



Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer

RAZISKOVALNA NALOGA

VPLIV TEHNOLOŠKE ZRELOSTI GROZDJA NA POTEK ALKOHOLNE FERMENTACIJE

Raziskovalno področje: interdisciplinarno – kemijska tehnologija in agronomija

Avtorja: Matic Sever, Samo Jaklin
Mentorica: mag. Nina Žuman, prof.

Ljutomer, 2022

Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer

RAZISKOVALNA NALOGA

VPLIV TEHNOLOŠKE ZRELOSTI GROZDJA NA POTEK
ALKOHOLNE FERMENTACIJE

Raziskovalno področje: interdisciplinarno – kemijska tehnologija in agronomija

RESEARCH PAPER

THE INFLUENCE OF TECHNOLOGICAL RIPENESS OF THE
GRAPE ON THE COURSE OF ALCOHOLIC FERMENTATION

Research area: interdisciplinary – chemical technology and agronomy

Avtorja: Matic Sever, Samo Jaklin
Mentorica: mag. Nina Žuman, prof.

Ljutomer, 2022

KAZALO VSEBINE:

POVZETEK	I
ABSTRACT	II
ZAHVALA	III
1 UVOD	1
1.1 Raziskovalna vprašanja	1
1.2 Hipoteze	1
1.3 Opis raziskovalnih metod dela	1
2 TEORETIČNI DEL	2
2.1 Splošno o fermentaciji	2
2.1.1 Glive kvasovke	2
2.2 Sorta vinske trte – beli šipon	3
2.3 Vino	4
2.3.1 Lastnosti vina	4
2.4 Tehnološka zrelost	6
3 EMPIRIČNI DEL	7
3.1 Potek dela	7
3.2 Inventar	8
3.2.1 Oprema in aparature	8
3.2.2 Mikroorganizmi	8
3.2.3 Rastopine	8
3.2.4 Reagenti	8
3.3 Metodologija raziskovanja	9
3.3.1 Delo na vinski trti	9
3.3.1.1 Obrezovanje trte	9
3.3.1.2 Škropljenje trte	9
3.3.2. Obiranje grozdja	10
3.3.3 Stiskanje grozdja	10
3.3.4 Priprava za ohranjanje stalne temperature med fermentacijo	11
3.3.5 Dodajanje selekcioniranih kvasovk	11
3.3.6 Analitične metode	11
3.3.6.1 Merjenje količine nastalega CO ₂	11
3.3.6.2 Merjenje stopnje alkohola	13
3.3.6.3 Merjenje količine nepovretega sladkorja	15
3.3.6.4 Merjenje pH vrednosti	16
3.3.6.5 Merjenje nivoja titracijskih kislin	17
3.3.7 Metode za obdelovanje podatkov	18
3.4 Rezultati	19
3.4.1 Količina nastalega CO ₂	19
3.4.2 Stopnja alkohola	20
3.4.3 Količina nepovretega sladkorja	21
3.4.4 pH vrednosti	21
3.4.5 Nivo titracijskih kislin	22

4 RAZPRAVA	23
5 ZAKLJUČEK	24
6 DRUŽBENA ODGOVORNOST	25
7 VIRI IN LITERATURA	26
7.1 Knjižni viri	26
7.2 Spletni viri	26
7.3 Viri slik.....	26
8 PRILOGE	28

KAZALO SLIK:

Slika 1: Zgradba glivne celice	2
Slika 2: Beli šipon	3
Slika 3: Potek dela	7
Slika 4: Del vzorcev	9
Slika 5: Fungicid namenjen zdravju grozdja in izboljšanju donosa	10
Slika 6: Dotikalni fungicid za zatiranje glivičnih bolezni v vinogradu	10
Slika 7: Obiranje grozdja.....	10
Slika 8: Selekcionirane kvasovke	11
Slika 9: Priprava za merjenje količine nastalega CO ₂	12
Slika 10: Prikaz slojev snovi v erlenmajerici	13
Slika 11: Vinomer	14
Slika 12: Refraktometer	15
Slika 13: Pogled na skalo refraktometra	15
Slika 16: Vernierijev vmesnik in senzor	16
Slika 14: pH lističi	16
Slika 15: Merjenje pH na delu vzorcev.....	16
Slika 17: Reagent modri lug.....	17
Slika 18: Barvni preskok pri merjenju nivoja titracijskih kislin.....	17

KAZALO GRAFOV:

Graf 1: Prikaz spreminjanja količine nastalega CO ₂ med alkoholno fermentacijo v odvisnosti od časa	19
Graf 2: Prikaz tvorbe CO ₂ tekom poteka alkoholne fermentacije	20
Graf 3: Prikaz tvorbe etanola tekom poteka alkoholne fermentacije	20
Graf 4: Prikaz količine nepovretega sladkorja med alkoholno fermentacijo	21
Graf 5: Prikaz spreminjanje pH vrednosti med potekom alkoholne fermentacije	22
Graf 6: Spreminjanje nivoja titracijskih kislin	22

KAZALO PREGLEDNIC:

Preglednica 1: prikaz pH vrednosti izmerjenimi s pH lističi	21
---	----

KAZALO PRILOG:

Priloga A: Izračun količine potrebne apnice	
Priloga B: Tvorba alkohola med alkoholno fermentacijo	
Priloga C: Poraba sladkorja med alkoholno fermentacijo	
Priloga D: Spreminjanje vrednosti pH med alkoholno fermentacijo	
Priloga E: Podatki o nivoju kisline med alkoholno fermentacijo	
Priloga F: Podatki o količini nastalega CO ₂ med alkoholno fermentacijo	
Priloga G: Podatki o masah vina uporabljenega pri merjenju izhajanja CO ₂	

POVZETEK

»Fermentacija je fenomen, ki igra v naravi zelo pomembno vlogo. Prisotna je v številnih vitalnih procesih biološkega značaja, razgrajuje velike in sestavljene molekule, utvarja nove, bolj uporabne in lažje sprejemljive za živali in ljudi.« (Nemanič, 2011, str. 63)

Ena izmed vrst fermentacij je alkoholna fermentacija oz. alkoholno vrenje, katere produkt je etanol. V primeru uporabe grozdja kot substrata za potek te reakcije, pri tem nastane vino. To ima lahko različne kvalitete, kot so vsebnost ogljikovega dioksida, barvo, sladkost, kakovost, kislost, alkoholna stopnja, aroma, tanini in starost.

Tehnološka zrelost je osnova za kvalitetno vino in predstavlja časovni okvir optimalnega razmerja med kislino in sladkorji za pridobitev raznolikih slogov le tega.

Z nalogo sva želela ugotoviti vpliv tehnološke zrelosti, na nekatere od prej naštetih kvalitet vina. Predvidevala sva, da tehnološka zrelost vpliva na kislost in sladkost ter ne vpliva na količino nastalega ogljikovega dioksida in etanola.

Najina predvidevanja sva poskušala potrditi z izvajanjem eksperimentov na dveh moštih pridobljenih iz tehnološko različno zrelih grozdjih, enake sorte. Ugotovila sva, da ima tehnološka zrelost vpliv na vse izbrane kvalitete vina.

Ključne besede: alkoholna fermentacija, tehnološka zrelost, mošt, kvalitete vina

ABSTRACT

"Fermentation is a phenomenon that plays a very important role in nature. It is present in many vital biological processes, breaking down large and complex molecules, forming new ones that are more useful and more easily accepted by animals and humans." (Nemanič, 2011, page 63)

One type of fermentations is alcoholic fermentation, the product of which is ethanol. If grapes are used as a substrate for this reaction, wine is produced. The wine can have different qualities such as carbon dioxide content, colour, sweetness, quality, acidity, alcoholic strength, aroma, tannins and age.

Technological ripeness is the basis for quality wine and represents the timeframe for the optimum ratio of acidity and sugars to produce a variety of wine styles.

The aim of this thesis was to determine the influence of technological maturity on some of the qualities listed above. We assumed that technological maturity affects acidity and sweetness and does not affect the amount of carbon dioxide and ethanol produced.

We tried to confirm our predictions by carrying out experiments on two musts obtained from technologically differently ripened grapes of the same variety. We have found that technological maturity has an impact on all the selected wine qualities.

Key words: alcoholic fermentation, technological ripeness, must, wine qualities

ZAHVALA

Zahvaljujema se predvsem mentorici za usmerjanje, pomoč, podporo in predloge med celotnim potekom raziskovalne naloge. Prav tako gre velika zahvala laborantki, ki nama je bujno spremljala dogajanje v laboratoriju ter nama dala tudi nekaj idej in najini šoli, ki je poskrbela za prostor in določene kemikalije potrebne za izvedbo poskusov. Pri zahvali ne moreva izpustiti najinih družin, ki sta nama poleg podpore, pri zapletih in nejasnostih, s svojim kletarskim znanjem vedno priskočili na pomoč.

1 UVOD

Vinarstvo je nekaj, nad čimer sva navdušena oba avtorja te naloge. Družini obeh, imata v lasti vinograd, zaradi tega pa sva oba, že od mladih nog spremljala, se učila in pomagala pri postopkih gojenja grozdja, pridelovanja vina in vzdrževanja vinograda. Zanimajo naju predvsem razlike v lastnostih pridobljenega vina, ki jih posredno, z spreminjanjem pogojev povzročijo vinogradniki pred in pa tudi po trgatvi. Zato sva se v tej nalogi odločila podrobneje raziskati vpliv tehnološke zrelosti grozdja na potek alkoholne fermentacije.

1.1 Raziskovalna vprašanja

Pri načrtovanju dela sva si zastavila naslednja raziskovalna vprašanja:

VPRAŠANJE 1: Ali tehnološka zrelost grozdja vpliva na količino nastalega CO₂ nastalega pri alkoholni fermentaciji.

VPRAŠANJE 2: Kako tehnološka zrelost grozdja vpliva na količino etanola v nastalem vinu?

VPRAŠANJE 3: Kako tehnološka zrelost grozdja vpliva na nivo titracijskih kislin in moč le teh v pridobljenem vinu?

VPRAŠANJE 4: Kako se stopnja sladkorja razlikuje med vinom, nastalim iz tehnološko bolj zrelega ter vinom nastalim iz tehnološko manj zrelega grozdja?

1.2 Hipoteze

Iz vprašanj sva si zastavila naslednje hipoteze:

HIPOTEZA 1: Tehnološka zrelost grozdja ne vpliva na količino produkta CO₂ nastalega pri alkoholni fermentaciji.

HIPOTEZA 2: Tehnološka zrelost grozdja ne vpliva na količino etanola v vinu.

HIPOTEZA 3: V primerjavi z vinom iz tehnološko bolj zrelega grozdja, je koncentracija oz. nivo titracijskih kislin pri vinu iz tehnološko manj zrelega grozdja višji, pH vrednost tega vina pa nižja.

HIPOTEZA 4: Stopnja sladkorja je pri vinu, ki je nastal iz tehnološko bolj zrelega grozdja, vedno višja od stopnje sladkorja v vinu iz tehnološko manj zrelega grozdja.

1.3 Opis raziskovalnih metod dela

Zastavljene hipoteze sva potrdila oz. ovrgla z izvajanjem eksperimentov, prvič na moštu iz tehnološko manj zrelega in drugič na moštu iz tehnološko bolj zrelega grozdja. Pred, med in po alkoholni fermentaciji sva iz izolirane posode, kjer sva hranila mošt odvzemala vzorce, na katerih sva izvajala poskuse.

V teoretičnem delu sva preučila vso potrebno gradivo, nato pa sva v empiričnem delu predstavila metode in eksperimente, ki sva jih izvedla ter rezultate, ki sva jih pri tem dobila. Na koncu sva razpravljava in dokončno preveriva hipoteze.

Odgovor na postavljena raziskovalna vprašanja in potrditev zastavljenih tez sva dobila z dokazom, da se vrednosti izmerjenih neznank skozi potek alkoholne fermentacije izvedene s tehnološko manj zrelim grozdem razlikujejo ali pa so enake rezultatom, pridobljenim tekom alkoholne fermentacije s tehnološko bolj zrelim grozdem.

2 TEORETIČNI DEL

2.1 Splošno o fermentaciji

Fermentacija ali z drugo besedo vrenje je metaboličen, biokemični proces, katerega pomen je anaerobno sproščanje energije, ki se porabi za sintezo ATP (adenozin trifostat).

Poznamo več vrst vrenja:

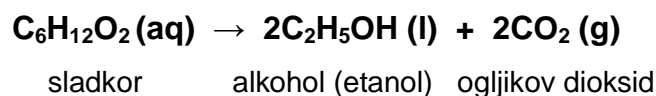
- alkoholno: sladkor se pretvori v alkohol - povzročajo ga glive kvasovke;
- mlečno-kislinsko: sladkor se spreminja v mlečno kislino - povzročajo ga mlečno-kislinske bakterije;
- ocetno-kislinsko: alkohol se pretvori v očetno kislino ob prisotnosti kisika - povzročajo ga bakterije.

Kot pravi J. Nemanič v knjigi vinarstvo so pri vseh fermentacijskih fenomenih prisotni trije dejavniki: kvasovke ali bakterije, fizikalno kemijski pogoji (temperatura, pritisk, atmosfera ter pospeševalni in zaviralni elementi...) in kemične spremembe (predvsem razkroj snovi in sinteza kemičnih snovi.)

Fermentacija ima tudi gospodarski pomen, saj jo uporabljamo za proizvodnjo bioetanola, kefirja, testa za kruh ter alkoholnih pijač.

Najina naloga se osredotoča na alkoholno vrenje. Pri tem se sladkorji (fruktoza, saharoza, glukoza) pretvorijo v alkohol (etanol) in ogljikov dioksid.

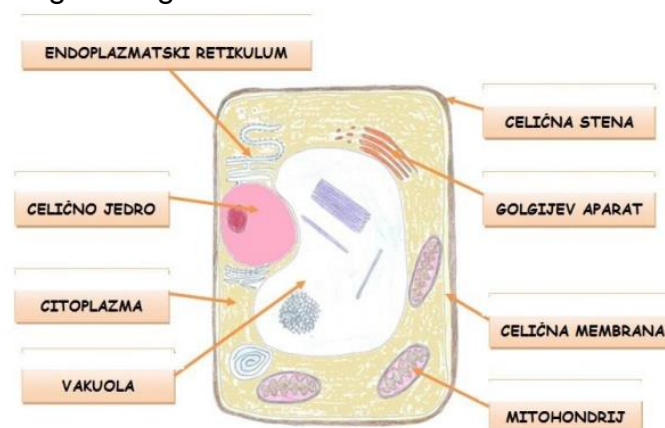
Enačba alkoholne fermentacije:



Pretvorba jagodnega soka v vino poteka s sodelovanjem različnih encimov, ki v tem primeru pripadajo glivam kvasovkam.

2.1.1 Glive kvasovke

Glive spadajo v domeno evkariontov in so enocelični organizmi, ki so se razvili iz mnogoceličarjev. Lahko so različnih oblik – okrogla, ovalna, elipsasta, podolgovata; zgradba njihove celice pa ima podobnosti tako z živalskimi, kot rastlinskimi. S slednjimi ji je skupna vakuola in celična stena, ostali organeli pa so enaki kot pri živalski celici. Na sliki je prikazana zgradba glivne celice:



Slika 1: Zgradba glivne celice

Glive kvasovke iz rodu *Sacharomyces cerevisiae* so skupina gliv, ki imajo pri alkoholni fermentaciji zelo pomembno vlogo, saj proizvajajo encime za katalizo tega. Imajo dve možnosti razmnoževanja, to je spolno (s sporami) in nespolno (z brstenjem), ki je veliko hitrejše od spolnega.

»Med zorenjem grozdja kvasovke, ki so večji del leta preživele v ali na tleh, pridejo z vetrom ali žuželkami na grozdne jagode v poprh. Njihovo število in razširjenost se zelo razlikuje od leta do leta, od vinograda do vinograda, odvisno od raznih dejavnikov, predvsem pa od podnebja in pesticidov.«(Nemanič, 2011, str. 65)

Glive kvasovke, se najpogosteje uporabljajo v živilski industriji – z njihovo pomočjo delamo kruh, vino in pivo, druge vrste gliv pa uporabljamo tudi v farmaciji (antibiotiki), in v znanosti za izdelavo gojišč za druge mikroorganizme.

Ker kvasovke predstavljajo biološki dejavnik alkoholne fermentacij, z dodajanjem teh h grozdju, pred vrenjem zagotovimo varnost alkoholnega vrenja. Pri načrtovanju tega je zato potrebno uporabiti za vsako stanje grozdja prilagojene kvasovke, da se izognemo zastojem.

2.2 Sorta vinske trte – beli šipon

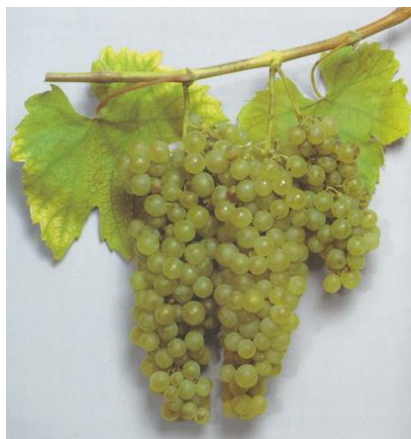
Vinogradi najinih družin so sestavljeni pretežno iz vinske sorte beli šipon. Zato je to tudi sorta, ki sva jo izbrala za delo pri tej raziskovalni nalogi.

Beli šipon je bela sorta vinske trte, pri nas pa uspeva predvsem v Podravju ter nekoliko manj v Posavju. Uspeva na toplih in zračnih legah, saj je preveč občutljiva na hladna in mokra tla.

Ima več sinonimov: Veliki mosler, Moslovec, Malnik, Maniak, Furmint feher... Spada med grozdja skupine Proles pontica, ime pa naj bi dobil v času Ilirskih provinc, ko so Francozi vinu nastalemu iz tega grozdja rekli *si bon* (je dobro).

Lastnosti belega šipona:

- list – podolgovat in srednje velik
- rozga je progasta, svetlo rjava in debela
- vršiček – svetlo zelen, volnat
- jagoda – temno ali svetlo zelena, z debelo jagodno kožico
- občutljiv na bolezni in pozebo
- dozoreva pozno in rodi bogato



Slika 2: Beli šipon

2.3 Vino

Vino je alkoholni produkt alkoholne fermentacije grozdnega mošta. Je najbolj priljubljena alkoholna pijača in na splošno blizu najbolj priljubljene pijače nasploh.

Takoj po vrenju ga imenujemo mlado vino, prvič pa ga po tradiciji poskusimo 11. novembra, na praznik Svetega Martina, čeprav ga vseskozi kontroliramo.

2.3.1 Lastnosti vina

Vina imajo več lastnosti/kvalitet in temu primerno jih členimo v posebne skupine.

Delitev glede na **vsebnost CO₂**, ki se kaže po notranjem tlaku ogljikovega dioksida v zaprti posodi, je zapisana v Zakonu o vinu (2006, čl. 2):

- mirno - notranji tlak ogljikovega dioksida ne sme biti v zaprti posodi pri temperaturi 20 °C več kakor 1,0 bara (Pravilnik o pogojih 2004, čl. 19)
- biserno - pridobljeno s primarnim in sekundarnim alkoholnim vrenjem. Z alkoholnim vrenjem ustvarjen tlak v zaprti posodi pri temperaturi 20 °C je večji od 1 bara in manjši od 2,5 bara (prav tam, čl. 46)
- peneče - vino, pridobljeno s primarnim in sekundarnim alkoholnim vrenjem. Z alkoholnim vrenjem ustvarjen tlak v zaprti posodi pri temperaturi 20 °C je najmanj 3 in največ 7 barov (Pravilnik o pogojih 2004, čl. 34)
- likersko ali posebno vino - pridelana po posebnih postopkih pridelave in lahko vsebujejo dodatke vinskega alkohola, vinskega destilata, saharoze, aromatičnih snovi ter vseh drugih snovi in sestavin rastlinskega izvora (Pravilnik o pogojih, čl. 48)

Vino, ki sva ga pri alkoholni fermentaciji, za delo v tej raziskovalni nalogi pridobila midva, spada med mirna vina. Zato so pri naslednjih lastnostih vin (razen barve), zapisane vrednosti, predpisane samo za mirna vina. Ostale skupine vin (biserna, peneča, likerska ali posebna vina) imajo lahko za pripadnost isti stopnji določene lastnosti, predpisano drugačno vrednost.

Po **barvi** mirno vino delimo na (Pravilnik o pogojih 2004, čl. 20):

- belo - iz belih sort grozdja
- rdeče - iz rdečih sort grozdja
- rose - iz rdečih sort grozdja po metodi za pridelavo belih vin
- rdečkasto vino - iz rdečih in belih sort grozdja

Sladkost se meri po ostanku nepovretega sladkorja v g/l. Pravilnik o pogojih (2004) v 21. členu deli mirno vino po ostanku nepovretega sladkorja na:

- suho - do 9 g/l, koncentracija skupnih kislin pa ni več kot 2 g/l pod koncentracijo nepovretega sladkorja
- polsuho - od 9 g/l do 12 g/l, če je koncentracija skupnih kislin manj kot 7 g/l, oziroma od 9 g/l do 18 g/l, če je koncentracija skupnih kislin več kot 7 g/l
- polsladko - od 18 g/l do 45 g/l nepovretega sladkorja
- sladko - nad 45 g/l nepovretega sladkorja

Pravilnik o postopku (2000, čl. 20) deli mirna vina po **kakovosti** (20-točkovni sistem) na:

- namizno vino (najmanj 12,1 točke) - vino, za katerega je grozdje potrgano znotraj pridelovalnega območja iz priporočenih ali dovoljenih sort grozdja
- deželno vino s priznano geografsko oznako – PGO (najmanj 14,1 točke) - namizno vino, katerega grozdje je potrgano znotraj vinorodnega območja, enakega ali manjšega od vinorodne dežele
- kakovostno vino z zaščitenim geografskim poreklom – ZGP2 (najmanj 16,1 točke) - vino, pri katerem mora biti celotna količina grozdja pridelana znotraj vinorodnega območja, enakega ali manjšega od vinorodnega okoliša iz priporočenih in dovoljenih sort grozdja in vsebuje vsaj 9 vol. % alkohola
- vrhunsko vino z zaščitenim geografskim poreklom – ZGP (najmanj 18,1 točke) - vino, ki mora izpolnjevati enake pogoje kot kakovostno vino ZGP.

Poleg teh lastnosti, po katerih jih členimo na v naprej določene skupine (tlak, barva, sladkost, kakovost) imajo vina še naslednje lastnosti po katerih jih ne delimo v nobene posebne skupine, ampak so te kljub temu zelo pomembne.

Ena izmed njih je **kislost**. V vinu kletarji merijo tako moč kisline, kot nivo titracijskih kislin. Glavnino kislin v grozdju tvorijo šibke organske kisline. »Največ je vinske, jabolčne in citronske kisline, v sledovih pa najdemo še številne druge, tudi nekaj neorganskih.« (Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica. 2022). Moč kislin se meri z pH vrednostjo, nivo titracijskih kislin pa kot koncentracija le teh na določen volumen vina (enota g/L).

Alkohol je element vina izražen kot volumski odstotek (vol. %) in pove, koliko alkohola vsebuje določen volumen (1 liter) vina. Pogosto imajo vina od 10 pa vse do 15 vol. %.

Določeni kletarji se odločijo, da bodo svojim vinom dodali dodaten okus in/ali vonj. Tako vino dobi specifično **aromo**. Obstaja veliko različnih arom ene izmed njih pa so npr. vanilja, maslo, jabolka, jagode...

Tanini so tisti element v vinu, ki »vino naredi "suho". Vsi tanini v vinu povzročajo trpek okus in grenkobo, podobno kot če ugriznemo v peške grozdne jagode. Tanini se tekom staranja vina spreminjajo. V mladih vinih so tanini lahko moteči in ostri, vendar se sčasoma spremenijo oziroma omehčajo.« (Planina, 2019)

Za ljubitelje vin pomemben faktor predstavlja **starost**. Od načina pridelavi in hranjenja je odvisno kako dolgo je vino možno starati. Lahko se pridelava in popije kot mlado – brez staranja (večina vin v Sloveniji), lahko se stara po par let – 2,3 tudi do 5 (manjši odstotek vin v Sloveniji), možno pa ga je starati tudi dalj časa – po 20, 50 let in še kaj več (zelo redko).

2.4 Tehnološka zrelost

Tehnološka zrelost je ena izmed osnov za kvalitetno vina in poznavanje te je ključno za pridelavo kakovostnega vina. »Dejansko je tehnološka zrelost trenutek optimalnega razmerja »sladkor/kislina« za pridelavo posameznih slogov vina.« (Nemanič, 2011, str. 39)

Poleg tega se grozdje lahko trga pred ali po polni zrelosti, odvisno od tehnološkega programa in ciljev. Poznavanje sorte je ključnega pomena tudi zato, ker se tehnološka zrelost preveri lahko šele takrat, ko je vino že narejeno. Vsaka vrsta ima različne lastnosti glede optimalne lege, temperature in vlage kar pomeni, da je tudi tehnološka zrelost odvisna od vrste grozdja – razlike med najbolj ranimi in najbolj poznimi sortami znašajo tudi 2-3 mesecev. »Določitev najboljšega roka trgatve je zahtevno opravilo. Napredni vinogradniki sami spremljajo zrelost grozdja v svojih vinogradih sami. V severnih predelih zemeljske oble je pomemben sladkor, v vročih, južnih vsebnost kislin. Tudi v Sloveniji imamo podnebno zelo različne lege, različne značaje vin in skušamo s trgatvijo »ujeti« najboljšo zrelost grozdja za slog vina, ki ga načrtujemo.« (Nemanič, 2011, str. 40)

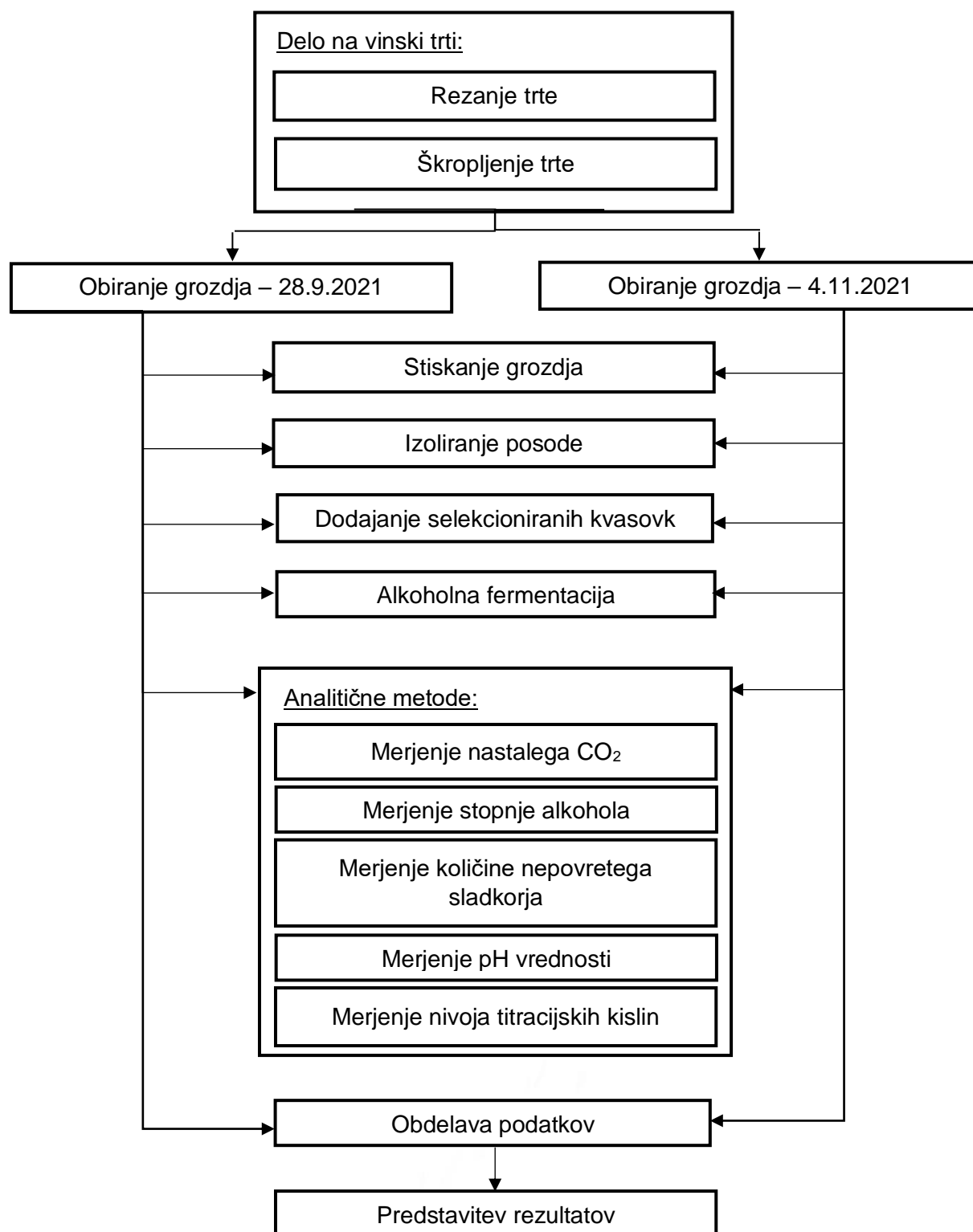
Za ugotovitev kakovosti vina so postavljene okvirne vrednosti sladkorja in kisline, ki le to določajo in jih delijo na namizno, kakovostno in vrhunsko. Izjema okvirnim vrednostim sta pozna trgatev in ledeno vino.

Pri pozni trgatvi je ključnega pomena, da je vsebnost sladkorja čim višja in da je pri grozdju prisotna žlahtna gniloba. Zaradi omenjenih pogojev je velikokrat potrebna selektivna trgatev kar pomeni, da zavržemo premalo zrelo in gnilo grozdje. Zaželeno sladkorna stopnja je 95°Oe, za kislino pa je primerna količina 6- 10 g/l.

Ledeno vino je podobno v smislu, da obiramo prezrelo grozdje z žlahtno gnilobo. Grozdje obiramo, ko to zamrzne. S tem načinom povečamo sladkor, ki dosega stopnje nad 140°Oe in kisline v količinah 9-12 g/l.

3 EMPIRIČNI DEL

3.1 Potek dela



Slika 3: Potek dela

3.2 Inventar

3.2.1 Oprema in aparature

Pri delu sva uporabljala naslednjo opremo in aparature:

- vinogradniška oprema:
 - škarje
 - vedro
 - mlin
 - stiskalnica
- zaščitna oprema:
 - halja
 - rokavice
 - očala
- standardna laboratorijska oprema:
 - erlenmajerica
 - pipeta
 - merilni valj
 - čaša
 - epruvete
 - lijaki
- laboratorijske aparature:
 - Vernierjev vmestik (Vernier LabQuest) s senzorjem
 - tehnica (Kern ABJ-NM/ABS-N)
 - refraktometer (32S - ATC)
 - vinomer (SD Duvančič)
 - termometer (Crofton GT-HT-03)
- ostalo:
 - pH lističi
 - baloni z vrvicami
 - plastične posodice (50mL – za zamrzovanje vzorcev)
- računalniški programi:
 - Word (besedilo)
 - Excel (grafi, preglednice, izračun povprečij)

3.2.2 Mikroorganizmi

Uporabila sva selekcionirane kvasovke *Cerevisiae* – SLC. Te so univerzalne kvasovke in se lahko uporabljajo tako za pridobivanje belega, kot tudi rdečega in rose vina.

3.2.3 Rastopine

Fiziološka raztopina. Uporabila sva jo za kalibriranje refraktometra pred začetkom meritev in spiranje vina iz njega med meritvami. Z njo sva prav tako spirala vino iz sensorja s katerim sva merila pH vrednost vina in med poskusi epruveto za merjenje nivoja titracijskih kislin.

3.2.4 Reagenti

Uporabila sva reagent *modri lug*. Služil je določanju nivoja titracijskih kislin.

3.3 Metodologija raziskovanja

Za delo pri tej raziskovalni trti sva si izbrala odsek goric, ki se nahajajo v Ljutomeru. Ta spada pod vinorodno deželo Podravje in v vinorodni okoliš Štajerske. Analize sva opravila v laboratoriju v gimnaziji Franca Miklošiča Ljutomer.

Pred začetkom poskusov sva spremljala dozorevanje grozdja, eden od naju pa je bil prisoten tudi pri obrezovanju, škropljenju in obiranju trte.

Opravila sva naslednje analize:

- merjenje količine nastalega CO₂
- merjenje stopnje alkohola
- merjenje vsebnosti nepovretega sladkorja
- merjenje pH vrednosti
- merjenje nivoja (koncentracije) kisline

Odvzemanje vzorcev za vse poskuse, ki sva jih upravljal je potekalo enako. To sva naredila s pipeto, s katero sva vzorec prenesla v plastično epruveto. To sva nato zatesnila in označila z datumom in številom »1.« za vzorec iz tehnološko manj zrelega ter številom »2.« za vzorec iz tehnološko bolj zrelega grozdja. Vse vzorce sva sproti polagala v večjo posodo z namenom zaščite in to shranila v zamrzovalnik. Postopek odzemanja vzorcev, je potekal vsakih 24 h ob natančno 18 uri, od dneva stiskanja grozdja pa vse do 30 dni po tem. Vse kemijske analize z temi vzorci sva opravila v januarju in februarju leta 2022.



Slika 4: Del vzorcev

3.3.1 Delo na vinski trti

Odsek goric, izbranih za delo je v celoti posajen z grozdno sorto beli šipon, ki je opisana v poglavju 2.2. Trta je stara okoli 20 let.

3.3.1.1 Obrezovanje trte

Obrezovanje trte je potrebno za neobremenjenost in zdravje same trte. Tako se vzdržuje stalna pridelava, ravnovesje med rastlinsko aktivnostjo rastline in rodnostjo za dobro kakovost grozdja. Obrezovanje dela trte, ki sva si ga izbrala je v celoti potekalo 11.3.2021.

3.3.1.2 Škropljenje trte

Škropljenje trte je potrebno za ohranjanje zdrave trte brez bolezni in nezaželenih zajedalcev. Trta vključena v poskus je bila škropljena 5 krat z mešanico kontaktnih fungicidov za zatiranje oidija in peronospore vinske trte.



Slika 5: Fungicid namenjen zdravju grozdja in izboljšanju donosa



Slika 6: Dotikalni fungicid za zatiranje glivičnih bolezni v vinogradu

3.3.2. Obiranje grozdja

Najina naloga se nanaša na vpliv tehnološke zrelosti, zato sva grozdje obrala dvakrat. Prvič sva to storila 28.9.2021 in drugič 4.11.2021. Količina, ki sva jo nabrala za vsak poskus je bila 6 kg. To sva naredila z namenom, da bi si zagotovila dovolj grozdnega soka za izvedbo vseh poskusov, tudi v primeru, če bi se kateri ponesrečil.



Slika 7: Obiranje grozdja

3.3.3 Stiskanje grozdja

Grozdje sva stisnila s hidravlično stiskalnico. Iz 6 kg tehnološko manj zrelega grozdja sva dobila 5,3 litrov mošta, iz 6 kg tehnološko bolj zrelega grozdja pa 5,6 litrov mošta.

3.3.4 Priprava za ohranjanje stalne temperature med fermentacijo

Na hitrost vrenja vpliva predvsem temperatura. Zato sva morala poskrbeti za izolacijo, ki bo vzdrževala stalno temperature posode v kateri se nahaja mošt. Sprva sva to želela storiti z vodno kopeljo, ampak sva se kasneje odločila za izolirano posodo, ker nama vodna kopel ni bila na voljo.

Doma sva našla škatlo, ki sva jo napolnila s stiroporjem v njo pa položila posodo z moštom. Ta je tam ostala do konca alkoholne fermentacije oz. do konca najinega poskusa.

3.3.5 Dodajanje selekcioniranih kvasovk

Stisnjenemu grozdnemu soku sva dodala kvasovke. Uporabila sva selekcionirane kvasovke *Cerevisiae* - SLC. Te se prodajajo v suhi obliki, zato jih je pred uporabo potrebno rehidrirati. Po navodilih proizvajalca jih hidrirala z 10-kratno količino vode in jih v sam mošt dodala priporočeno količino – 20/30 g/hl.

Izračun količine dodanih kvasovk:

$$\frac{25 \text{ g}}{x} \times \frac{100 \text{ l}}{5 \text{ l}} \quad x = \frac{125 \text{ gL}}{100 \text{ L}} \quad x = 1,25 \text{ g}$$

x – masa potrebnih kvasovk (v gramih)

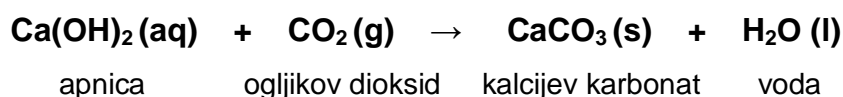


Slika 8: Selekcionirane kvasovke

3.3.6 Analitične metode

3.3.6.1 Merjenje količine nastalega CO₂

Najin prvi načrt merjenja količine produkta alkoholne fermentacije, ogljikovega dioksida je bilo z uvajanjem tega v apnico – kalcijev hidroksid. To sva planirala narediti z pripravo iz dveh erlenmajeric, pri čemer bi bila ena napolnjena z moštom, ki bi vrel in druga z apnico, med sabo pa bi bile povezane s cevko. Pri uvajanju CO₂ po cevki iz prve v drugo bi potekla naslednja reakcija:



Pri tem bi nastala oborina kalcijevega karbonata, ki bi se izločila kot trdna snov. Po tehtanju le te, bi lahko z križnim računom med masami in masnimi deleži prišla do količine ogljikovega dioksida, ki je bil potreben za nastanek tolikšne količine oborine. Merjenje izhajanja CO₂ z to metodo sva ovrgla, ker sva z predvidevanjem približne količine nastalega CO₂ pri fermentaciji, prišla do ugotovitve, da bi za dokaz te količine potrebovala 979,3 L apnice, kar je preveč potratno. Izračun je priložen kot priloga.

Druga metoda s katero sva se lotila in merjenje izhajanja CO₂ tudi opravila, je bila z balonom. Tega sva namestila na odprtino bučke.



Slika 9: Priprava za merjenje količine nastalega CO₂

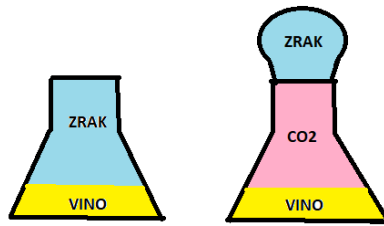
Za potrebo merjenja nastalega plina sva iz večje posode z vinom v izolirani posodi vse na 3 dni, odvezla in izolirala po 100mL vina. To količino sva vlila v erlenmajerico, na katere grlo sva nataknila balon. Po tem, ko je bil ta 24 ur nataknen na erlenmajerico, sva stehala maso celotne priprave, balon snela in maso samega CO₂ izračunala z naslednjo enačbo:

$$m_{CO_2} = m_{vse} - m_1 - m_2 - m_3 - m_4$$

m – masa CO₂; m_{vse} – celotna masa celotne priprave; m_1 – masa erlenmajerice;
 m_2 – masa balona; m_3 – masa zraka; m_4 – masa vina

Pri tej enačbi so konstante masa erlenmajerice (m_1), ki je 131,2052 g, masa balona (m_2), ki je 2,4007 g ter masa zraka (m_3), ki sva jo izračunala z spodaj prikazanim postopkom in je 0,1857 g.

Maso vina (m_4) sva dobila tako, da sva po tem, ko je bilo vino v erlenmajerici 1 dan in sva stehala maso vsega (m_{vse}), balon snela ter vino izlila in ga stehala v drugi posodi, ki je stala na tehnicah. Razlog za to je bilo predvidevanje, da bo nastali CO₂ v erlenmajerici izpodrinil zrak (zaradi večje molske mase), ki bo po tem pristal v balonu. Tako bi v primeru tehtanja vina v prvotni erlenmajerici in ne v drugi posodi delež le te predstavljala še masa CO₂, ki sva se je z izlivanjem znebila. Najino hipotezo sva tudi potrdila z gorečo trsko, ki je v erlenmajerici ugasnila, v balonu pa ne. Podatek mase vina sva zabeležila; tabela je dodana v prilogi.



Slika 10: Prikaz slojev snovi v erlenmajerici

Maso zraka (m_3) sva izračunala preko volumna, ki ga ta v erlenmajerici zasede:

$$V = V_2 - V_1$$

V – volumen zraka; V_2 – volumen celotne erlenmajerice; V_1 – volumen mošta v erlenmajerici (100 mL)

Volumen celotne erlenmajerice (V_2) je izračunan z uporabo vode, s katero sva do vrha napolnila samo erlenmajerico in naslednjo enačbo:

$$V_2 = \frac{m}{\rho}$$

V_2 – volumen vode = volumen erlenmajerice; m – masa vode; ρ – gostota vode (0,997 g/l)

Pri tem je masa vode (m) izračunana z naslednjo enačbo:

$$m = m_2 - m_1$$

m – masa vode; m_2 – masa erlenmajerice napolnjene z vodo; m_1 – masa prazne erlenmajerice

Ko sva poznala volumen zraka v erlenmajerici sva lahko izračunala množino zraka in z njo maso zraka v erlenmajerici napolnjeni z volumnom vina izračunanim prej (V_1):

$$n = \frac{PV}{RT}$$

n – množina zraka; P – tlak v prostoru (99,8 kPa); V – volumen zraka;
 R – plinska konstanta (8,31 kPa L mol⁻¹ K⁻¹); T – temperatura zraka (22°C , 295K)

Sledeči izračun mase zraka (m_3):

$$m_3 = n * M$$

m_3 – masa zraka; n – množina zraka; M – molska masa zraka (19 g/mol)

Za razliko od ostalih meritev, ki so bile opravljene januarja in februarja 2022 je bil ta postopek opravljen sproti, tekom spremljanja fermentacije, tako kot sva prej povedala z izoliranjem po 100mL mošta za 24 ur, na vsake tri dni. Tehtanje sva opravila po tem, ko sva odvzela in dala zamrzniti vzorce za ostale eksperimente. Po končanih meritvah sva dobljeno vrednost CO₂ pomnožila z 10 in tako sva za primerjanje in predstavitev rezultatov uporabila enoto g/L.

Zavedava se, da je ta način meritve v primerjavi z prvo metodo manj natančen, ampak sva se ga zaradi ogromne količine odpadne apnice pri tem, kljub temu odločila uporabiti. Volumen 100 mL sva izmerila z merilnim valjem in tudi pri tem se zavedava, da so bile možne minimalne razlike. Glede na to, da je cilj najine naloge ugotoviti vpliv tehnološke zrelosti na potek alkoholne fermentacije sva sklenila, da najbolj natančni rezultati za to niso potrebni.

Temperatura laboratorija v katerem sva delala eksperimente je bila 22°C oz. 195K, tlak v prostoru pa 99,8kPa.

3.3.6.2 Merjenje stopnje alkohola

Alkohol je izražen kot volumski odstotek (vol. %) in pove, kolikšen odstotek alkohola vsebuje določen volumen (1 liter) vina. Merjenje sva opravila z pripravo imenovano alkoholometer ali vinomer. Poteka tako, da v posodico zgoraj nalijemo vino, ki mu



Slika 11: Vinomer

želimo izmeriti odstotek alkohola, počakamo da nekaj kapljic steče skozi cevko priprave, nato pa celotno pripravo obrnemo in na skali odčitamo vrednost alkohola v merjenem vinu.

Volumski odstotek sva za lažjo predstavbo preračunala v koncentracijo etanola (grame), v litru vina. To sva naredila z enačbo za gostoto:

$$m = \rho * V$$

m – masa etanola; ρ – gostota etanola (0,785 g/l); V – volumen etanola

Pri tem je volumen (V) izračunan z naslednjo enačbo:

$$\frac{1000 \text{ ml}}{V} \times \frac{100 \%}{\text{vol. \%}}$$

V – volumen etanola; vol. % - izmerjeni volumski odstotek z vinomerom

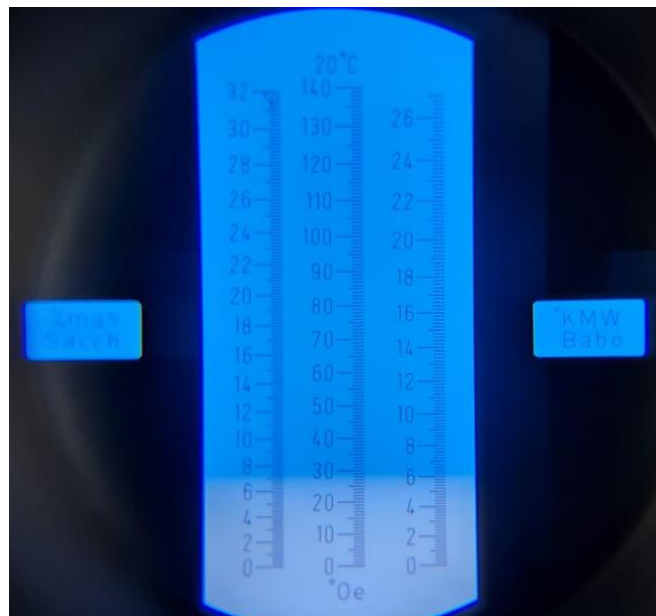
3.3.6.3 Merjenje količine nepovretega sladkorja

Enota za merjenje nepovretega sladkorja je *Oechsle* ($^{\circ}\text{Oe}$). Izvedla sva ga z refraktometrom.



Slika 12: Refraktometer

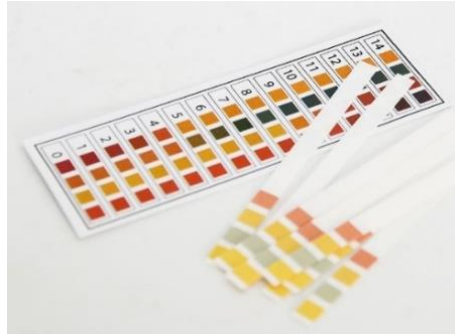
Ta deluje tako, da na prizmo naprave z pipeto nanese nekaj kapljic vina, ki mu želimo izmeriti sladkost, pokrovček zapremo in nato pogledamo skozi okular. Na njem je narisana skala s katere odčitamo izmerjeno vrednost.



Slika 13: Pogled na skalo refraktometra

3.3.6.4 Merjenje pH vrednosti

Vino vsebuje veliko kislin, vendar sta glavni dve, ki jo naravno najdemo v grozdju, vinska in jabolčna kislina. Merjenje jakosti kisline poteka z merjenjem pH vrednosti. To lahko naredimo z pH lističi, ki delujejo tako, da na listič kapnemo vino in po obarvanju primerjamo barvo lističa s priloženo barvno lestvico ter odčitamo Ph vrednost merjenega vina.



Slika 14: pH lističi



Slika 15: Merjenje pH na delu vzorcev

Po tem ko sva izmerila vrednosti z pH lističi sva ugotovila, da so vse enake – vsi lističi so se obarvali enake barve. Ker sva želela natančnejše rezultate in resnično ugotoviti ali in kako se spreminja pH vrednost med alkoholno fermentacijo sva to storila z pripravo sestavljeno iz Vernierjevega vmesnika ter senzorja. To je digitalna aparaturna, ki na zaslonu izpiše pH vrednost snovi v katero je namočen senzor.



Slika 16: Vernierjev vmesnik in senzor

3.3.6.5 Merjenje nivoja titracijskih kislin

Poleg intenzivnosti kisline lahko merimo tudi količino titracijskih kislin, ki je izražena v gramih na določen volumen (1 liter) vina. To poteka z titracijo in uporabo reagenta *modri lug*.



Slika 17: Reagent modri lug

V epruveto do črte označene z 0 nalijemo mošt/vino. Za tem dodajamo reagent vse do trenutka barvnega preskoka - v zeleno barvo. Nato s skale odberemo količino dodanega reagenta, ki hkrati pomeni tudi količino kislin v merjenem vinu.



Slika 18: Barvni preskok pri merjenju nivoja titracijskih kislin

3.3.7 Metode za obdelovanje podatkov

Vsi poskusi razen merjenja količine nastalega CO₂ so bili izvedeni v več ponovitvah zato sva podatke statistično obdelala. Rezultate poskusov sva podala kot povprečno vrednost treh meritev. Za izračun tega sva uporabila naslednjo formulo:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

\bar{x} - povprečna vrednost; n – število vzorcev; X_i - vrednost i -te meritve; n – število meritev

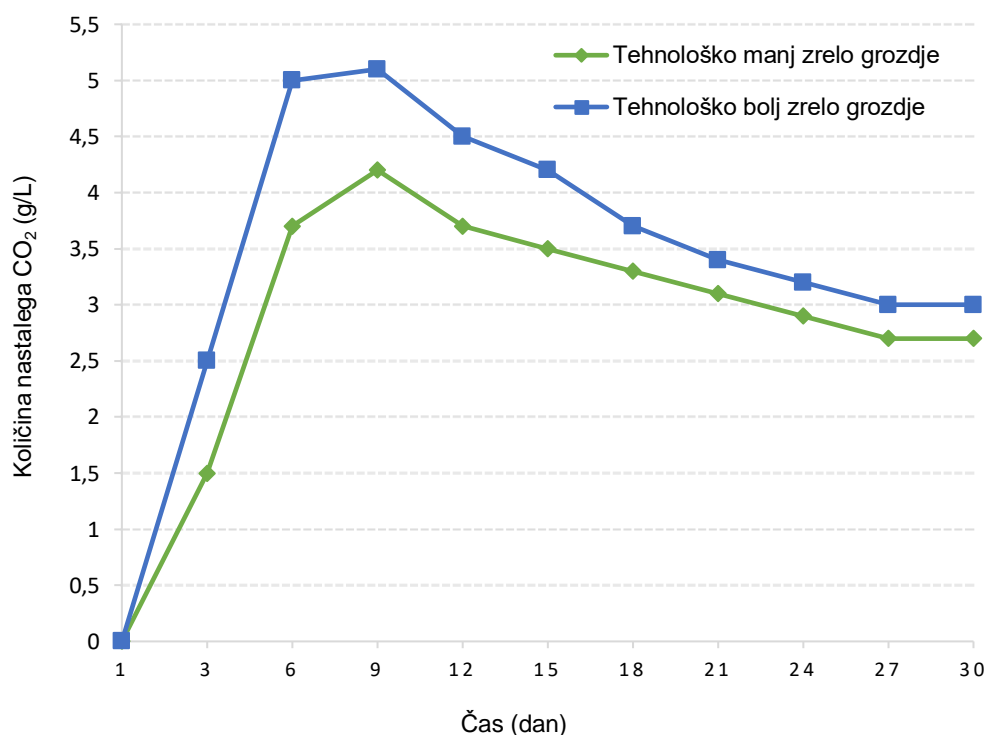
Vrednosti vseh meritev so podani v prilogi naloge.

Za lažjo predstavo in vizualizacijo sva pripravila grafe, ki služijo za ponazoritev rasti oz. padanja vrednosti merjene neznanke.

3.4 Rezultati

3.4.1 Količina nastalega CO₂

Graf 1 prikazuje podatke za meritve količine nastalega CO₂ in rastno krivuljo iz katere je jasno razvidna rast in padanje količine dnevnega nastanka CO₂. Razvidno je, da je višje dnevne vrednosti dosegalo tehnološko bolj zrelo grozdje. V 9 dnevu, dnevu nastanka največje količine produkta reakcije sva izmerila 5,1 g CO₂, pri tehnološko bolj zrelem grozdju, med tem ko ga je bilo pri tehnološko manj zrelem grozdju le 4,2; to je 17,7% manj. V dnevu 27 in dnevu 30 je bila vrednost pri tehnološko bolj zrelem grozdju za 11,1% višja; izmerila sva nastanek 2,7 g pri tehnološko manj zrelem grozdju in 3 g pri tehnološko bolj zrelem.

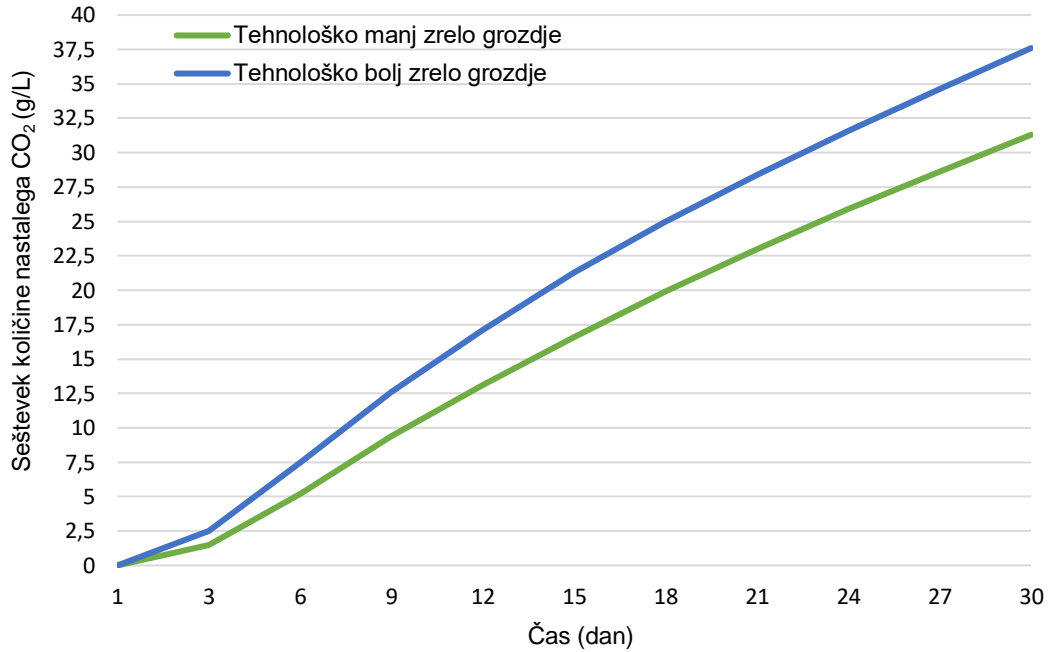


Graf 1: Prikaz spreminjanja količine nastalega CO₂ med alkoholno fermentacijo v odvisnosti od časa

Rastna krivulja je v obeh primerih tehnološko različno zrelega grozdja bila podobna. Trend strmega naraščanja traja prvih 6 dni meritev, naslednje 3 dni je naklon krivulje vidno manjši, po 9 dneh meritev pa količina nastalega CO₂ na dan začne padati in počasi pada vse do dneva 27 kjer stagnira.

Graf 2 prikazuje količino nastalega CO₂ do dneva odvzema vsakega posameznega vzorca. Jasno je razvidno koliko več ga nastalo pri tehnološko zrelejšem grozdju. Zadnja meritev predstavlja tudi končno količino nastalega CO₂ pri določeni fermentaciji. Tako ga je skupno pri zrelejšem grozdju nastalo 37,6 g kar je 6,3 g oz. 16,8% več.

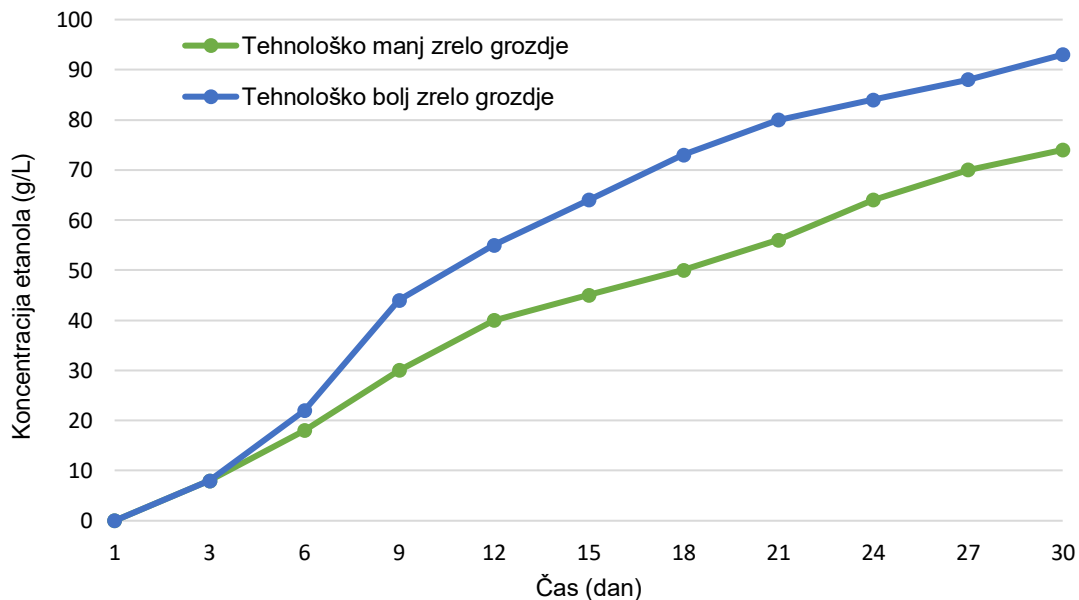
Vpliv tehnološke zrelosti grozdja na potek alkoholne fermentacije



Graf 2: Prikaz tvorbe CO₂ tekom poteka alkoholne fermentacije

3.4.2 Stopnja alkohola

Stopnja alkohola se v 30 dneh iz 0 g/l dvigne do 93 g/l pri tehnološko bolj in 74 g/l pri tehnološko manj zrelem grozdju. Ta dvig prikazuje graf 3. Razvidno, da je pri bolj zrelem od 3 dneva naprej etanol nastajal v večjih količinah na koncu pa sta se vrednosti razlikovali za 19g etanola na liter vina; 20% razlike. Volumski odstotek je tako na dan 30 pri tehnološko bolj zrelem znašal 12,3 vol.% in 9,8 vol.% pri tehnološko manj zrelem grozdju.

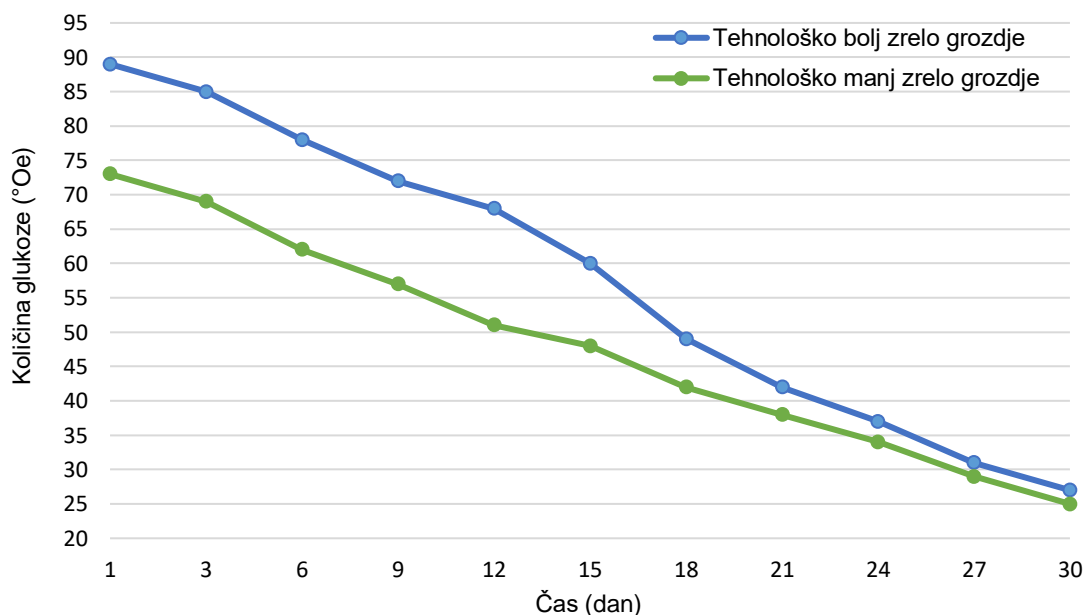


Graf 3: Prikaz tvorbe etanola tekom poteka alkoholne fermentacije

3.4.3 Količina nepovretega sladkorja

Prvič sva količino sladkorja zmerila pred izvajanjem eksperimentom. Ta je pri tehnološko manj zrelem grozdju znašal 73°Oe (165 g/l) in pri tehnološko bolj zrelem grozdju 89°Oe (204 g/l) ; za 18% razlike.

Graf 4 prikazuje količino nepovretega sladkorja, določen dan med alkoholno fermentacijo – rezultati so povprečje treh meritev. Količina nepovretega sladkorja prvi dan je bila enaka sladkosti grozdnih jagod pred samim vrenjem, nato pa je bila vsako meritev manjša. Krivulji se z vsako meritvijo približujeta ena drugi, 30. dan merjenja pa je razlika med njima 7% - tehnološko manj zrelo grozdje 25°Oe in tehnološko bolj zrelo grozdje 27°Oe.



Graf 4: Prikaz količine nepovretega sladkorja med alkoholno fermentacijo

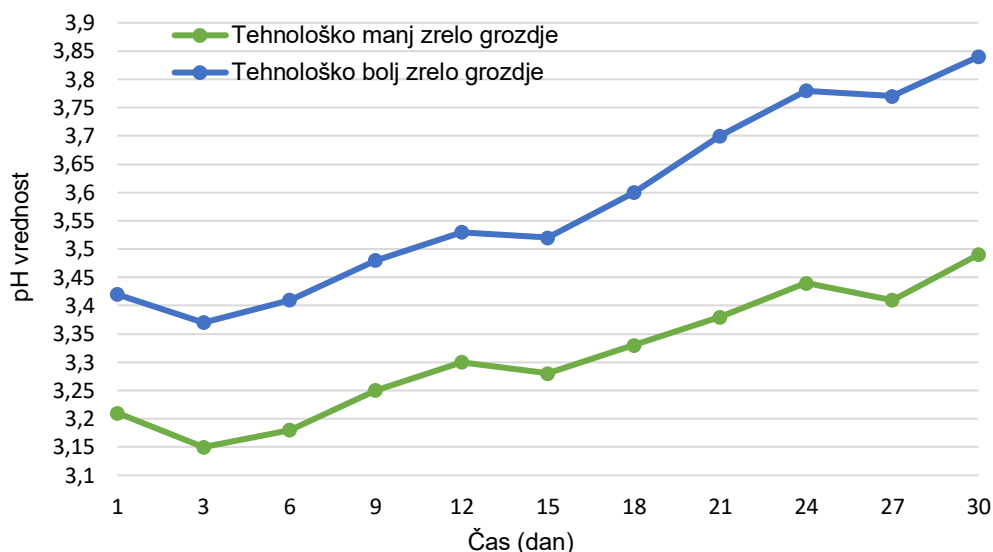
3.4.4 pH vrednosti

Preglednica prikazuje vrednosti pH, izmerjene s pH lističi. Ta je bila skozi celoten potek alkoholne fermentacije enaka 3.

Čas (dan)	pH vrednost	
	Tehnološko manj zrelo grozdje	Tehnološko bolj zrelo grozdje
1	3	3
3	3	3
6	3	3
9	3	3
12	3	3
15	3	3
18	3	3
21	3	3
24	3	3
27	3	3
30	3	3

Preglednica 1: prikaz pH vrednosti izmerjenimi s pH

Graf 5 prikazuje gibanje pH vrednosti merjene z pH metrom med vrenjem. Razvidno je, da se je ta skozi celoten proces pri obeh zrelosti ostala med 2 in 4; hkrati potrditev pristnosti izmerjenih vrednosti s pH lističi.

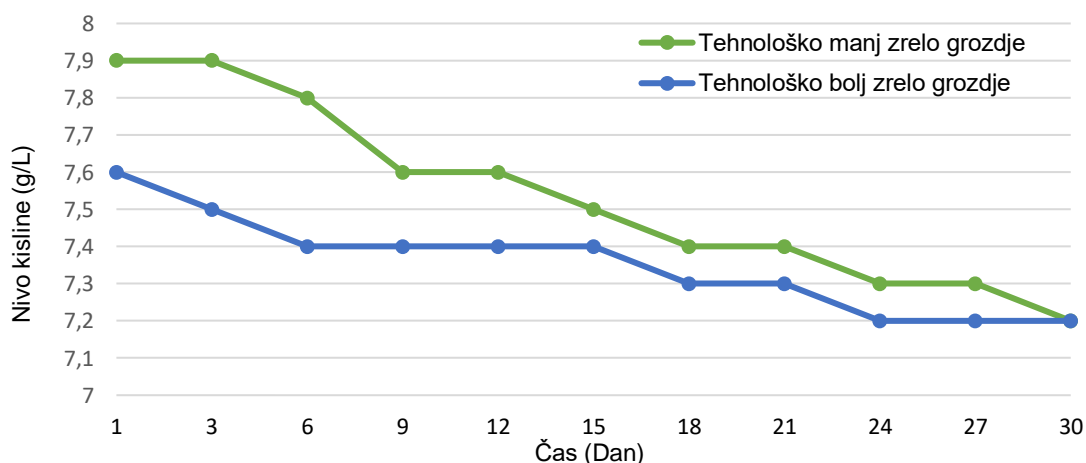


Graf 5: Prikaz spreminjanje pH vrednosti med potekom alkoholne fermentacije

Potek obeh krivulj je podoben. Na začetku merjenja je bil pH pri tehnološko manj zrelem grozdju 3,21 in 3,42 pri tehnološko bolj zrelem grozdju; za 6,14% več. Na sredini merjenja, na dan 15 je bila razlika 6,81 odstotna, pH vrednost pri tehnološko manj zrelem je bila 3,28, pri tehnološko bolj zrelem pa 3,52. Na 30 dan merjenja je bila razlika 9,11 odstotna, 3,49 pri tehnološko manj zrelem in 3,84 pri tehnološko bolj zrelem grozdju.

3.4.5 Nivo titracijskih kislin

Spreminjanje koncentracije oz. nivoja titracijskih kislin v vinu prikazuje graf 6. Razvidno je, da je bila vrednost teh na začetku višja pri tehnološko manj zrelem grozdju, tako pa je ostalo vse do konca merjenja, ko sta oba prišla na 7,2 g/L.



Graf 6: Spreminjanje nivoja titracijskih kislin

Koncentracija v tehnološko manj zrelem je bila na začetku večja za 3,9%, ta odstotek pa se je manjšal s skoraj vsako meritvijo. V dnevu 9 je bil višji za 2,8%, v dnevu 21 pa samo še za 1,4%. Na splošno je koncentracija intenzivnejše padala pri tehnološko manj zrelem grozdju.

4 RAZPRAVA

HIPOTEZA 1: Tehnološka zrelost grozdja ne vpliva na količino produkta CO₂ nastalega pri alkoholni fermentaciji.

Preko poskusov sva ugotovila, da se količina produkta CO₂ razlikuje glede nato ali sva tega merila pri tehnološko manj zrelem, ali pri tehnološko bolj zrelem grozdju. Tako je bila količina tega pri tehnološko bolj zrelem višja skozi celoten potek alkoholne fermentacije, tudi zadnji dan merjenja ko je razlika znašala 11,1%. Ker vrednosti pri tehnološko različno zrelem grozdju niso enake to pomeni, da ta na njih vpliva, in da je hipoteza napačna. Zaradi tega sva to hipotezo **OVRGLA**.

HIPOTEZA 2: Tehnološka zrelost grozdja ne vpliva na količino etanola v vinu.

Enako kot prejšnjo hipotezo sva tudi to **OVRGLA**. Dokaz za to leži v tem, da je bil nastanek etanola iz mošta pridobljenega iz tehnološko bolj zrelega grozdja intenzivnejši od nastanka le tega iz mošta pridobljenega iz tehnološko manj zrelega grozdja. Najlepše je bilo to vidno zadnji, 30 dan meritve ko je stopnja alkohola pri tehnološko bolj zrelem grozdju znašala 98 g/l, to je 24,5% več od stopnje v tehnološko manj zrelem grozdju, kjer je znašala 74 g/l. Ker se torej stopnja sladkorja razlikuje glede na to ali je merjena v tehnološko bolj ali tehnološko manj zrelem grozdju, je to dokaz tehnološka zrelost vpliva na njo in je ta hipoteza napačna.

HIPOTEZA 3: V primerjavi z vinom iz tehnološko bolj zrelega grozdja, je koncentracija oz. nivo titracijskih kislin pri vinu iz tehnološko manj zrelega grozdja višji, pH vrednost tega vina pa nižja.

Za razliko od prvih dveh hipotez sva to **POTRDILA**. Z poskusom titracije sva ugotovila, da je bil nivo kislin pri tehnološko manj zrelem grozdju višji skozi celotno alkoholno fermentacijo, razen na dan 30, ko je bila vrednost obeh 7,2 g/L. Prav tako sva z drugim poskusom merjenja pH vrednosti ugotovila, da je bila ta nižja skozi celoten potek. Povezava med nivojem in pH vrednostjo se nama zdi smiselna, saj manjša koncentracija kisline pomeni manj oksonijevih H₃O⁺ ionov in posledično višji pH, ter obratno.

HIPOTEZA 4: Stopnja sladkorja je pri vinu, ki je nastal iz tehnološko bolj zrelega grozdja, vedno višja od stopnje sladkorja v vinu iz tehnološko manj zrelega grozdja.

Stopnja sladkorja pri tehnološko bolj zrelem grozdju višja ostane skozi celoten potek alkoholne fermentacije. Hipotezo sva **POTRDILA**, saj je stopnja sladkorja pri tehnološko bolj zrelem grozdju pred potekom alkoholne fermentacije 89°Oe pri tehnološko manj zrelem grozdju pa le 73°Oe. Prav tako so bile višje vse ostale meritve (kar je lepo razvidno iz grafa slika 21), tudi zadnja meritev, ki pri tehnološko bolj zrelem grozdju meri 27°Oe, za razliko od manj zrelega, ki meri 25°Oe. To se nama zdi smiselno, saj sva v oba mošta dodala enako količino kvasovk, te pa so zaradi večje začetne koncentracije imeli pri tehnološko bolj zrelem grozdju več dela.

Iz te razprave bi lahko izpeljala tudi najino zadnjo, zaključeno ugotovitev: več sladkorja pomeni več CO₂ in več etanola. To potrdi tudi enačba alkoholne fermentacije. Ker morajo biti mase snovi na obeh straneh enake, iz tega sledi, da se s povečanjem količine reaktanta poveča količina produkta. Točno to se je zgodilo pri nama, ko je tehnološko bolj zrelo grozdje imelo višjo koncentracijo sladkorja in zaradi tega posledično tudi CO₂ in etanola.

5 ZAKLJUČEK

Najino raziskovanje je bilo zanimivo in brez večjih zapletov. Mogoče sva naredila manjšo napako s tem, ko sva si večino dela pustila za zadnja dva meseca pred rokom za oddajo, ampak sva se kljub temu potrudila in oddala raziskovalno nalogo na katero sva sama ponosna. Veliko novega sva se naučila o alkoholni fermentaciji in vinu, prav tako pa o samem postopku načrtovanja in izvajanja samega raziskovanja, saj je to prva obširnejša naloga s katero sva se spoprijela.

Po razpravi utemeljeni na rezultati poskusov, sva prišla do spoznanja, da tehnološka zrelost grozdja vpliva na vse lastnosti vina, ki sva jih merila. Vpliva na količino nastalega CO₂ in to tako, da ga pri tehnološko bolj zrelem grozdju nastane več. Vpliva tudi na količino alkohola v vinu, saj tega prav tako nastane več v tehnološko bolj zrelem grozdju, in na stopnjo sladkorja, ki je nižja pri tehnološko manj zrelem grozdju. Nasprotno je koncentracija titracijskih kislin pri tehnološko manj zrelem grozdju višja, zaradi tega pa je vrednost pH nižja.

Ocenila bi da so bile najine raziskovalne metode pravilne, za nadaljnjo raziskovanje v tej smeri pa bi definitivno priporočala izvedbo teh poskusov še z rdečim, ali še drugimi sortami belega grozdja. Po najinem mnenju bi za še točnejše ugotovitve vpliva tehnološke zrelosti na potek alkoholne fermentacije, bilo možno oz. potrebno to izvesti na še več moštih, iz grozdja utrganega v času različne tehnološke zrelosti.

V primeru, da bi se z to raziskovalno nalogo spoprijela še enkrat od začetka, bi si verjetno prizadevala, da bi za čas poskusov pridobila vodno kopel, ki omogoča boljše vzdrževanje toplote od izolirane posode, in merilnik koncentracije CO₂, napravo, ki omogoča natančnejše merjenje količine nastalega plina.

Kljub temu meniva, da je bilo najino raziskovanje uspešno in da poznavanje rezultatov te naloge omogoča vinogradništvo, z večjim nadzorom nad potekom alkoholne fermentacije in z boljšim poznavanjem vpliva, ki ga ima tehnološka zrelost na določene kvalitete vina (sladkost, kislost), kvalitete k zadovoljitvi katerih, stremi vsak kletar posebej.

6 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Pri izvajanju raziskave sva se trudila, da bi spoštovala pravila družbene odgovornosti. Tako sva pri škropljenju goric vključenih v raziskavo, ne potratno uporabljala škropiva in poskrbela, da sva embalaže primerno zavrgla. Primernejša alternativa teh škropiv bi bila uporaba ekoloških škropiv kot so Plantonic, Myco-Sin, Vitisan, Kumulus DF in Agree WG. Še bolj okolju prijazno bi bilo seveda vinogradništvo brez uporabe škropiv in drugih kemičnih sredstev.

Ko sva izvajala reakcije sva vestno porabljala vse reaktante in nisva nalašč ustvarjali prevelikih presežkov. Prav tako se zaradi prevelike potencialne količine odpadkov nisva odločila za merjenje nastalega CO₂, z uvajanjem tega v apnico, temveč sva te meritve izvedla z tehniko balona.

Po opravljenem empiričnem delu sva poskrbela za primerno odstranitev uporabljenih reagentov in drugih nastalih spojin. Ker so nekatere izmed teh snovi tudi nevarne, sva med opravljanjem vseh eksperimentov nosila laboratorijske plašče, očala in rokavice, ter se tako primerno zaščitila pred nevarnimi kemikalijami.

7 VIRI IN LITERATURA

7.1 Knjižni viri

Nemanič, J. (2011). *Vinarstvo*. Novo mesto: Zavod IRC Ljubljana.

7.2 Spletni viri

Sirk Polona (2017). *Tehnološka zrelost grozdja za pridelavo penin* (Diplomsko delo, Biotehniška fakulteta). Pridobljeno 12.1.2022 s <https://repositorij.uni-lj.si/lzpisGradiva.php?id=95715>.

Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za pridelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. Uradni list RS, št. 43/04, 127/04, 112/05 in 105/06 – Zvin (06.04.2004). Pridobljeno 13.1.2022 s <http://www.pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=PRAV3779>

Pravilnik o postopku in načinu ocenjevanja mošta, vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina. Uradni list RS, št. 32/00, 99/01 in 105/06 – Zvin (7.4.2000). Pridobljeno 16.1.2022 s <http://www.pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=PRAV303>

Zakon o vinu. Uradni list RS, št. 105/06, 72/11, 90/12 –ZdZPVHVVR, 111/13 in 27/17 – ZKme-1D (28.09.2006). Pridobljeno 13.1.2022 s <http://www.pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=ZAKO4816>

K. Gerl, H. Cvelfer (2015). *Prisotnost gliv kvasovk v vsakdanjem življenju* (Raziskovalna naloga). Pridobljeno 8.1.2022 s <https://www.knjiznica-celje.si/raziskovalne/4201504223.pdf>.

Planina, A. (2019). *Kaj so to tanini v vinu?* Pridobljeno 13.1.2022 s <https://vinovino.si/2019/01/12/kaj-so-to-tanini-v-vinu/>

Kislina in kislost grozdja, mošta in vina (2016). Pridobljeno 12.1.2022 s <https://www.jurana.com/novice/enovin-kislina.html>

7.3 Viri slik

Slika 1. Zgradba glivne celice. Pridobljeno 11.1.2022 s <http://url.zbirka.net/?rek5kzl89>.

Slika 2. Beli šipon. Pridobljeno 7.1.2022 s <https://www.centerizobrazbe.com/images/>.

Slika 4. Del vzorcev. Laboratorij Gimnazije Franca Miklošiča, Ljutomer 18.1.2022.

Slika 5. Fungicid namenjen zdravju grozdja in izboljšanju donosa. Pridobljeno 14.1.2022 s <https://www.karsia.si/banjo-forte>.

Slika 6. Dotikalni fungicid za zatiranje glivičnih bolezni v vinogradu. Pridobljeno 14.1.2022 s <https://www.karsia.si/folpan-80-wdg>.

Slika 7. Obiranje grozdja. Gorice, Ljutomer 28.9.2021.

Slika 8. Selekcionirane kvasovke. Pridobljeno 13.1.2022 s <https://mihaela.si/izdelek/kvasovke-fermirouge-fermivin-e73-100-g-selekcionirane-kvasovke-za-poudarjanje-arome-rdecih-vin/>.

Slika 9. Priprava za merjenje količine nastalega CO₂. Laboratorij Gimnazije Franca Miklošiča, Ljutomer 24.1.2022.

Slika 10. Vinometer. Pridobljeno 13.1.2022 s <https://agrocom.si/cache/agrocom/1617-1468-c3a645a422a601f3.jpg>.

Slika 11. Refraktometer. Pridobljeno 13.1.2022 s <https://www.mimovrste.com/i/54795475/550/550>.

Slika 12. Pogled na skalo refraktometra. Laboratorij Gimnazije Franca Miklošiča, Ljutomer 24.1.2022.

Slika 13. pH lističi. Pridobljeno 13.1.2022 s <https://www.milnica.si/product/ph-listici/>.

Slika 14. Merjenje Ph vrednosti na delu vzorcev. Laboratorij Gimnazije Franca Miklošiča, Ljutomer 18.1.2022.

Slika 15. Vernierjev vmesnik in senzor. Laboratorij Gimnazije Franca Miklošiča, Ljutomer 24.1.2022.

Slika 16. Reagent modri lug. Pridobljeno 13.1.2022 s https://agrocom.si/cache/agrocom/1744-16703_reagent_za_merjenje_kislina_100ml_nova-36f8ffc65b4edabc.jpg.

Slika 17. Barvni preskok pri merjenju nivoja t. kislin. Laboratorij Gimnazije Franca Miklošiča, Ljutomer 18.1.2022.

8 PRILOGE

Priloga A: Izračun količine potrebne apnice

$$V(\text{manj zrelo}) = 5,3 \text{ L}$$

$$V(\text{bolj zrelo}) = 5,6 \text{ L}$$

Po korelacijski tabeli med
sladkorno stopnjo mošta in
alkohola v vinu iz pravilnika
o pogojih. (ZVin 2000)

$$\text{Sladkost: } 73^{\circ}\text{Oe (manj zrelo)} \\ 89^{\circ}\text{Oe (bolj zrelo)}$$

$$\text{Alkohol: } 9,8 \text{ vol.\%} = 74 \text{ g/L} \\ 12,3 \text{ vol.\%} = 93 \text{ g/L}$$

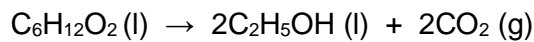
$$m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} - \text{manj zrelo}) = 74 \text{ g/L} \times 5,3 \text{ L} = 392,2 \text{ g}$$

$$m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} - \text{bolj zrelo}) = 93 \text{ g/L} \times 5,6 \text{ L} = 520,8 \text{ g}$$

$$m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} - \text{skupaj}) = 392,2 \text{ g} + 520,8 \text{ g} = 913 \text{ g}$$

$$M(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 46 \text{ g/mol}$$

$$m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 913 \text{ g}$$

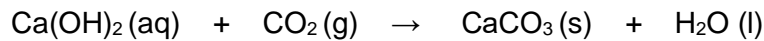


$$n(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = n(\text{CO}_2)$$

$$n(\text{CO}_2) = \frac{m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})}{M(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})} = \frac{913 \text{ g}}{46 \text{ g/mol}} = 19,85 \text{ mol}$$

$$M(\text{Ca}(\text{OH})_2) = 74 \text{ g/mol}$$

$$n(\text{CO}_2) = 19,85 \text{ mol}$$



$$n(\text{CO}_2) = n(\text{Ca}(\text{OH})_2)$$

$$n(\text{Ca}(\text{OH})_2) = 19,85 \text{ mol}$$

$$m(\text{Ca}(\text{OH})_2) = n(\text{Ca}(\text{OH})_2) \times M(\text{Ca}(\text{OH})_2) = 19,85 \text{ mol} \times 74 \text{ g/mol} = 1468,9 \text{ g}$$

$$m(\text{Ca}(\text{OH})_2) = 1468,9 \text{ g}$$

$$\text{Topnost}(\text{Ca}(\text{OH})_2) = 1,5 \text{ g/L}$$

$$V = \frac{m}{\text{topnost}} = \frac{1468,9 \text{ g}}{1,5 \text{ g/L}} = \underline{979,3 \text{ L}}$$

Priloga B: Tvorba etanola med alkoholno fermentacijo

Dan	Tehnološko manj zrelo grozdje					Tehnološko bolj zrelo grozdje				
	vol. %				g/l	vol. %				g/l
	1 meritev	2 meritev	3 meritev	povprečje meritev (\bar{x})		1 meritev	2 meritev	3 meritev	povprečje meritev (\bar{x})	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8
6	2,3	2,5	2,1	2,3	18	2,8	3	2,6	2,8	22
9	3,9	3,8	3,7	3,8	30	5,5	5,7	5,6	5,6	44
12	5,1	5,3	4,9	5,1	40	7	7,1	6,9	7	55
15	5,8	5,6	5,7	5,7	45	8,8	8,8	8,8	8,8	64
18	6,3	6,4	6,5	6,4	50	9,6	10	9,8	9,8	73
21	7,1	7,1	7,1	7,1	56	10,2	10,1	10,3	10,2	80
24	9	8,8	8,6	8,8	64	10,8	10,7	10,6	10,7	84
27	8,9	9	8,8	8,9	70	11,2	11,2	11,2	11,2	88
30	9,7	9,9	9,8	9,8	74	12,5	12,1	12,3	12,3	93

Priloga C: Poraba sladkorja med alkoholno fermentacijo

Dan	Tehnološko manj zrelo grozdje				Tehnološko bolj zrelo grozdje			
	Oechsle (°Oe)				Oechsle (°Oe)			
	1. meritev	2. meritev	3. meritev	povprečje meritev - (\bar{x})	1. meritev	2. meritev	3. meritev	povprečje meritev (\bar{x})
1	73	74	73	73	89	90	88	89
3	69	68	69	69	85	85	84	85
6	62	61	63	62	78	79	76	78
9	56	58	57	57	72	72	72	72
12	51	52	51	51	68	67	68	68
15	48	48	49	48	60	59	61	60
18	42	43	42	42	49	50	49	49
21	38	38	38	38	42	40	44	42
24	34	35	35	34	36	38	37	37
27	28	29	29	29	30	33	30	31
30	25	26	24	25	27	27	26	27

Priloga D: Spreminjanje vrednosti pH med alkoholno fermentacijo

Dan	Tehnološko manj zrelo grozdje				Tehnološko bolj zrelo grozdje			
	pH				pH			
	1. meritev	2. meritev	3. meritev	povprečje meritev - (\bar{x})	1. meritev	2. meritev	3. meritev	povprečje meritev - (\bar{x})
1	3,19	3,21	3,23	3,21	3,42	3,44	3,4	3,19
3	3,15	3,16	3,14	3,15	3,38	3,37	3,37	3,15
6	3,17	3,19	3,18	3,18	3,4	3,41	3,42	3,17
9	3,25	3,23	3,27	3,25	3,48	3,46	3,5	3,25
12	3,32	3,3	3,28	3,3	3,52	3,53	3,54	3,32
15	3,29	3,28	3,27	3,28	3,53	3,51	3,52	3,29
18	3,34	3,32	3,33	3,33	3,59	3,6	3,61	3,34
21	3,38	3,38	3,38	3,38	3,7	3,68	3,72	3,38
24	3,43	3,44	4,45	3,44	3,78	3,79	3,77	3,43
27	3,39	3,41	3,43	3,41	3,79	3,75	3,77	3,39
30	3,5	3,48	3,49	3,49	3,85	3,84	3,83	3,5

Priloga E: Podatki o nivoju kisline med alkoholno fermentacijo

Dan	Tehnološko manj zrelo grozdje				Tehnološko bolj zrelo grozdje			
	g/L				g/L			
	1. meritev	2. meritev	3. meritev	povprečje meritev - (\bar{x})	1. meritev	2. meritev	3. meritev	povprečje meritev - (\bar{x})
1	8	7,9	7,8	7,9	7,6	7,6	7,5	7,6
3	7,9	7,9	7,9	7,9	7,5	7,5	7,5	7,5
6	7,7	7,8	7,9	7,8	7,4	7,5	7,3	7,4
9	7,7	7,5	7,6	7,6	7,4	7,4	7,4	7,4
12	7,5	7,6	7,7	7,6	7,2	7,4	7,3	7,4
15	7,4	7,6	7,5	7,5	7,4	7,4	7,4	7,4
18	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	7,3	7,2	7,3
21	7,3	7,5	7,4	7,4	7,2	7,4	7,3	7,3
24	7,4	7,3	7,2	7,3	7,3	7,2	7,1	7,2
27	7,2	7,3	7,3	7,3	7,2	7,1	7,3	7,2
30	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2

Priloga F: Podatki o količini nastalega CO₂ med alkoholno fermentacijo

Dan	Tehnološko manj zrelo grozdje			Tehnološko bolj zrelo grozdje		
	stehtana masa celotne priprave (g)	izračunana masa CO ₂ (g)	masa CO ₂ na liter (g/L)	stehtana masa celotne priprave (g)	izračunana masa CO ₂ (g)	masa CO ₂ na liter (g/L)
3	232,3783	0,1523	1,523	232,4951	0,2534	2,5343
6	232,6119	0,37471	3,7471	232,7433	0,5011	5,0112
9	232,6603	0,42357	4,2357	232,753	0,5150	5,1499
12	232,6084	0,37203	3,7203	232,6951	0,4536	4,5358
15	232,5925	0,35424	3,5424	232,6623	0,4221	4,2211
18	232,5741	0,33243	3,3243	232,6119	0,3702	3,7017
21	232,5547	0,31332	3,1332	232,5842	0,3450	3,4497
24	232,5345	0,29444	2,9444	232,5648	0,3241	3,2409
27	232,5139	0,27186	2,7186	232,5505	0,3084	3,084
30	232,5133	0,27405	2,7405	232,5539	0,3031	3,031

Priloga G: Podatki o masah vina uporabljenega pri merjenju izhajanja CO₂

Dan	Tehnološko manj zrelo grozdje	Tehnološko bolj zrelo grozdje
	masa vina (g)	masa vina (g)
3	98,4144	98,4301
6	98,4256	98,4306
9	98,4251	98,4269
12	98,4248	98,4299
15	98,4267	98,4286
18	98,4301	98,4301
21	98,4298	98,4276
24	98,4285	98,4291
27	98,4304	98,4305
30	98,4276	98,4392