,1	0,7 ± 0,0	7,5 ± 0,5	23,1 ± 0,1	48,9 ± 0,5	39,3 ± 0,1

Absorbance, merjene pri značilnih valovnih dolžinah so bile premosorazmerne s koncentracijami posameznih pigmentov različnih barv. Tako so imeli rumeno-rjavi pigmenti značilen maksimum absorbance pri valovni dolžini 420nm, rdeči pigmenti pri 520nm, modri pigmenti pa pri 620nm. Barvni indeks (CI) je definiran kot seštevek absorbanc pri vseh treh valovnih dolžinah in nam nakazuje jakost (intenzivnost) barve, vendar pa nam ne ovrednoti odtenka. Le-tega nam boljše opišejo koordinate barvnega prostora - parametri L*, a* in b*. Absorbanca pri 420nm je pokazatelj staranja vina (oz. dekadence njegove barve) in je bila pri naših opazovanjih v povprečju najvišja v vinih napolnjenih v buteljčne steklenice, ki so bile hranjene pri sobni temperaturi ter na svetlobi. Opazen je bil višji standardni odklon pri navojnem zamašku. Najnižje

povprečne vrednosti so bile izmerjene pri magnum steklenicah, hranjenih v priporočenih pogojih. Podoben trend se je pojavil pri parametru b^* , ki nam opisuje barvni prostor od zelene barve pri negativnih vrednostih do rumene pri pozitivnih vrednostih in tudi pri parametru a^* , ki nam nakazuje razvoj barve od modre do svetlo rožnato-vijolične barve (magenta) (Skouroumounis in sod., 2005). Slednja (magenta) je bila v povprečju v največji meri prisotna v vzorcih, napolnjenih v magnum steklenice in hranjenih v priporočenih pogojih. Razlike med plutovinastimi in silikonskimi zamaški pa so bile relativno majhne (tabela 5).

4.4.2 PARAMETRI BARVE V VINU ZELEN

Tabela 6: Vpliv izbora embalaže in skladiščnih pogojev na absorbanco pri izbranih valovnih dolžinah, na barvni indeks (CI) in na koordinate barvnega prostora CIE $L^*a^*b^*$ v vinu Zelen. V tabeli so predstavljene povprečne vrednosti treh paralelk s pripadajočimi standardnimi odkloni.

Zelen	A420 (AU)	A520 (AU)	A620 (AU)	CI (AU)	L^* (/)	a^* (/)	b^* (/)
pluta /b/ +	$0,1 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$	$98,4 \pm 0,2$	$-1,3 \pm 0,1$	$7,3 \pm 0,9$
silikon /b/+	$0,1 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$	$98,1 \pm 0,2$	$-1,3 \pm 0,1$	$7,1 \pm 0,5$
navoj /b/ +	$0,1 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$	$98,7 \pm 0,1$	$-1,2 \pm 0,0$	$6,5 \pm 0,2$
pluta /b/ -	$0,2 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$97,6 \pm 0,2$	$-1,9 \pm 0,1$	$14,3 \pm 0,8$
silikon /b/ -	$0,3 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,1$	$96,9 \pm 1,1$	$-2,0 \pm 0,3$	$16,7 \pm 3,5$
navoj /b/ -	$0,3 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,1$	$95,5 \pm 1,4$	$-1,2 \pm 0,6$	$19,4 \pm 3,1$

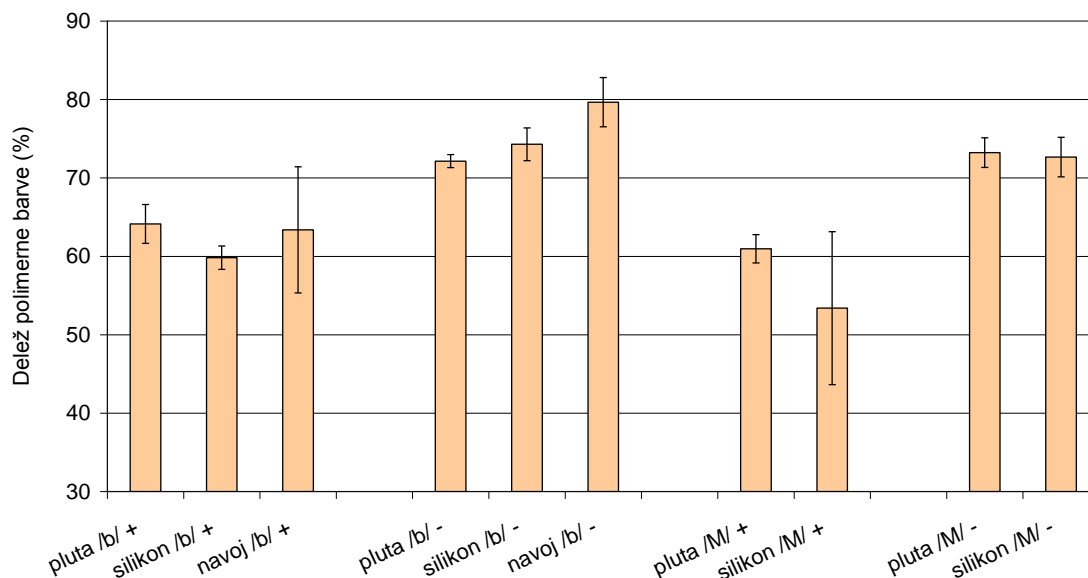
Podobni trendi posameznih parametrov barve (kot pri vinu Modri pinot) so bili prisotni tudi pri vinu Zelen. Poleg absorbanco pri 420nm in parametra b^* je bil občutno spremenjen tudi parameter L^* , ki nam opisuje kako temen je vzorec (Skouroumounis in sod., 2005). Vzorci, hranjeni v hladilniku so bili tako v povprečju svetlejše barve kot vzorci hranjeni na sobni temperaturi. Med posameznimi zamaški pa ponovno ni bilo opaziti večjih razlik v opazovanih parametrih (tabela 6).

4.5 Delež polimerne barve

Monomerni antociani lahko reagirajo med sabo in z drugimi fenolnimi spojinami v različne polimerne barvne pigmente. Izpostavljenost svetlobi lahko pospeši razgradnjo monomernih in tvorbo polimernih antocianov, pri čemer polimerni antociani ne izkazujejo tako izrazite reverzibilne spremembe barve ob spremembi pH, kot je značilna

za monomerne antociane (Jensen in sod., 2008).

4.5.1 DELEŽ POLIMERNE BARVE V VINU MODRI PINOT



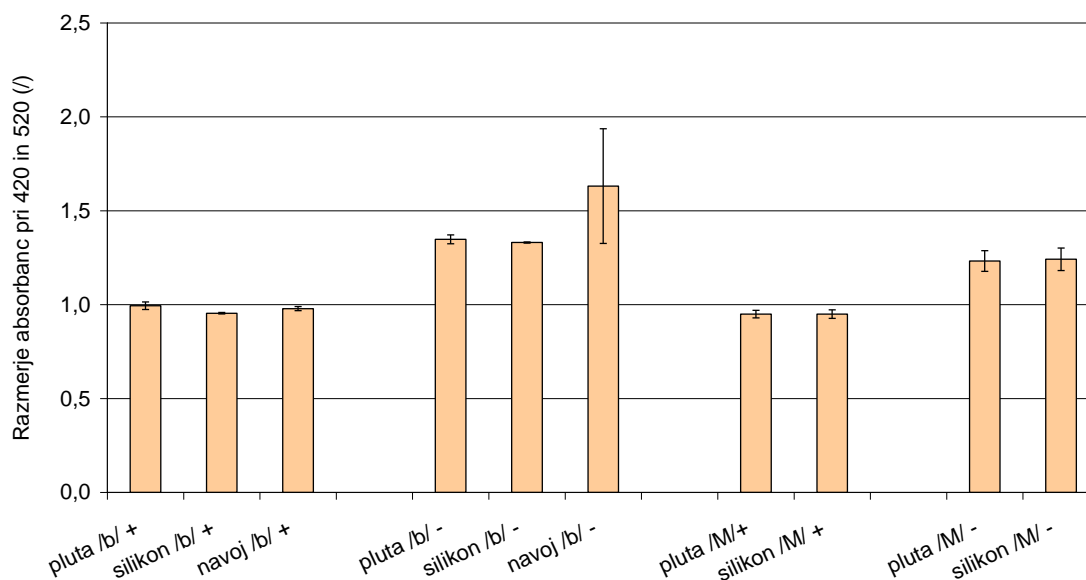
Slika 14: Delež polimerne barve (%) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Delež polimerne barve je bil večji v primeru hranjenja steklenic v manj ugodnih pogojih kot v primeru hranjenja vin v priporočenih pogojih ne glede na velikost steklenic (pri magnum in pri buteljčni steklenici). Največji delež polimerne barve smo določili pri kombinaciji buteljčne steklenice in navojnega zamaška (hranjeno na polici) (slika 14).

Delež polimerne barve je povezan s pojavom senzorično zaznavne porjavive vina (Somers in Evans, 1974). Rjavenje rdečega vina oziroma spreminjanje rdeče barve od škrlatnih, preko rubinastih do opečnatih odtenkov tekom zorenja v steklenici, je sicer normalen proces v razvoju rdečega vina, vendar pa ni zaželeno, da takšni procesi potekajo prehitro. Rjavi odtenki v relativno mladem rdečem vinu so lahko znak nižje kakovosti vina, zaradi česar so praviloma slabše sprejeti s strani vinskega potrošnika.

4.6 Ton barve

4.6.1 TON BARVE V VINU MODRI PINOT

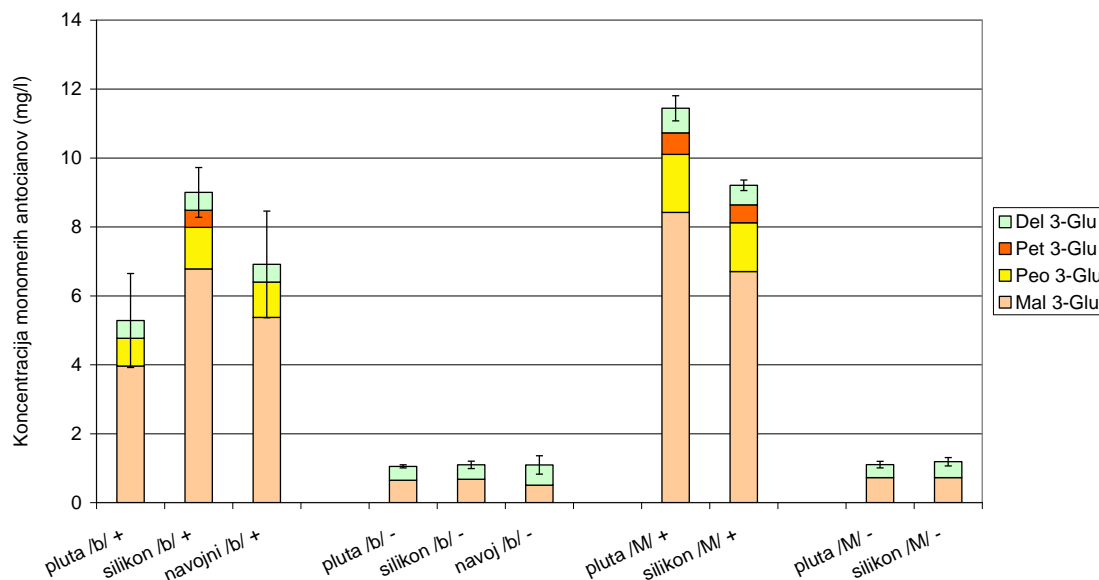


Slika 15: Razmerje absorbanc pri 420 in 520nm (ton barve) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Višje vrednosti razmerja absorbanc pri 420 in 520nm (kakor je definiran ton barve) nakazujejo več oranžnih tonov oziroma več starikovah lastnosti barve vina. Vina hranjena v dobrih pogojih so torej ohranila svežejšo (bolj rdečo) barvo oziroma barvo, ki je praviloma boljše sprejeta pri kupcih vina. Ponovno je navojni zamašek (v slabih pogojih) pokazal velika nihanja, v povprečju pa tudi najvišjo vrednost tona barve. Zaznali smo še opazne razlike na račun volumna steklenic, pri čemer je bila vrednost tona barve v magnum steklenici ugodnejša (slika 15).

4.7 Kvalitativni in kvantitativni profil monomernih antocianov

4.7.1 VSEBNOST POSAMEZNIH IN SKUPNIH MONOMERNIH ANTOCIANOV V VINU MODRI PINOT



Slika 16: Povprečna koncentracija skupnih in posameznih monomernih antocianov (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Skupni monomerni antociani v vinu so se opazno boljše ohranili v priporočenih pogojih kot na odprtih policah (slika 16). Njihova zelo nizka vsebnost v steklenicah vina, ki so bile hranjene na polici, nakazuje intenzivnejše vstopanje monomernih antocianov v polimerizacijske in kopigmentacijske reakcije, kar bistveno vpliva na končno zaznavo barve, povezane tudi z boljšo oziroma slabšo percepcijo kupcev vina.

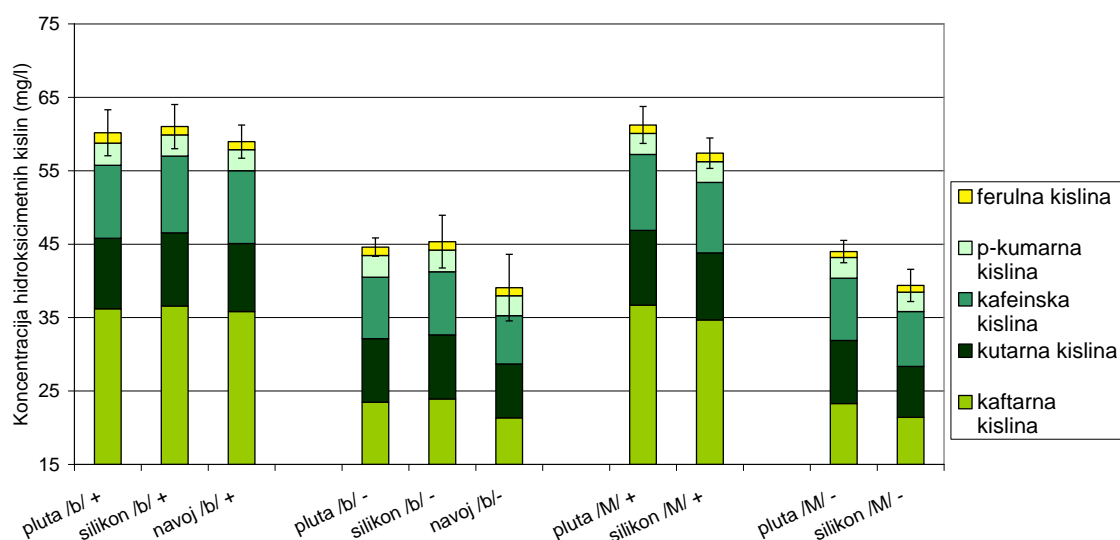
Izbor volumna steklenice je manj vplival na končno koncentracijo skupnih monomernih antocianov v primeru uporabe silikonskega zamaška, medtem, ko je bila razlika med večjo in manjšo steklenico (volumen) zelo očitna ob uporabi plutovinastega zamaška. Rezultati v primeru uporabe navojnega zamaška so tudi tu pokazali največje standardne odklone, kar utrjuje naše sklepanje, da je kakovost tovrstnega zapiranja sicer dobra v primeru odličnega tesnenja – vendar pa le to v praksi ni vedno doseženo.

Zanimive razlike smo opazili tudi ob opazovanju vsebnosti posameznih monomernih antocianov (kvalitativni profil). Medtem, ko sta se v vseh vinih bolj ali manj ohranila Delfinidin 3-glukozid in Malvidin 3-glukozid, pa je bil Peonidin 3-glukozid (nad mejo detekcije) prisoten samo še pri vinih, hranjenih v priporočenih pogojih; Petunidin 3-glukozid pa samo pri dobro hranjenih magnum steklenicah in pri dobro hranjeni buteljčni steklenici, zaprti s silikonskim zamaškom. V nobenem od opazovanih vin pa se (nad mejo detekcije) ni ohranil peti, v grozdju sorte 'Modri Pinot' prisoten monomerni antocian Cianidin 3-glukozid (slika 16).

4.8 Kvalitativni in kvantitativni profil hidroksicimetnih kislin

Hidroksicimetne kisline (HCK) so zelo podvržene oksidaciji, poleg tega pa so pomembno vključene v kopigmentacijske procese tekom predelave in zorenja vina, tako pri rdečih kot tudi pri belih vinih (Boulton, 2001). Porjavenje vin, povezano s prisotnostjo HCK (ter kisika in oksidacijskih encimov) je njihov najpomembnejši vpliv na kakovost vina tekom predelave in zorenja, kar se posebej velja za vpliv na barvo belih vin (Waterhouse, 2006).

4.8.1 VSEBNOST POSAMEZNIH IN SKUPNIH HIDROKSICIMETNIH KISLIN V VINU MODRI PINOT



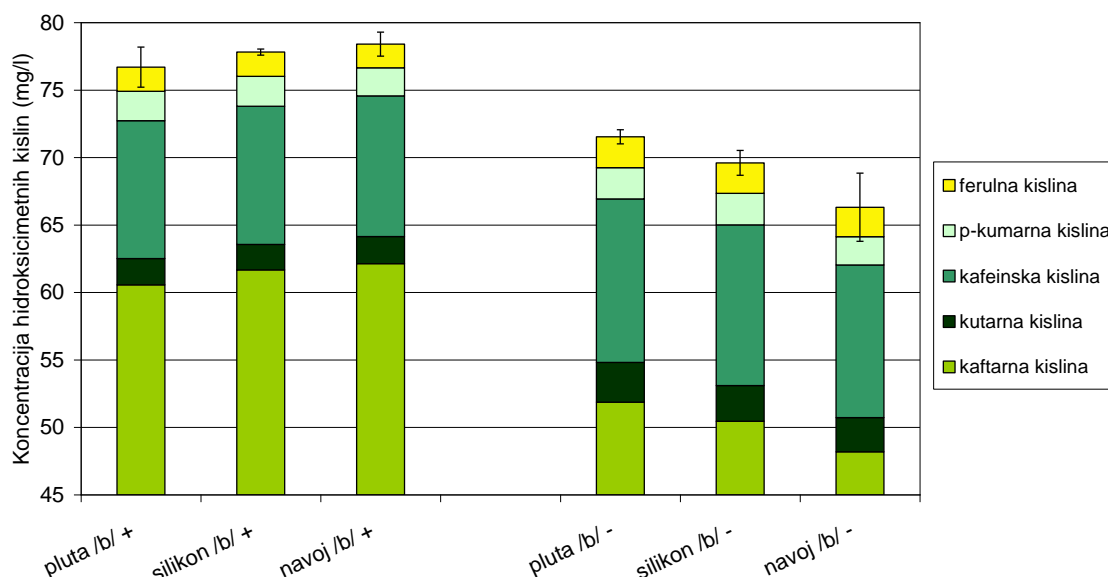
Slika 17: Povprečna koncentracija skupnih in posameznih hidroksicimetnih kislin (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov in volumen steklenic: b= buteljčna steklenica, M= magnum steklenica) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev).

Skupne hidroksicimetne kisline (HCK) v vinih Modri Pinot so se najbolj ohranile v steklenicah, ki so bile spravljene v priporočenih pogojih. Izbira različnih volumnov steklenic ni igrala velike vloge niti v priporočenih niti v slabših pogojih. Zanesljive razlike (glede na standardne odklone) pri opazovanju vloge različnih zamaškov smo

zasledili le v primeru magnum steklenic, hranjenih v slabših pogojih, kjer se je nekoliko boljše obnesla pluta v primerjavi s silikonom (slika 17).

Pri opazovanju posameznih hidroksicimetnih kislin oziroma pri opazovanju razmerij med petimi opazovanimi hidroksicimetnimi kislinami v vzorčnih vinih Modri Pinot, hranjenimi pod istimi pogoji, nismo zaznali bistvenih razlik. Ob opazovanju razmerja HCK v vinih, ki so bila hranjena v različnih pogojih, pa smo opazili bistveno manjši delež kaftarne kisline glede na druge prisotne HCK v primeru hranjenja v slabših pogojih (slika 17).

4.8.2 VSEBNOST POSAMEZNIH IN SKUPNIH HIDROKSICIMETNIH KISLIN V VINU ZELEN



Slika 18: Povprečna koncentracija skupnih in posameznih hidroksicimetnih kislin (mg/L) v vinih Modri Pinot v odvisnosti od skladiščnih pogojev (+ priporočeni pogoji, - neugodni pogoji) in izbire embalaže (vrsta zamaškov) po treh letih staranja v steklenici. Na stolpcih je označen standardni odklon meritev znotraj posameznih paralelk enako obravnavanih vzorcev.

Tudi skupne hidroksicimetne kisline v vinih Zelen so se bistveno boljše ohranile v steklenicah, ki so bile hranjene v priporočenih pogojih. Razlike ob uporabi različnih zamaškov pa so bile očitnejše v slabih pogojih, kjer je največje vsebnosti skupnih HCK v vinu ohranil plutovinast zamašek, sledil mu je silikonski, v povprečju najnižje

vsebnosti pa smo izmerili pri navojnem zamašku (spet ob največjih standardnih odklonih).

Podobno kot pri vinih Modri Pinot smo največje razlike v vsebnosti posameznih HCK oziroma razmerju med njimi opazili na račun kaftarne kisline, katere delež je bil tudi pri vinu Zelen bistveno manjši, če so bile steklenice hranjene pri sobni temperaturi in ob izpostavljenosti svetlobi.

5 ZAKLJUČKI

Čeprav izbor embalaže in skladiščnih pogojev po treh letih hranjenja vina v steklenici ni bistveno vplival na skupne fenole v opazovanih vinih (Zelen, Modri Pinot), pa smo opazne razlike med obravnavanji zaznali pri opazovanju posameznih skupin fenolov oziroma pri opazovanju posameznih fenolnih predstavnikov tako pri belem kot pri rdečem vinu.

Na splošno smo največje razlike v opazovanih parametrih zaznali med vzorci, ki so bili hranjeni v različnih skladiščnih pogojih. Nekaj zanimivih rezultatov so nakazale tudi steklenice različnih volumnov, medtem, ko smo najmanj oprijemljivih izsledkov pridobili ob primerjavi različnih materialov vinskih zamaškov.

V okviru naše raziskave torej nismo mogli zanesljivo zaključiti v prid posameznega izbora zamaška, vendar pa je v primerjavi s plutovinastim in sintetičnim zamaškom, navojni zamašek pogosto izkazoval nesorazmerno velike standardne odklone med paralelkami, kar je najverjetneje povezano z neenakomerno kakovostjo tesnenja takšnega zapirala. Kot nakazujejo nekateri rezultati, pa bi navojni zamašek ob ustreznem tesnenju lahko imel pozitivne vplive na boljše ohranjanje kondicije vina v steklenici.

Večja steklenica (magnum) je v primerjavi z buteljčno steklenico nakazala predvsem boljše ohranjanje posameznih in skupnih monomernih antocianov (pluta, dobri pogoji) ter nekaterih parametrov barve pri vinu Modri Pinot. Določeni trendi tako nakazujejo, da je ob uporabi magnum steklenice možno do določene mere upočasniti razvoj barve vina proti rjavim odtenkom.

Izbrani skladiščni pogoji so imeli velik vpliv na večino opazovanih parametrov (tako na kvalitativne kot kvantitativne profile opazovanih skupin fenolov kot z njimi povezane parametre barva) in sicer pri obeh opazovanih vinih. Naši rezultati tako potrjujejo, da je vino na komercialni trgovski polici pogosto izpostavljeno pogojem, ki na dolgi rok zelo slabo ohranjajo njegovo kakovost.

6 VIRI

- Bavčar D. (2006). Kletarjenje danes. Ljubljana: Kmečki glas, str. 51–55 in 66–95.
- Boulton R. (2001). The copigmentation of Anthocyanins and its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 52, št. 2, str. 68–87.
- Crozier A., Joganath I.B., Clifford M.N. (2006). Phenols, polyphenols and tannins. V: Plant secondary metabolites: Occurance, structure and role in the human diet. Crozier A., Clifford M.N., Ashihara H. (Ur.). *Blackwell Publishing Ltd*, str. 2-8.
- Di Stefano R., Guidoni S. (1989). The analysis of total polyphenols in musts and wines. *Vignevini*, št.1-2, str. 47-52.
- Gao L., Girard B., Mazza G., Reynolds A.G. (2008). Changes in anthocyanins and color characteristics of Pinot Noir wines during different vinification processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, št. 45, str. 2003–2008.
- Gardner D. (2008). Inovative packaging for the wine industry: A look at wine closures. Virginia Tech Food Science and Technology, *Blacksburg, Va 24061*.
- Girard B., Kopp T.G., Reynolds A.G., Cliff M. (1997). Influence of Vinification Treatments on Aroma Constituents and Sensory Descriptors of Pinot noir wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, št. 48, str. 198–206.
- Giusti M.M. in Wrolstad R.E. (2001). Characterization and measurment of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons. Inc, str. F1.2.1 – F1.2.13
- Godden P., Francis L., Field J., Gishem M., Coulter A., Valente P., Høj P. in Robinson E. (2001). Wine bottle closures: physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a Semillion wine 1. Performance up to 20 months post-bottling. *Australian journal of Grape and Wine Research*, št. 7, str. 64-105.
- Hart A., Kleinig A. (2005). The role of oxygen in the aging of bottled wine. Wine Press Club New South Wales. Inc, str. 1–14.
- Jackson S. Roland (2008). Wine science: principles and applications, third edition, Academic press. Chapter 6: Chemical constituents of grape and wine, str. 270-323, Chapter 8: Postfermentation treatments and related topics, str. 418–507.
- Jacobson J. L. (2006). Introduction to Wine Laboratory Practices and Procedures. Chapter 8: Bottling basics. Springer Sciencet Business Media, Inc, str. 231–257.
- Jensen J.S., Demiray S., Egebo M., Meyer A. (2008). Prediction of Wine Color Attributes from the Phenolic profiles of Red Grape (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, let. 53, št. 3, str. 1105–1115.
- Jenster P.V., Smith D.E., Mitry D.J., Jenster L.V. (2008). The business of Wine - A global perspective. Copenhagen Business School Press, 1st edition.
- Košmerl T. (2011). Ne flavonoidi, tanini in barva vina. *Revija SAD*, let. 22, št. 4, str. 21-23.

- Košmerl T. in Kač M. (2007). Osnovne kemijske analize mošta in vina. Laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. Tretja izdaja, popravljena in dopolnjena. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta oddelek za živilstvo, str. 50–54 in 97–101.
- Lopes P., Savcier C., Teissedre P.L., Glories Y. (2007). Main routes of oxygen ingress through different closures into wine bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, let. 55, št. 13, str. 5167–5170.
- Lopes P., Marques J., Lopes T., Lino J., Coelho J., Alves C., Roseira I., Mendes A., Cabral M. (2011). Permeation of d₅-2,4,6-Trichloroanisole via Vapor Phase through Different Closures into Wine Bottles. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 62, str. 245–249.
- Margalit Y. (2004). Concepts in wine chemistry, New edition. The wine Appreciation Guide, San Francisco. Chapter III.: Phenolic compounds, str. 95–129, Chapter V.: oxidation and wineaging, str. 193–215.
- Mozetič Vodopivec B., Tomažič I., Škvarč A., Trebše P. (2006). Determination of Polyphenols in Wine Grape Berries cv. Rebula. *Acta Chimica Slovenica*, let. 53, str. 58–64.
- Nemanič J. (2006). Zamašek 'vino lok' steklenice. *Dolenjski list*, let. LVII, št.1, str. 14.
- Nemanič J. (2000). O ravnanju s plutovinastimi zamaški. *Dolenjski list*, let. 51, št. 15, str. 9.
- Nemanič J. (2006). Ali razumemo vino. Ljubljana, Kmečki glas, str. 71-72 in 83-84.
- Plahuta P. (2005). Pridelava vina. V: Pinela in Zelen, žlahtna dediščina Vipavske doline. T. Furlan (Ur). Ajdovščina. Razvojna agencija ROD: str. 92-113.
- Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Duboudien D. (2006). Handbook of Enology Volume 2. The chemistry of wine stabilization and treatments Second edition, John Wiley&Sons, Ltd. Chapter 6: Phenolic compounds, str. 141-203.
- Robins R.J. (2003). Phenolic acids in food: An overview of analytical methodology. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, let. 51, št. 10, str. 2866–2887.
- Rusjan T. (2004). Plutovinast zamaški – težave danes in v prihodnosti? *Revija SAD*, let. 15, št. 7/8, str. 25–26.
- Sefton M.A. in Simpson R.F. (2005). Compounds causing cork taint and the factors affecting their transfer from natural cork closures to wine - a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, št.11, str. 226–240.
- Selli S., Canbas A., Unal U. (2002). Effect of bottle colour and storage conditions on browning of Orange wine. *Nahrung/Food*, let. 46, št. 2, str. 64–67.
- Sims C.A in Morsis J.R. (1984). Effects of pH, sulfur dioxide, storage time, and temperature on the color and stability of red Muscadine grape wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 35, št. 1, str. 35–39.
- Skouroumounis G.K., Kwiatkowski M.J., Francis I.L., Oakey H., Capone D.L., Duncan B., Sefton M.A., in Waters E.J. (2005). The impact of closure type and storage conditions on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine during five years storage. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, št. 11, str. 369–377.

- Somers T.C. in Evans M.E. (2006). Wine quality: Correlations with colour density and anthocyanin equilibria in a group of red young red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, Wiley Online Library*, let. 25, št. 11, str. 1369–1379.
- Sternad Lemut M., Trošt K. (2010). Vpliv embalaže in skladiščnih pogojev na profile antocianov v vinu sorte Modri Pinot. V: *Slovenski kemijski dnevi 2010, Maribor*, str. 1-8.
- Sternad Lemut M., Trošt K., Sivilotti P., Vrhovsek U. (2011). Pinot Noir grape colour related phenolics as affected by leaf removal treatments in the Vipava Valley. *Journal of Food Composition and Analyses*, let. 24, št. 6, str. 777-784.
- Tarara J. M., Lee J., Spayed S.E., Scagel C.F. (2008). Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin in merlot grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 59, št. 3, str. 235–247.
- Vanzo A., Lavrenčič P., Čuš F. (2007). Vsebnost polifenolov v sorti Zelen. V: Čuš F. (Ur.), Marinček L. *Vinarski dan 2007, Ljubljana. Kmetijski inštitut Slovenije*, str. 25–32.
- Vodovnik A. in Vodovnik T. (1999). Nasveti za vinarje. Ljubljana, založba Kmečki glas, str. 100–113 in 189–191.
- Vrhovšek U. (2002). Antociani - rdeča barvila grozdja in vina. *Revija Proteus*, let. 65, št. 2, str. 54–60.
- Vrhovšek U. (2000). Bioaktivne polifenolne spojine grozdja in vina. V: Rajher Z. (Ur). *Strokovni posvet Vino – hrana, zdravje 2000. Zbornik referatov. Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo, Celje*, str. 42-56.
- Waterhouse A.L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry. University of California*, str. | 1.1.1-| 1.1.8.
- Waterhouse A.L. (2006). Wine phenolics. *Analisis of the New York Academy of Sciences, Wiley Online Library*.
- Wink M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Review. Phytochemistry*, let. 64, št.1, str. 3-19.
- Wrolstad R.E., Durst R.W., Lee J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, let. 16, str. 423–428.