

**Agrovoc descriptors:** wines, oxidation, oxygen, phenolic compounds, tannins, flavonoids, anthocyanins, colour, pigments, stability, keeping quality

**Agris category code:** Q04

COBISS koda 1.01

## Mikrooksidacija vina modri pinot<sup>a</sup>

Marko LESICA<sup>1</sup>, Tatjana KOŠMERL<sup>2</sup>

Prispelo 15. junija 2006; sprejeto 1. septembra 2006.

Received June 15, 2006; accepted September 1, 2006.

### IZVLEČEK

Mlada rdeča vina izpostavljena kisiku lahko pod določenimi pogoji pridobijo na kakovosti. Proces mikrooksidacije je osnovna metoda, s katero lahko vplivamo na fenolno strukturo vin, ki skuša prilagajati količino dodanega kisika vinu z namenom povečati stabilnost barve, zmeščanja trpkih taninov in zmanjšanja neprijetnih arom. Proučevali smo vpliv mikrooksidacije na spremembo barve in vsebnosti fenolnih spojin vina modri pinot. Analize so vključevale določanje skupnih fenolov, taninov, netaninov, flavonoidov in neflavonoidov, antocianov, intenzitete barve, tona barve, deleža rdeče barve pri posameznih valovnih dolžinah (420, 520 in 620 nm), oceno koncentracije pigmenta odpornega na SO<sub>2</sub> ter primerjavo končnega in kontrolnega vzorca v kemijskih parametrih (pH, prosti in vezani SO<sub>2</sub>, alkohol, skupni suhi ekstrakt, skupne, titrabilne in hlapne kisline). Rezultati so pokazali, da je mikrooksidacija povzročila spremembo barvnega značaja, izboljšanje intenzitete barve procesiranega vzorca v primerjavi s kontrolnim, vzpodbudila tvorbo polimernih barvil in kopigmentiranih kompleksov, s tem pa mehčanje taninov (polimerizacija fenolnih spojin) in stabilizacijo barve, ki je odporna na vezavo z SO<sub>2</sub>.

**Ključne besede:** vino, modri pinot, mikrooksidacija, mikrooksidatorji, kisik, fenoli, stabilnost, barve, antociani, tanini, kopigmentacija

### ABSTRACT

#### MICROOXIDATION OF PINOT NOIR WINE

Under controlled conditions, young red wine can benefit from the exposure to oxygen. The process of microoxidation is basically a way to manipulate the phenolic structures in wine, which attempts to control the amount of oxygen added to wine to enhance colour stability, soften hard tannins, and decrease the perception of off-flavours. We examined the influence of microoxidation on colour changing and content of phenolic compounds in Pinot Noir wine. We determined the content of total phenols, tannins, non-tannins, flavonoids, non-flavonoids,

---

<sup>a</sup> Ta članek je nastal na osnovi podatkov diplomske naloge Marka Lesice. Mentorica: doc. dr. Tatjana Košmerl

This article is based on the data from graduation thesis of Marko Lesica. Supervisor: Assist. Prof. Ph. D. Tatjana Košmerl.

<sup>1</sup> Študent podiplomskega študija bioloških in biotehniških znanosti

<sup>2</sup> Doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, SI-1001 Ljubljana

anthocyanins, colour density, colour hue, degree of red pigment colouration at different wavelength (420, 520 and 620 nm), estimation of SO<sub>2</sub> resistant pigments concentration, and comparison in chemical parameters between control and microoxidated sample (pH, free and bounded SO<sub>2</sub>, ethanol, total dry extract, total, titratable and volatile acids). Results showed that microoxidation caused changes in colour characteristics, improved the wine colour density as compared to the control, encouraged the formation of polymeric pigments and copigment complex as a result of softer tannins (polymerization of phenolic compounds) and more stable colour which is resistant to the bleaching effect of SO<sub>2</sub>.

**Key words:** wines, Pinot Noir, microoxidation, microoxygenators, oxygen, phenols, colour, stability, anthocyanins, tannins, copigmentation

## 1 UVOD

Pojem mikrooksidacije si razlagamo kot počasno dovajanje kisika v vino v količinah, ki jih vino lahko porabi tako, da ne pride do akumulacije prevelikih količin raztopljenega kisika (Goals ..., 2001). Rdeča vina imajo veliko vsebnost fenolnih spojin, z močnim antioksidacijskim potencialom. Dodatno so fenolne spojine zelo reaktivne in so v prisotnosti kisika podvržene kemijskim spremembam, ki lahko privedejo do izboljšanja ali poslabšanja senzorične kakovosti vina (Parish in sod., 2000; Paul, 2002; Goals ..., 2001; Atanasova in sod., 2002). Sistem mikrooksidacije temelji na uvajanju točno določene količine kisika v vino s pomočjo porozne membrane oziroma sonde v obliki majhnih mehurčkov, ki se raztopijo v vinu, medtem ko se dvigajo proti površini. Postopek mikrooksidacije je prisoten praktično od nekdaj. Moderne posode iz nerjavnega jekla za zorenje in skladiščenje vina so pripeljale do potrebe po uvajanju kisika za doseg boljšega končnega pridelka. Že stoletja poteka proces vinifikacije in staranja vina v posodah oziroma lesenih sodih, ki bolj ali manj prepuščajo kisik.

Mikrooksidacija se je uveljavila predvsem pri rdečih vinih kot postopek, ki pripomore doseči zelene spremembe v strukturi in aromi vina, ki jih ne moremo oziroma jih težko dosežemo s tradicionalnimi postopki zorenja in staranja. Cilji mikrooksidacije so polnejši, bolj zaokrožen in svež okus ter povečanje sadnosti in aromatičnosti vin z veliko »mehkih« taninov. Postopek izboljša stabilnost in intenzivnost barve, oksidativno stabilnost, zmehča trpke tanine in povzroči zmanjšanje reduktivnih in rastlinskih arom (Parish in sod., 2000; Paul, 2002; Goals ..., 2001; Nel 2001; Atanasova in sod., 2002; Du Toit in sod., 2006). Z uvajanjem kisika v vino pa je lahko omogočena tudi rast aerobnih mikroorganizmov (ocetnokislinskih bakterij rodu *Acetobacter* in kvasovk rodu *Brettanomyces*), kar lahko vodi v poslabšanje kakovosti oziroma celo kvar vina (Du Toit in sod., 2005; Du Toit in sod., 2006).

## 2 KISIK IN VINO

Uporaba kisika v vinarstvu je zelo pomembna in prinaša določene koristi v posameznih stopnjah pridelave vina (Silva in Lambri, 2006; Salmon, 2006; Blanchard in sod., 2004; McCord, 2003; Otto, 2003):

- med maceracijo in vinifikacijo: kisik je pomemben za rast in dobro delovanje kvasovk, predvsem pospešuje tvorbo sterolov in nenasičenih maščobnih kislin, ki se vgrajujejo v celično steno in povečujejo odpornost na etanol;
- bela vina: kisik vpliva na povečanje stabilnosti in ekstrakta vina;
- rdeča vina: kisik igra veliko vlogo pri polimerizaciji fenolnih spojin, predvsem v zgodnjem stadiju zorenja; polimerizacija povzroči nastanek stabilnih oblik antocianinov, ki so odporni na razbarvanje zaradi vezave žveplovega dioksida in so bolj odporni tudi na spremembe pH vina;
- izboljšanje arome: zmanjšanje reduktivnih, zelenih in travnatih arom, trpkosti in grenkobe.

## 2.1 Mikrooksidacija vina med zorenjem

Zorenje vina z mikrooksidacijo lahko traja do dvanajst mesecev in več (Pour Nikfardjam, 2003). Na dolžino trajanja vplivajo temperatura, količina vpihovanega kisika, fenolna sestava vina in koncentracija žveplovega dioksida. Pri tem se moramo zavedati, da s postopkom ne želimo pospešiti zorenja vina, temveč stabilizirati fenolno strukturo, aromo, barvo vina, ga obogatiti in pridobiti mehko, sadnost in svežino (Carmen Llaudy in sod., 2006; Parish in sod., 2000; Goals ..., 2001). Zorenje mora biti redno kontrolirano tako s senzorično analizo vina kot s spremljanjem kemijskih parametrov, ki kažejo spremembe v sestavi vina, s stališča kakovosti pa nekateri priporočajo zelo pogosti analizi vsebnosti prostega SO<sub>2</sub> in hlapnih kislin. Poleg omenjenih kemijskih parametrov je želeno spremljanje indeksa skupnih fenolov, koncentracije taninov, antocianinov, acetaldehida, raztopljenega kisika, indeksa želatine in ionizacije ter temperaturo (Du Toit in sod., 2006). Razvoj prijetnih, mehkih taninov v vinu zaznamo predvsem senzorično, medtem ko je pri analitiki stvar še dokaj neraziskana zaradi tehnološke omejenosti. Senzorično lahko spremljamo morebitni razvoj reduktivnih (H<sub>2</sub>S) ali oksidativnih arom, kar je dober indikator pravilnosti poteka mikrooksidacije (Du Toit in sod., 2006; Pour Nikfardjam, 2003; Goals ..., 2001; Rowe in Kingsbury, 1999).

Sam potek zorenja delimo na tri faze: stopnja izgradnje, stopnja mehčanja ali harmonizacije ter stopnja nasičenja (Parish in sod., 2000). Proces polimerizacije in kondenzacije naj bi pripomogel k zaznavanju mehkejši taninov in zaokroženosti okusa v ustih in s tem zmanjšanje agresivnih trpkih taninov, vendar meritve teh procesov so še nemogoče z današnjo tehnologijo. Kot rečeno gre pri tem za bistveno spremembo senzoričnega karakterja vina, z izgubo arome mladega vina (surovosti oziroma robotosti vina) ter barvne intenzitete, nato povečanje kompleksnosti arome z izgubo rastlinskega in reduktivnega značaja ter mehčanje taninov (Du Toit in sod., 2006; Parish in sod., 2000; Paul, 2002).

## 2.2 Bistvene reakcije kisika s fenoli

Kisik stimulira polimerizacijo antocianinov in taninov. To povzroči zmanjšanje koncentracije prostih antocianinov in povečanje vsebnosti kondenziranih antocianinov (Paul, 2002). Kisik stimulira tako direktno kondenzacijo antocianinov s tanini, kot indirektno preko etilnega mostička, kar je najbolj značilno za mikrooksidirana vina. Koncentracija taninov se tekom zorenja tudi zmanjšuje, vendar je vsebnost teh pri mikrooksidiranih vinih bistveno večja. V bistvu ta postopek

stabilizira številne fenole kot so flavonoli in tartratni estri, ki pa so po naravi zelo podvrženi oksidaciji. Intenziteta barve mikrooksidiranih vin je večja, tako kot ton barve, predvsem na račun večje tvorbe rumeno-rjavih polimernih barvil (Du Toit in sod., 2006; Paul, 2002; Goals ..., 2001).

Pri omenjenih reakcijah ima žveplov dioksid velik vpliv, zato je postopek mikrooksidacije učinkovitejši pred jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo, ko je prisotnost žveplovega dioksida majhna (Paul, 2002, Atanasova in sod., 2002). V tej stopnji zorenja so monomerni in oligomerni antocianini nestabilni in se pod vplivom kisika polimerizirajo in povečajo barvno stabilnost. Po jabolčno-mlečnokislinski fermentaciji so reakcije počasnejše in manj pomembne zaradi dodatka žveplovega dioksida, ki se veže z acetaldehidom in kisikom.

Acetaldehid igra pomembno vlogo v zgodnjih reakcijah polimerizacije med antocianini in ostalimi fenolnimi komponentami. Ta deluje kot mostiček med antocianinom in flavanol komponentami tekom zorenja in ima velik vpliv na barvo rdečih vin (Carmen Llaudy in sod., 2006; García-Puente in sod., 2006). Bistvo te reakcije je blago, kontrolirano dodajanje kisika, ki vodi v nastanek acetaldehida iz etanola in tvorbo različnih fenolnih struktur, kot posledica reakcij kondenzacije v rdečem vinu (Carmen Llaudy in sod., 2006; Atanasova in sod., 2002). Nastali kompleksi dajejo vinu vijoličen do oranžen odtenek – višji absorbanci pri 620 nm in 420 nm (Paul, 2002). Tovrsten tip reakcije je relativno hiter in ob previsoki stopnji polimerizacije lahko pride do obarjanja nastalih pigmentov (Ribéreau-Gayon in sod., 2000, Margalit, 2004).

### **3 MATERIALI IN METODE DELA**

V poskusu smo uporabili vino sorte modri pinot, letnika 2004 iz vipavskega vinorodnega okoliša. Vino smo zaprli v 30 L tank iz nerjavnega jekla in namestili sondo za mikrooksidacijo. Količina dovedenega kisika je bila 3 mL O<sub>2</sub>/L vina/mesec. Mikrooksidacija je potekala v kleti pri konstantni temperaturi 15 °C. Vzorce za analizo smo jemali vsake štiri oziroma pet dni v času približno enega meseca in pol (od 14. januarja do 2. marca 2005). Kemijske in spektrofotometrične analize smo opravili v treh paralelkah. Vzorci so bili do analize in med analizami hranjeni v hladilnici pri temperaturi 5–8 °C in zaščiteni pred morebitnim delovanjem odvečnega kisika. Pri poskusu smo uporabili aparaturo MICRODUE® italijanskega proizvajalca JU.CLA.S. s točnim volumetričnim doziranjem kisika preko bata (Microssigenazione, 2005).

#### **3.1 Določanje skupnih fenolov**

Skupne fenole v predhodno razredčenem vzorcu vina smo določali s spektrofotometrično metodo pri valovni dolžini 765 nm z reagentom Folin-Ciocalteu v alkalnem mediju (dodatek natrijevega karbonata). Koncentracijo skupnih fenolov v vzorcu smo odčitali iz umeritvene krivulje, ki smo jo pripravili z galno kislino s koncentracijo od 0–500 mg/L (Košmerl in Kač, 2004).

#### **3.2 Določanje taninov in netaninov**

Tanine, izražene v mg galne kisline/L, izračunamo iz razlike med skupnimi fenoli in netanini. Le-te smo določili spektrofotometrično (Boulton in sod., 1996): vzorcu vina dodamo raztopini metilceluloze in amonijevega sulfata; sledi centrifugiranje raztopine vzorca in analiza supernatanta po postopku za določevanje skupnih fenolov.

### 3.3 Določanje flavonoidov in neflavonoidov

Flavonoide, izražene v mg galne kisline/L, izračunamo iz razlike med skupnimi fenoli in neflavonoidi. Slednje smo določili s spektrofotometrično metodo z reagentom Folin-Ciocalteu v filtriranem vzorcu vina, kateremu smo predhodno dodali raztopini klorovodikove kisline in formaldehida (Boulton in sod., 1996).

### 3.4 Določanje antocianinov

Pri pH vrednosti vina med 3,3–4,3 obstaja v ravnotežju več molekularnih oblik vsakega antocianina. Z znižanjem pH vina na 0,5–0,8 preidejo vsi antocianini v obarvano obliko (flavilijev kation), zato lahko določimo njihovo masno koncentracijo tako, da izmerimo absorbanco vzorcev pri 520 nm in izračunamo masno koncentracijo antocianinov s pomočjo koeficienta, ki upošteva molarno absorptivnost in molsko maso prevladujočega barvila. Vzorec vina smo razdelili na dva dela: v prvega smo dodali zakisano raztopino etanola in vodno raztopino klorovodikove kisline, v drugega pa pufer s pH 3,5 namesto vodne raztopine HCl. Po eni uri smo obema raztopinama izmerili absorbanco pri valovni dolžini 520 nm. Vsebnost antocianinov (mg/L) izračunamo iz razlike absorbanco in jo izrazimo kot malvidin-3-monoglukozid (Boulton in sod., 1996).

### 3.5 Določanje intenzitete in tona barve

Intenziteto in ton barve smo določili s spektrofotometrično metodo, pri kateri vzorec vina predhodno ustrezno razredčimo s pufrno raztopino (pH=3,5) in izmerimo absorbanco pri valovnih dolžinah 420 nm in 520 nm proti slepemu vzorcu (Iland in sod., 2000) oziroma dodatno tudi pri valovni dolžini 620 nm (Košmerl in Kač, 2004). Z ustreznima matematičnima relacijama iz določenih absorbanco in upoštevanju faktorja razredčitve izračunamo intenziteto in ton barve vina.

### 3.6 Ocena vsebnosti barvil, odpornih na razbarvanje z SO<sub>2</sub>

Vzorcu vina dodamo prebitok žveplovega dioksida (SO<sub>2</sub>) in izmerimo absorbanco pri 520 nm, ki nam da oceno koncentracije rdečega barvila, ki je odporen na vezavo z SO<sub>2</sub>. To so v glavnem polimerne in tudi manjše molekule (Iland in sod., 2000).

### 3.7 Ocena vsebnosti rdečih barvil brez učinka SO<sub>2</sub>

Dodatek prebitka CH<sub>3</sub>CHO v vzorec povzroči izničenje delovanja vezave barvil z SO<sub>2</sub> (Iland in sod., 2000) in omogoča lažjo primerjavo vzorcev med seboj.

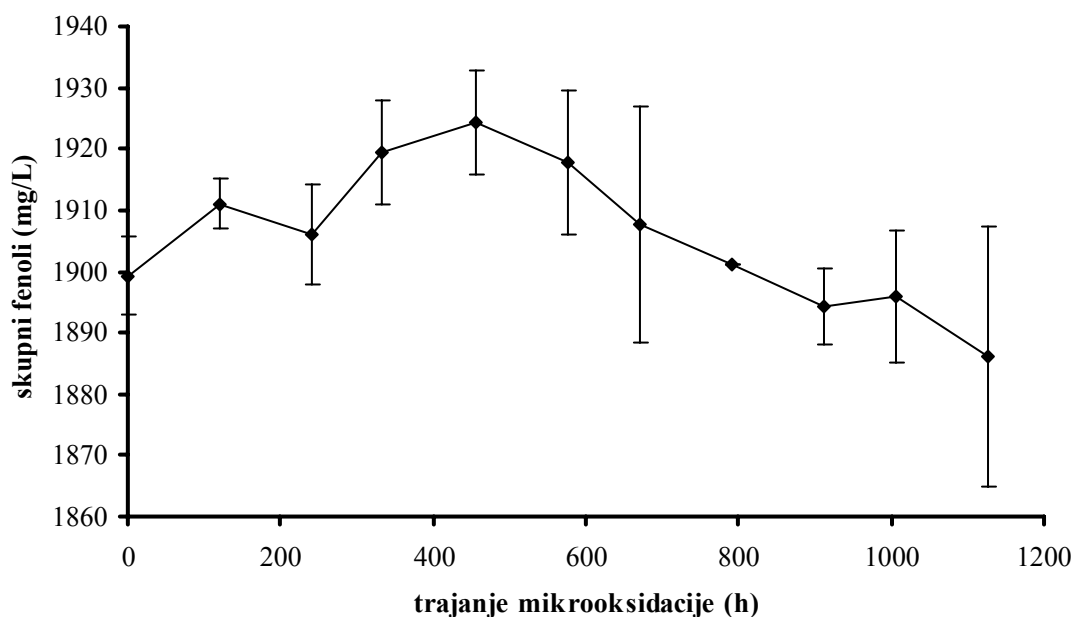
### 3.8 Določanje deleža rdeče barve

Delež rdeče barve smo določili spektrofotometrično. Vzorec vina razredčimo z 1 M raztopino HCl in izmerimo absorbanco pri 520 nm. Pri tako nizki pH vrednosti so vsi antocianini in druga barvila v rdeče obarvani obliki (Iland in sod., 2000). Dodatno smo z matematičnimi relacijami izračunali tudi deleže rdeče barve pri posameznih valovnih dolžinah ter delež prostih in vezanih antocianinov v obliki flavilijevega kationa (Košmerl in Kač, 2004).

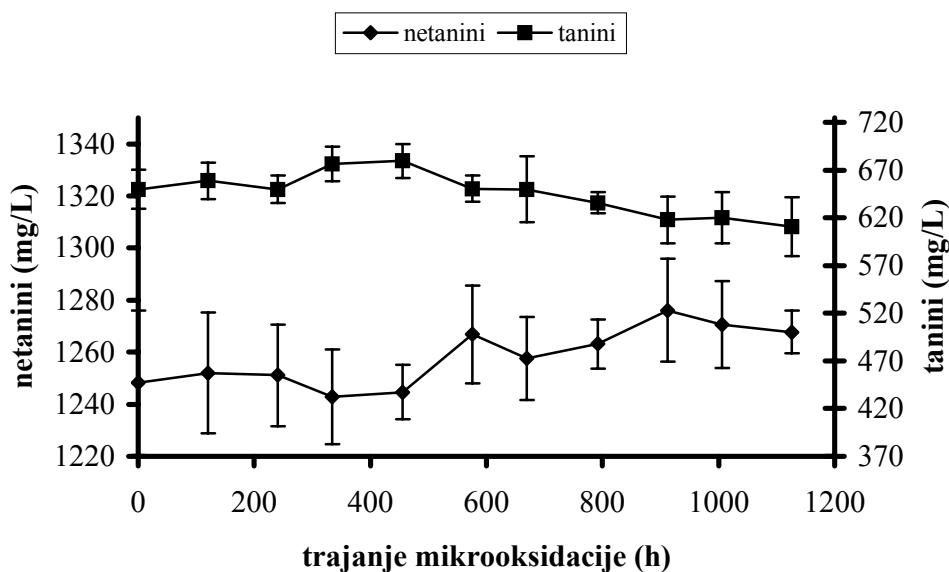
## 4 REZULTATI IN DISKUSIJA

Masna koncentracija skupnih fenolov je naraščala približno prvih 20 dni in dosegla vrednost 1924 mg/L, kar je za 1 % več od začetne vrednosti (1899 mg/L). V nadaljevanju mikrooksidacije se je vsebnost skupnih fenolov enakomerno zmanjševala do konca poskusa (slika 1). Na koncu je vsebnost skupnih fenolov znašala 1886 mg/L, kar je slab odstotek manj od začetne vrednosti in skoraj 2 % manj od največje vrednosti. To nam prikazuje začetno stopnjo izgradnje strukture vina, v kateri se povečata vsebnost taninov in intenzivnost barve. Ta stopnja lahko traja različno dolgo odvisno od narave vina; literatura navaja 10–30 dni (Goals ..., 2001), v ekstremnih primerih tudi do 6 mesecev (Goals ..., 2001; Atanasova in sod., 2002).

Vsebnost netaninov je od začetne vrednosti 1248 mg/L narasla za dobra 2 % in dosegla največjo vrednost 1276 mg/L po 38 dneh. Nato do konca poskusa zasledimo rahel padec vsebnosti netaninov do 1268 mg/L (slika 2). Pri taninih je bila situacija ravno obratna. Vsebnost taninov je naraščala prvih 20 dni in dosegla vrednost 680 mg/L, kar je dobre 4 % več v primerjavi z začetno vrednostjo 650 mg/L. Sledilo je enakomerno zmanjševanje vsebnosti taninov do 611 mg/L, kar je 6 % manj v primerjavi z začetno vrednostjo (slika 2).

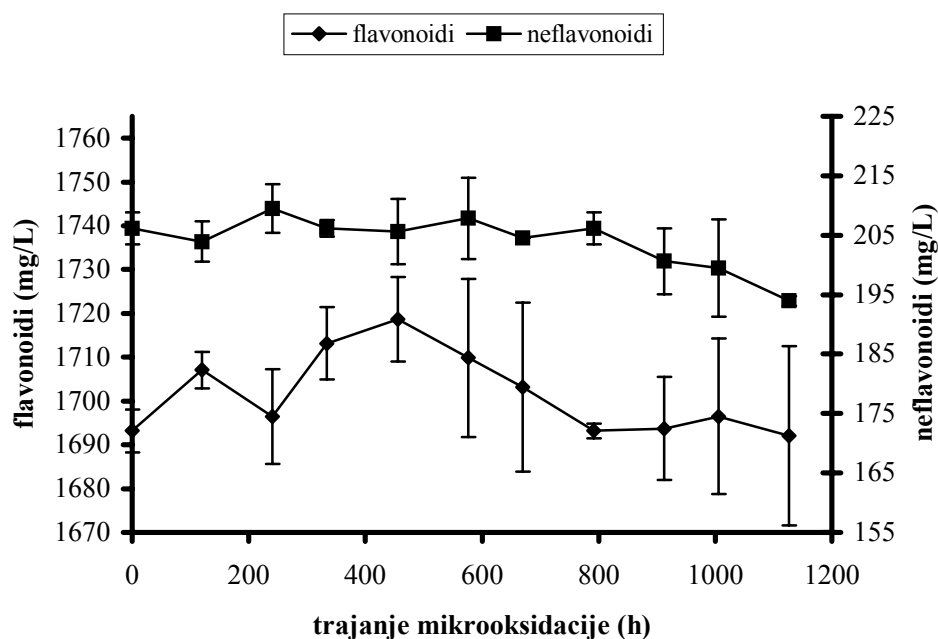


Slika 1: Spreminjanje vsebnosti skupnih fenolov (mg/L) med mikrooksidacijo  
Figure 1: Changes of total phenols content (mg/L) during microoxidation



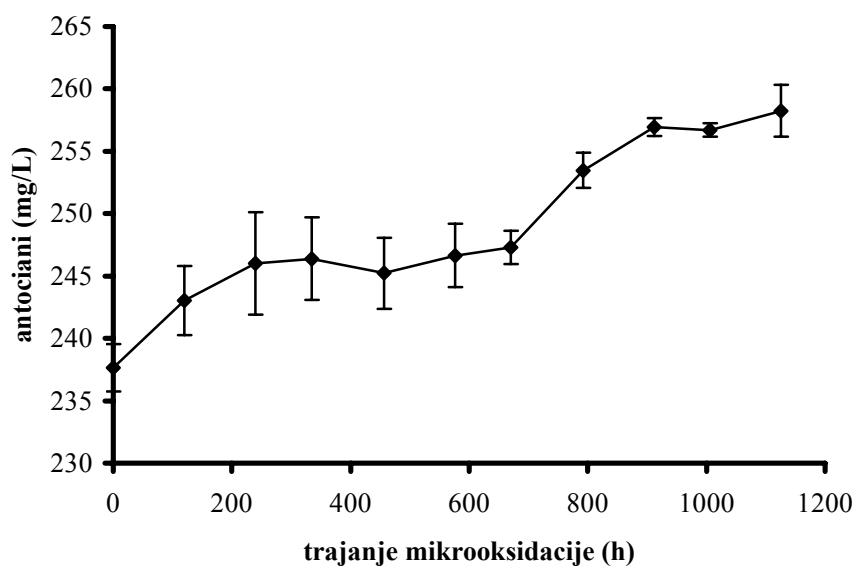
Slika 2: Spremembe vsebnosti taninov in netaninov (mg/L) med mikrooksidacijo  
Figure 2: Changes of tannins and non-tannins content (mg/L) during microoxidation

Tako kot skupni fenoli, tudi neflavonoidi kažejo podobno tendenco začetnega naraščanja in nato zmanjševanja koncentracije (slika 3). Od začetne vrednosti 206 mg/L se je po desetih dneh njihova vsebnost povečala na 210 mg/L in nato do konca poskusa zmanjšala na 194 mg/L, kar je 6 % manj od začetne vrednosti. Med poskusom je bila dosežena največja vsebnost flavonoidov 1719 mg/L, kar je za 1,5 % več od začetne vrednosti 1693 mg/L, nato pa se je enakomerno zmanjševala do končne vsebnosti 1692 mg/L (slika 3). V prisotnosti kisika pride do zmanjšanja koncentracij številnih fenolnih komponent. Različni raziskovalci, med njimi tudi Castellari in sod. (2000) navajajo, da je v njihovem šest mesecev trajajočem poskusu mikrooksidacije prišlo do bistvenega zmanjšanja koncentracij neflavonoidov in flavonoidov.



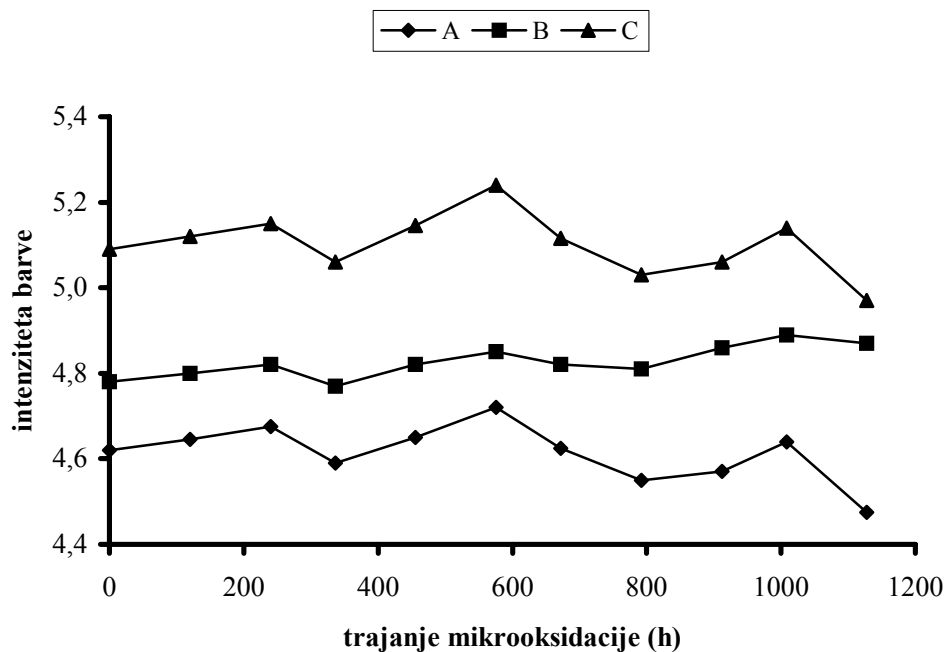
Slika 3: Spremembe vsebnosti flavonoidov in neflavonoidov (mg/L) med mikrooksidacijo  
Figure 3: Changes of flavonoids and non-flavonoids content (mg/L) during microoxidation

Vsebnost antocianinov je enakomerno naraščala med mikrooksidacijo (slika 4), kar je v nasprotju s pričakovanji. Začetna vsebnost antocianinov je znašala 238 mg/L in se je do konca poskusa povečala za 8 % (258 mg/L). Med skladiščenjem in staranjem rdečih vin se koncentracija prostih antocianinov, ki so odgovorni za barvo vina, zmanjšuje zaradi številnih reakcij z drugimi fenolnimi spojinami, predvsem flavonoli oziroma v kombinaciji z acetaldehidom. To je razlog spreminjanja barve iz rdeče-modrega odtenka, ki je značilen za mlada vina, v rdeče-rjavo barvo zorenega vina. Pri tem pride tudi do zmanjšanja trpkosti (Carmen Llaudy in sod., 2006; Atanasova in sod., 2002; Castellari in sod., 2000; Cacho in sod., 1995). Povečanje vsebnosti antocianinov lahko pripišemo kopigmentaciji. Boulton (2001) navaja, da se pri mladih vinih prosti antocianini vežejo v kopigmentirane oblike, ki omogočajo večjo stabilnost barve, kar se kaže kot večja vsebnost skupnih antocianinov v vinu. Tako vezani antocianini povzročijo večjo obarvanost kot prosti antocianini. Tudi tuji avtorji so dobili podobne rezultate: povečanje skupnih antocianinov oziroma zmanjšanje skupnih antocianinov in povečanje skupnih obarvanih antocianinov; slednje pripisujejo tvorbi polimernih barvil (Boulton, 2001; Gómez-Plaza, 2001; Gonzales Cartagena, 1994).



Slika 4: Spreminjanje vsebnosti antocijaninov (mg/L) med mikrooksidacijo  
 Figure 4: Changes of anthocyanins content (mg/L) during microoxidation

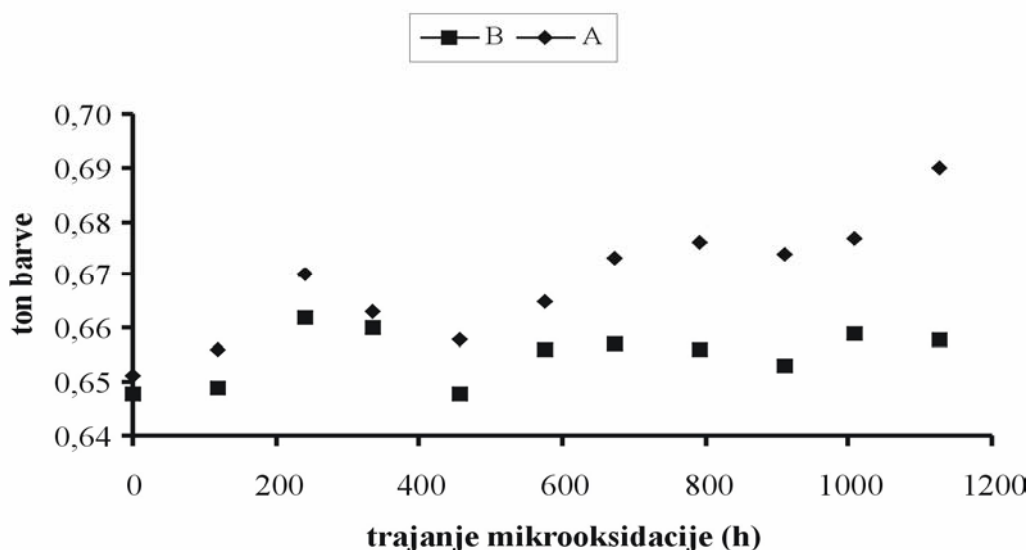
Intenziteto barve vina smo določali na tri načine. Krivulji A in C sta rezultat meritve razredčenega vina. Pri krivulji C je v izračun upoštevana še vrednost absorbance pri valovni dolžini 620 nm, kar pa bistveno ne spremeni oblike krivulje (slika 5). Krivulja B je rezultat meritve ob dodatku acetaldehida, ki izniči delovanje  $\text{SO}_2$  tako, da se le-ta veže na acetaldehid.



Slika 5: Spreminjanje intenzitete barve vina med mikrooksidacijo;  
 Legenda: A ( $A_{420} + A_{520}$ ), B ( $A_{520}^{CH_3CHO} + A_{420}^{CH_3CHO}$ ), C ( $A_{420} + A_{520} + A_{620}$ )  
 Figure 5: Changes of wine colour intensity during microoxidation;  
 Legend: A ( $A_{420} + A_{520}$ ), B ( $A_{520}^{CH_3CHO} + A_{420}^{CH_3CHO}$ ), C ( $A_{420} + A_{520} + A_{620}$ )



Medtem ko krivulji A in C nakazujeta rahlo zmanjšanje končne intenzitete barve (v primeru A za 3 % od začetne vrednosti 4,62 na 4,48 in za dobra 2 % pri krivulji C od začetne vrednosti 5,09 na 4,97), nam krivulja B pokaže rahlo povečanje intenzitete barve na račun barvil, ki so vezana z žveplovim dioksidom. Povečanje intenzitete barve v tem primeru je bilo 2 % od 4,78 na 4,87. V raziskavah rdečih vin se je intenziteta barve zmanjševala med jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo in med zorenjem (Mazza in sod., 1999). Za vino modri pinot je značilno pomanjkanje procianidinov (taninov) v kožicah, kar poslabša razmerje med antocianini in tanini, kar povzroči manjšo intenzivnost in slabšo stabilnost barve (Nemanič in sod., 1997; Košmerl in Kač, 2004). Zmanjšanje intenzitete barve je sorazmerno s časom, vendar je manjše za mikrooksidirana vina (Du Toit in sod., 2006). To je običajno posledica nastajanja novih barvil iz antocianinov (Atanasova in sod., 2002). Pri tem ne pride do bistvenega zmanjšanja intenzitete barve, le delež barve pri posameznih valovnih dolžinah se spremeni, kar je razvidno iz spodnjih slik.

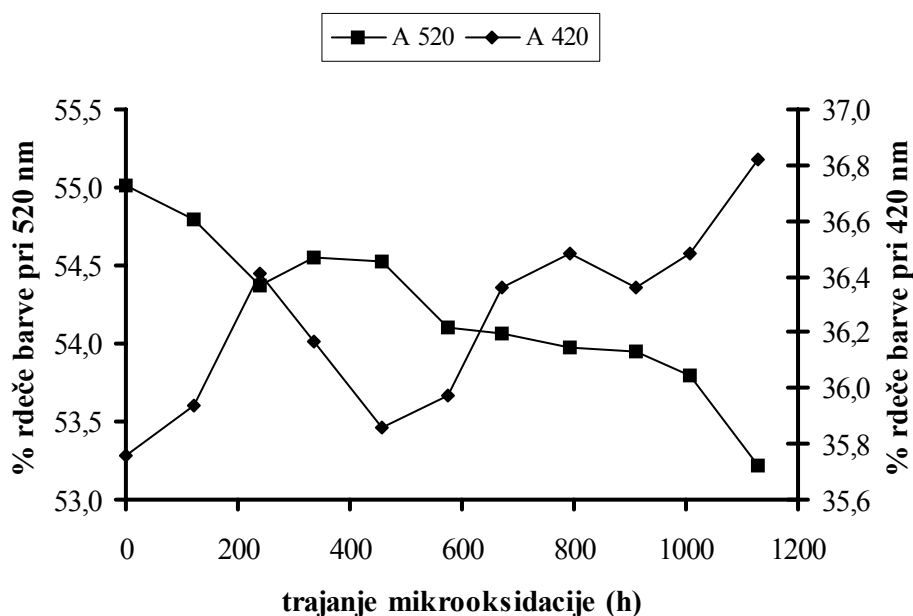


Slika 6: Spreminjanje tona barve med mikrooksidacijo; Legenda:  $\mathbf{A} \frac{A_{420}}{A_{520}}$ ;  $\mathbf{B} \frac{A_{420}^{CH_3CHO}}{A_{520}^{CH_3CHO}}$

Figure 6: Colour hue changes during microoxidation; Legend:  $\mathbf{A} \frac{A_{420}}{A_{520}}$ ;  $\mathbf{B} \frac{A_{420}^{CH_3CHO}}{A_{520}^{CH_3CHO}}$

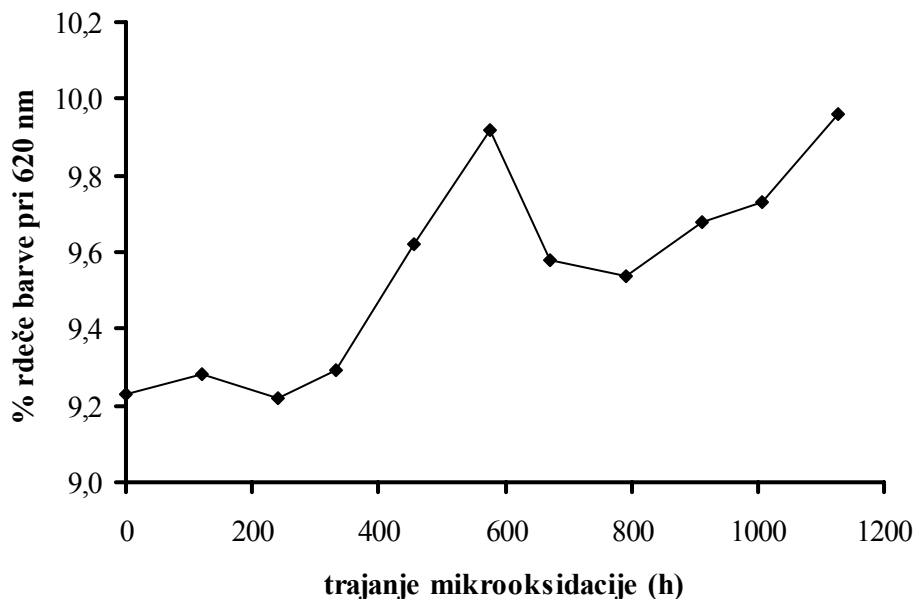
Med mikrooksidacijo se je ton barve v primeru A bistveno povečal, od vrednosti 0,651 na 0,690, z enim vmesnim nihanjem po približno desetih dneh, ko doseže vrednost 0,670, kateremu sledi štirinajstdnevno enakomerno padanje tona barve do vrednosti 0,658 in nadaljnje enakomerno naraščanje do konca poskusa (slika 6). Povečanje tona barve za 6 % se je tudi vizualno odražalo kot sprememba barve vina. Barvna sestava procesiranega vina je bila v primerjavi s kontrolnim vzorcem sestavljena iz večjega deleža rumeno-rjavih barvil, ki pripomorejo k večji absornci pri 420 nm in s tem k povečanju tona barve. V procesu mikrooksidacije s polimerizacijo nastajajo številne nove spojine, kot na primer piranoantocianini, ki prispevajo k višji absornci pri 420 nm kot prosti antocianini (Atanasova in sod., 2002). Z izničenjem delovanja  $SO_2$  opazimo, da se ton barve ni bistveno povečal. Po začetnem dvoodstotnem porastu iz vrednosti 0,648 na 0,662, je sledilo rahlo zmanjševanje do konca poskusa (0,658). To nam pove, da se poveča tudi količina rdečih barvil, vendar so le-ta podvržena vezavi z žveplovim dioksidom.

Pri postopku mikrooksidacije je opazna sprememba deleža rdečega oziroma rjavega odtenka barve (sliki 7 in 8). Delež rdeče barve pri 420 nm se je v prisotnosti kisika povečal za slab odstotek (od 35,80 % na 36,72 %), kar pa je težko vizualno opaziti kot večji odtenek rjave barve zaradi prisotnost kinonov (Vivas in Glories, 1996). Na drugi strani se je zmanjšal odtenek rdeče barve pri 520 nm za slaba dva odstotka (od 55,00 % na 53,25 %). Relativno smo zasledili največje naraščanje deleža modro-vijolične barve pri valovnih dolžini 620 nm (od 9,20 % na 9,99 %). Atanasova in sod. (2002) navajajo, da pride do nastajanja novih barvil, predvsem zaradi tvorbe spojin med antocianini in tanini preko acetaldehidnih mostičkov. Ti produkti imajo relativno višje vrednosti absorbance pri valovnih dolžinah 420 in 620 nm v primerjavi z absorbanco pri 520 nm. Povečanje absorbance pri 420 nm je tudi posledica oksidacije fenolnih spojin (Vivas in Glories, 1996). Barvila, ki so bolj odporna na razbarvanje vina z SO<sub>2</sub>, so predvsem polimerna barvila, v bistveno manjši meri pa tudi manjše molekule (Iland in sod., 2000).

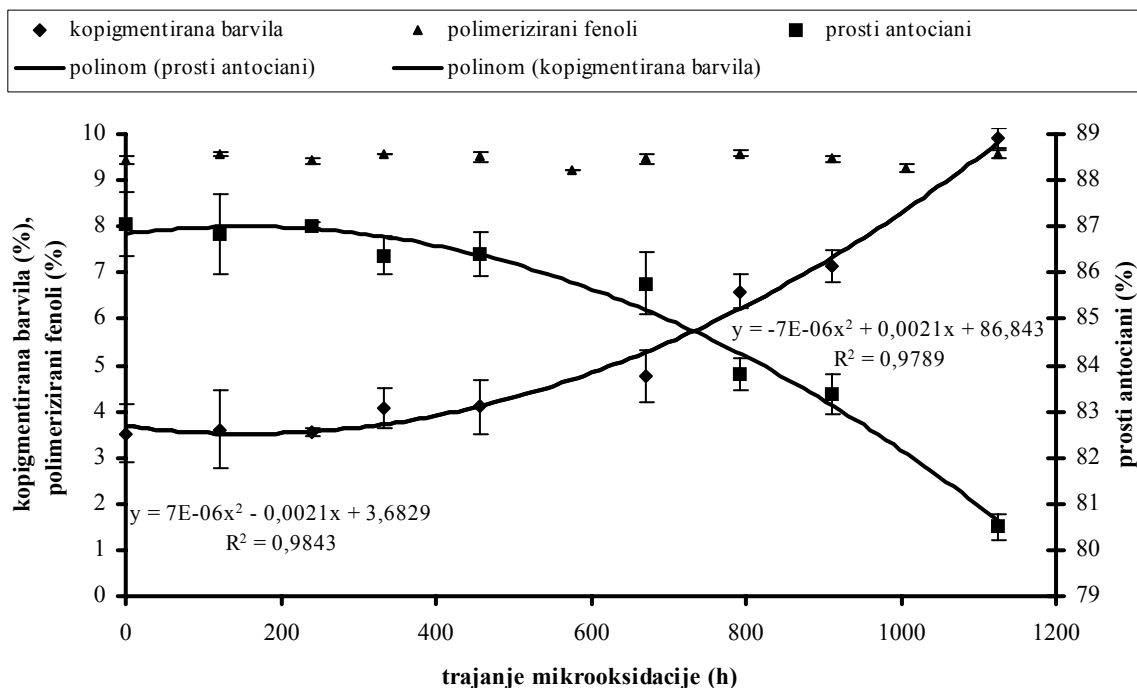


Slika 7: Spreminjanje deleža (%) rdeče barve pri 420 in 520 nm med mikrooksidacijo  
 Figure 7: Changes of red colour degree (%) at 420 and 520 nm during microoxidation

Iz slike 9 je razvidno spreminjanje deleža prisotnih barvil v mikrooksidiranem vinu. Delež polimernih barvil je bil med procesom mikrooksidacije skoraj konstanten okoli vrednosti 9,5 %, medtem ko sta se vsebnosti prostih antocianinov in kopigmentiranih barvil enakomerno spreminjala. Delež kopigmentiranih barvil je naraščal od 3,51 % do 9,92 %. Krivulja naraščanja ustreza kvadratni funkciji (če ne upoštevamo vzorcev št. 5 in 9), kar lahko opazimo tudi za delež prostih antocianinov, ki se zmanjšujejo po krivulji kvadratne funkcije od začetne vrednosti 87,07 % do 80,50 %. V literaturi najdemo samo podatke o deležih posameznih barvil v mikrooksidiranih vzorcih po končanem procesu v primerjavi s kontrolo (Du Toit in sod., 2006), nismo pa zasledili kinetike spreminjanja med samim postopkom, da bi lahko naše rezultate primerjali.



Slika 8: Spreminjanje deleža (%) rdeče barve pri 620 nm med mikrooksidacijo  
 Figure 8: Changes of red colour degree (%) at 620 nm during microoxidation



Slika 9: Spreminjanje posamezne oblike barvila (%) med mikrooksidacijo  
 Figure 9: Changes of particular colour form (%) during microoxidation

Kopigmentacija barvil je definirana kot povečanje barve zaradi tvorbe kompleksov med barvili (antocijanini) in kofaktorji (nebarvne spojine). Tvorba kompleksov povzroča večjo obarvanost antocijanov v primerjavi s prostimi antocijanini. Ta pojav je razlog za modro-vijolični barvni odtenka vina, večjo intenziteto barve mladih rdečih

vin in kratkoročno pripomore k stabilnosti barve (Du Toit in sod., 2006; Levensgood in Boulton, 2004; Boulton, 2001).

Preglednica 1: Primerjava pH, prostega in vezanega SO<sub>2</sub>, vsebnosti alkohola in skupnega suhega ekstrakta, skupnih in hlapnih kislin pri kontrolnem (K) in končnem (Mox) vzorcu

Table 1: Comparison of pH, free and bounded SO<sub>2</sub>, alcohol content and total dry extract, total and volatile acids between control (K) and microoxidated (Mox) sample.

Parameter (Parameter)	K	Mox
pH	3,48	3,46
Prosti SO <sub>2</sub> (mg/L) (free SO <sub>2</sub> )	17	13
Skupni SO <sub>2</sub> (mg/L) (total SO <sub>2</sub> )	19	19
Vezani SO <sub>2</sub> (mg/L) (bounded SO <sub>2</sub> )	2	6
Titribilne kisline (g/L) pH 7,00 (titratable acids)	4,51	4,71
Skupne kisline (g/L) pH 8,20 (total acids)	4,91	5,14
Hlapne kisline (g/L) (volatile acids)	0,50	0,56
Vsebnost alkohola (vol.%) (alcohol content)	11,32	11,33
Skupni ekstrakt (g/L) (total dry extract)	22,2	23,2

Na osnovi rezultatov končne kemijske analize (preglednica 1) lahko opazimo zmanjšanje vsebnosti prostega SO<sub>2</sub> od 17 mg/L na 13 mg/L, kar ni posledica vezave s kisikom, kajti kisik se je porabljal v kemijskih reakcijah polimerizacije. Količina vpihovanega kisika ni povzročila njegove akumulacije in s tem morebitnih reakcij s prostim žveplovim dioksidom (Carmen Llaudy in sod., 2006). Povečanje vsebnosti vezanega SO<sub>2</sub> za 4 mg/L kaže predvsem na stabilizacijo nastalih barvnih kompleksov. Rahlo se je povečala vsebnost hlapnih kislin od 0,50 g/L na 0,56 g/L, kar nekoliko več kot navajajo literaturnimi podatki (Du Toit in sod., 2006) in titribilnih kislin od 4,51 g/L na 4,71 g/L oziroma skupnih kislin od 4,91 na 5,14 g/L. Skupni suhi ekstrakt vina sestavljajo po definiciji O.I.V. pri 100 °C nehlapne komponente vina (sladkorji, fiksne kisline, organske soli, idr.). Končni vzorec je vseboval 1 g/L več skupnega suhega ekstrakta od kontrolnega vzorca, kar se pogosto navaja za mikrooksidirana bala vina. Alkohol in pH vina se nista bistveno spremenila, kar ugotavljajo tudi Castellari in sodelavci (2000) v šestmesečnem postopku mikrooksidacije.

## 5 ZAKLJUČEK

Poskus je pokazal, da je vpihovanje kisika med zorenjem vina povzročilo zmanjšanje vsebnosti skupnih in taninskih fenolov in povečanje polimernih barvil, odpornih na vezavo z SO<sub>2</sub>. Mikrooksidacija bistveno vpliva na stabilizacijo barve in polimerizacijo fenolnih snovi, kar pripomore k boljši senzorični oceni. Po končanem poskusu smo zasledili bistveno večji delež rumeno-rjavih in predvsem zelenih modrovijoličnih barvil, ob istočasnem zmanjšanju rdečih barvil. V bodoče bi bilo smiselno opraviti še senzorično analizo, ki je mi nismo izvedli. Sensorika je trenutno ena glavnih kontrolnih parametrov vodene mikrooksidacije, saj je delovanje mikrooksidacije običajno senzorično zaznavno, ne pa vedno dobro očitno v kemijskih

analizah. Mikrooksidacija je bistvenega pomena pri pridelovalcih, ki uporabljajo predvsem tanke iz nerjavnega jekla z namenom izboljšanja senzoričnega značaja vina. V bistvu je mikrooksidacija mlad tehnološki postopek, ki poskuša zamenjati naravne razmere zorenja v lesenih sodih. Zavedati se moramo, da lahko bodoče raziskave v tej smeri pripomorejo k boljši kakovosti in stabilnosti vin, kajti ni rečeno, da je količina kisika, ki ga prepušča les, optimalna za zorenje rdečih vin. S poznavanjem optimalnih potreb vina po kisiku za doseg najboljše kakovosti lahko dokončno nadomestimo uporabo lesenih posod s stališča dovajanja kisika.

## 6 VIRI

- Atanasova V., Fulcrand H., Cheynier V., Moutounet M. 2002. Effect of oxygenation on polyphenol changes in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, 458: 15-27.
- Blanchard L., Darriet P., Dubourdieu D. 2004. Reactivity of 3-mercaptohexanol in red wine: Impact of oxygen, phenolic fractions, and sulfur dioxide. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55: 115-120.
- 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*, 52: 67-87.
- Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, Chapman&Hall: 115-151.
- Carmen Llaudy M. del, Canals R., Gonzalez-Manzano S., Canals J.M., Santos-Buelga C., Zamora F. 2006. Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 4246-4252.
- Castellari M., Matricardi L., Arfelli G., Galassi S., Amati A., 2000. Level of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. *Food Chemistry*, 69: 61-67.
- Du Toit W.J., Pretorius I.S. Lonvaud-Funel A. 2005. The effect of sulfur dioxide and oxygen on the viability and culturability of a strain of *Acetbacter pasterianus* and a strain of *Brettanomyces bruxellensis* isolated from wine. *Journal of Applied Microbiology*, 98: 862-871.
- Du Toit W.J., Lisjak K., Marais J., Du Toit M. 2006. The effect of micro-oxygenation on the phenolic composition, quality and aerobic wine-spoilage microorganisms of different south African red wines. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 27: 57-67.
- García-Puente R.E., Alcalde-Eon C., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J.C., Escribano-Bailón M.T. 2006. Behaviour and characterisation of the colour during red wine making and maturation. *Analytica Chimica Acta*, 563: 215-222.
- Goals of micro-oxygenation. 2001. Sebastopol, Vivovation. (August 2001) <http://www.vinovation.com/MOotheory.htm> (16. apr. 2005): 18 str.
- Gómez-Plaza E., Gil-Muñoz R., López-Roca J.M., Martínez-Cutillas A., Fernández-Fernández J.I. 2001. Phenolic compounds and color stability of red wines: effect of skin maceration time. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52: 266 – 270.
- Gonzales Cartagena L., Perez-Zuñiga F. J., Bravo Abad F. 1994. Interactions of some environmental and chemical parameters affecting the color attributes of wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45: 43-48.

- Iland P., Ewart A., Sitters J., Markides A., Bruer N. 2000. Techniques for chemical analysis and quality monitoring during winemaking. 1<sup>st</sup> ed.. Campbelltown, Patrick Iland Wine Promotions: 98-99.
- Košmerl T., Kač M. 2004. Osnovne kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.
- Levengood J., Boulton R. 2004. The variation in the color due to copigmentation in young Cabernet Sauvignon wines. V: Red wine color: Revealing the mysteries. ACS symposium series; 886. Washington, American Chemical Society: 35-52.
- Margalit Y. 2004. Concepts in wine Chemistry, 2<sup>nd</sup> ed. San Francisco, The Wine Appreciation Guild: 389 str.
- Mazza G., Fukumoto L., Delaquis P., Girard B., Ewert B., 1999. Anthocyanins, phenolics and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 4009-4017.
- McCord J. 2003. Application of toasted oak and micro-oxygenation to aging of Cabernet Sauvignon wines. The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker, 474: 43-53.
- Microsigenazione – Microdue. 2005. Verona, JU.CLA.S. (marec 2005)  
<http://www.vason.com/contenuto/comune/prodottijuclas/franprodotti.htm> (25. apr. 2005): 5 str.
- Nel L. 2001. The use of micro-oxygenation technique. Wynboer: A Technical Guide for Wine Producers, Suider Paarl <http://www.wynboer.co.za/recentarticles/0101technique.php3> (30. avg. 2006): 4 str.
- Nemanič J., Kocjančič M., Resnik M., Žnidaršič-Pongrac V. 1997. Novi trendi v predelavi rdečega grozdja. V: Moderne tehnologije predelave in kakovost živil. 18. Bitenčevi živilski dnevi '97, Ljubljana, 12. in 13. junij 1997. Žlender B., Gašperlin L., Hočevar I. (ur.). Ljubljana. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 199-209.
- Otto C. 2003. The Vasse Felix approach to micro-oxygenation. Australian & New Zealand Wine Industry Journal, 18: 40-46.
- Parish M., Wolan D., Paul R. 2000. Micro-oxygenation – a review. The Australian Grapegrower & Winemaker, 438a: 47-50. <http://www.newworldwinemaker.com/article.asp?mode=Archive&ID> (25. apr. 2005)
- Paul R. 2002. Micro-oxygenation – where now? Australian Society of Viticulture and Oenology V: Use of Gases in Winemaking. Allen M., Bell S., Rowe N., Woll G. (eds.). Adelaide: 18-22.
- Pour Nikfardjam M. S., Dykes S. I. 2003. Micro-oxygenation research at Lincoln University part 3: Polyphenolic analysis of Cabernet Sauvignon wine under the application of micro-oxygenation. The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker, 468: 41-44.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Duburdieu D. 2000. Handbook of enology. Volume 2. The chemistry of wine stabilization and treatments. Chichester, John Wiley & Sons: 353-393.
- Rowe D., Kingsbury D. 1999. The micro-oxygenation technique. Australian & New Zealand Wine Industry Journal, 14: 46-47.
- Salmon J.M. 2006. Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: practical implications. LWT - Food Science and Technology. 39: 959-965.

Silva A., Lambri M. 2006. **Oxygen** measures and consumption in must and **wine**. *Analytica Chimica Acta*. 563: 391-395.

Vivas N., Glories Y. 1996. Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 103-107.