

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

mag. Tatjana VRŠČAJ VODOŠEK

**VPLIV SORTE, LETNIKA IN DODATKA STARTERSKE KULTURE V MOŠT ALI VINO  
NA POTEK JABOLČNO-MLEČNOKISLINSKE FERMENTACIJE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**THE INFLUENCE OF VARIETY, VINTAGE AND ADDITION  
OF STARTERS IN GRAPE MUST OR WINE  
ON THE COURSE OF MALOLACTIC FERMENTATION**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2007

Popravki:

Doktorska disertacija je bila opravljena na Katedri za vinarstvo in Katedri za tehnologije rastlinskih živil Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani. Analize aminokislin so bile opravljene na Katedri za analizo kemijo, Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerze v Ljubljani.

Senat Univerze v Ljubljani je dne 9.5.2006 odobril temo doktorske disertacije s področja živilstva ter za mentorico imenoval doc. dr. Tatjano Košmerl in za somentorico doc. dr. Barbaro Jeršek.

Mentorica: doc. dr. Tatjana KOŠMERL

Somentorica: doc. dr. Barbara JERŠEK

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik komisije za zagovor: prof. dr. Božidar ŽLENDER  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Mentorica in članica: doc. dr. Tatjana KOŠMERL  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Somentorica in članica: doc. dr. Barbara JERŠEK  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Članica: prof. dr. Stanka HERJAVEC  
Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo

Član: doc. dr. Matija STRLIČ  
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Oddelek za kemijo in biokemijo

Datum zagovora: 10. januar 2007

Doktorska disertacija je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Doktorandka:  
mag. Tatjana VRŠČAJ VODOŠEK

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- MD Dd  
DK UDK 663.221+663.252/.256:543.61.062(043)=863  
KG vino/ mošt/ jabolčno-mlečnokislinska fermentacija/ mlečnokislinske bakterije/ starterska kultura/ vinifikacija/ chardonnay/ malvazija/ sauvignon/ laški rizling/ kemijska sestava/ organske kisline/ sladkorji/ glicerol/ višji alkoholi/ hlapne spojine/ aminokislinske/ kvasovke/ oddajanje CO<sub>2</sub>  
AV VRŠČAJ VODOŠEK, Tatjana, mag., univ. dipl. inž. živilske tehnologije  
SA KOŠMERL, Tatjana (mentorica), JERŠEK Barbara (somentorica)  
KZ SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo  
LI 2006  
IN VPLIV SORTE, LETNIKA IN DODATKA STARTERSKE KULTURE V MOŠT ALI VINO NA POTEK JABOLČNO-MLEČNOKISLINSKE FERMENTACIJE  
TD Doktorska disertacija s področja živilstva  
OP XV, 166 str., 65 pregl., 28 sl., 47 pril., 159 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Jabolčno-mlečnokislinska fermentacija (MKF) je sekundarna fermentacija v vinarstvu, ki jo vodijo mlečnokislinske bakterije (MKB). Za kakovost vina je odločilnega pomena. Med MKB so bakterije vrste *Oenococcus oeni* najbolj zaželene. Osnovni namen MKF je zmanjšanje kislosti, zato je MKF zaželena v vinih iz hladnejših pridelovalnih območij. MKF zaradi številnih in raznolikih kemijskih reakcij, ki vključujejo mnoge spojine, zagotovo ni zgolj le način za doseg zmanjšanja kislosti. Začetek, potek, dokončanje in vodenje celotne vodene MKF so bistveno bolj predvidljivi in kontrolirani v primerjavi s spontano MKF. V dvoletnem poskusu smo izvajali vodene MKF v slovenskih belih vinih. V poskus smo vključili po dve sorti iz dveh podnebno različnih slovenskih vinorodnih dežel, toplejše Primorske (chardonnay, malvazija) in hladnejšega Podravja (sauvignon, laški rizling). V obdobju preizkušanja MKF smo v časovnih intervalih spremljali kemijske, mikrobiološke in senzorične parametre. Mikrovinifikacija letnikov 2004 in 2005 je potekala v 28 L vinskih posodah iz nerjavnega jekla in v 500 mL fermentacijskih stekleničkah. Pri sorti malvazija smo izvedli vinifikacije pri dveh temperaturah, 20 in 14 °C. Izvedba vinifikacij je vključevala koinokulacijo mošta in inokulacijo mladega vina po zaključeni AF z dvema tržnima starterskima kulturama MKB vrste *Oenococcus oeni*. Vinifikacije vodenih MKF smo izvedli v primerjavi s kontrolnima vinifikacijama, kontrolno z in spontano brez inokulacije starterske kulture kvasovk vrste *Saccharomyces bayanus*. Med poskusom v 28 L fermentacijski prostornini smo spremljali potek MKF z določevanjem vsebnosti organskih kislin, sladkorjev, hlapnih kislin, vrednosti pH, prostih aminokislin ter števila kvasovk in MKB. Med poskusom letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini smo spremljali oddajanje CO<sub>2</sub>. Po zaključenih fermentacijah smo v mladem vinu določili številne kemijske parametre, ki smo jih ponovili opravili po dveh mesecih zorenja. Dobljene rezultate smo statistično analizirali. Z rezultati določenih parametrov smo potrdili nekatere hipoteze in podali nove ugotovitve. Različna sestava moštov obeh letnikov je vplivala na potek MKF. Z vsebnostjo jabolčne kisline v moštih različnih sort in letnikov, je bila povezana njena razgrajena količina, kar je vplivalo na vsebnost določenih analitov (hlapne kisline, citronska kislina, fruktoza, skupni ekstrakt, skupni fenoli, diacetil, etil laktat, acetoin). Vodena in spontana MKF je potekala hitreje pri višjih pH in manjši vsebnosti jabolčne kisline. Med vodenimi in spontanimi vinifikacijami smo opazili zmanjšanje vsebnosti jantarne kisline. V okviru uporabljenih starterskih kultur MKB so bile opazne večje ali manjše razlike v poteku MKF, predvsem v začetku in trajanju. Uporaba različnih starterskih kultur MKB ni vplivala le na potek MKF, temveč tudi na kemijsko sestavo mladih vin in zorenih vin. Ugotovili smo vpliv časa inokulacije starterskih kultur MKB na njihovo rast. Na vsebnost višjih alkoholov in hlapnih spojin sta imela večji vpliv sorta in letnik kot čas dodatka in uporabljena starterska kultura MKB. Dokazali smo vpliv vodene MKF na aminokislinsko sestavo vin, na katero je imela večji vpliv sorta, kar se je izkazalo tudi pri količini oddanega CO<sub>2</sub>. Potrdili smo hitrejši potek MKF pri višji temperaturi. V nasprotju s predvidevanji je MKF potekala hitreje v manjši fermentacijski prostornini. Za vsa vina se je vodena MKF izkazala kot priporočljiv način izboljšanja kakovosti, čeprav je bil njen doprinos večji v belih vinih iz hladnejše vinorodne dežele.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

MD Dd  
DC UDK 663.221+663.252/.256:543.61.062(043)=863  
CX wines/ grape musts/ malolactic fermentation/ lactic acid bacteria/ starters/ vinification/ Chardonnay/ Malvasia/ Sauvignon/ Welsh Riesling/ chemical composition/ organic acids/ sugars/ glycerol/ higher alcohols/ volatile compounds/ amino acids/ yeast/ CO<sub>2</sub>  
AU VRŠČAJ VODOŠEK, Tatjana  
AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor) / JERŠEK, Barbara (co-advisor)  
PP SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101, Slovenija  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology  
PY 2006  
TI THE INFLUENCE OF VARIETY, VINTAGE AND ADDITION OF STARTERS IN GRAPE MUST OR WINE ON THE COURSE OF MALOLACTIC FERMENTATION  
DT Doctoral Dissertation  
NO XV, 166 p., 65 tab., 28 fig., 47 ann., 159 ref.  
LA SI  
AL sl/en  
AB Malolactic fermentation (MLF) is a secondary fermentation in winemaking and is conducted by lactic acid bacteria (LAB). MLF is crucial for wine quality. *Oenococcus oeni* is the most desired LAB. The main purpose of MLF is the reduction of acidity. It is therefore desired in wines from cooler winegrowing regions. As MLF includes numerous and heterogeneous chemical reactions that include many wine compounds, it is surely not only a way to reduce acidity. The beginning, the course, the conclusion and the managing of induced MLF are much more predictable and controlled than in the case of spontaneous MLF. In our experiment, we conducted MLF on two vintages of white Slovenian wines. We decided to include two cultivars from climatically different winegrowing regions: the warmer Primorska (Chardonnay, Malvasia) and the cooler Podravje (Sauvignon, Welsh Riesling). During the MLF trial period, chemical, microbiological and sensorial parameters were periodically analyzed. Microvinifications of 2004 and 2005 vintages were carried out in 28 L stainless steel fermentation tanks and in 500 mL fermentation glass. The Malvasia grape must was vinified at two different temperatures, 20 and 14°C. Vinification performance included coinoculation of grape must and inoculation of young wine after the completion of alcoholic fermentation with two different commercial LAB starters, species *Oenococcus oeni*. Vinifications of induced MLF were performed in comparison to controlled vinifications, with and without inoculation of yeast starters, species *Saccharomyces bayanus*. During the trial in 28 L fermentation volume, the course of MLF was monitored by defining the content of organic acids, sugars, volatile acids, pH value, free amino acids, the yeast and LAB population. The released CO<sub>2</sub> was monitored during the trial of 2004 vintage in 500 mL fermentation flasks. After the complete fermentation, many chemical parameters in young wines were analyzed and the same was done again after two months of ageing. The acquired results were statistically analyzed. With the results of individual parameters, some hypothesis were confirmed and some new ascertainments were made. The different chemical composition of musts of both vintages had an impact on MLF course. The concentration of malic acid in musts of different cultivars and vintages influenced its degradation level and it also had impact on the concentration of individual chemical parameters (volatile acids, citric acid, fructose, total extract, total phenols, diacetyl, ethyl lactate, acetoin). The courses of induced and spontaneous MLF were more rapid in the case of higher pH and lower concentration of malic acid. During induced and spontaneous MLF, a degradation of succinic acid was noticed. Among the used LAB starters, bigger or smaller differences in MLF kinetics were observed, especially in the beginning and in the duration. The use of different LAB starters not only had an impact on the course of MLF of young and aged wines but also on their chemical composition. We established the influence of the inoculation time of LAB starters on the growth of LAB. On the other hand, the concentration of higher alcohols and volatile compounds was more affected by the variety and vintage as by the inoculation time and used LAB starters. The impact of induced MLF on amino acid composition was proved, but the impact of the variety was more important and it showed also in the amount of released CO<sub>2</sub>. The faster course of MLF at a higher temperature was confirmed and in contrast with our predictions, a more rapid MLF was observed in a smaller fermentation volume. For all our wines, induced MLF has proved to be the recommended method for improving wine quality, although the contribution of MLF was higher in white wines from the cooler winegrowing region.

## KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VIII
Kazalo slik	XI
Kazalo prilog	XIII
Okrajšave in simboli	XV
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 UTEMELJITEV PREDLAGANE RAZISKAVE	1
1.2 NAMEN DELA	3
1.3 DELOVNE HIPOTEZE	3
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>4</b>
2.1 MLEČNOKISLINSKE BAKTERIJE VINA	6
2.1.1 <b>Bakterije vrste <i>Oenococcus oeni</i></b>	<b>7</b>
2.1.2 <b>Izvor mlečnokislinskih bakterij</b>	<b>8</b>
2.1.3 <b>Razvoj endogene populacije mlečnokislinskih bakterij</b>	<b>9</b>
2.1.4 <b>Starterske kulture mlečnokislinskih bakterij in inokulacija</b>	<b>10</b>
2.1.5 <b>Inhibicija mlečnokislinskih bakterij</b>	<b>11</b>
2.2 METABOLIZEM MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ IN VPLIV NA VINO	12
2.2.1 <b>Metabolizem sladkorjev</b>	<b>13</b>
2.2.1.1 Homofermentativni metabolizem heksoz	14
2.2.1.2 Heterofermentativni metabolizem heksoz	15
2.2.1.3 Metabolizem pentoz	16
2.2.2 <b>Metabolizem organskih kislin</b>	<b>16</b>
2.2.2.1 Metabolizem jabolčne kisline	17
2.2.2.2 Metabolizem citronske kisline in diacetila	18
2.2.2.3 Metabolizem vinske kisline	20
2.2.2.4 Metabolizem drugih organskih kislin	20
2.2.3 <b>Metabolizem poliolov</b>	<b>21</b>
2.2.3.1 Metabolizem glicerola	21
2.2.3.2 Metabolizem manitola	21
2.2.4 <b>Metabolizem aminokislin</b>	<b>21</b>
2.2.4.1 Metabolizem biogenih aminov	22
2.2.4.2 Metabolizem arginina in etilkarbamata	24
2.2.5 <b>Metabolizem eksocelularnih polisaharidov</b>	<b>25</b>
2.2.6 <b>Metabolizem vitaminov in mineralov</b>	<b>25</b>
2.2.7 <b>Metabolizem aromatičnih spojin</b>	<b>26</b>
2.3 <b>DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA MLEČNOKISLINSKO FERMENTACIJO</b>	<b>28</b>
2.3.1 <b>Fizikalni dejavniki</b>	<b>29</b>
2.3.1.1 Temperatura	29
2.3.1.2 Enološka praksa	29
2.3.2 <b>Kemijski dejavniki</b>	<b>30</b>
2.3.2.1 pH	30
2.3.2.2 Ogljikovi hidrati in poliola	30
2.3.2.3 Organske kisline	31
2.3.2.4 Dušikove spojine	31
2.3.2.5 Etanol	31
2.3.2.6 Žveplov dioksid	32
2.3.2.7 Kisik	32

2.3.2.8	Ogljikov dioksid	32
2.3.2.9	Fenolne spojine	33
2.3.2.10	Maščobne kisline	33
2.3.2.11	Pesticidi	33
<b>2.3.3</b>	<b>Biološki dejavniki</b>	<b>34</b>
2.3.3.1	Kvasovke	34
2.3.3.2	Bakterije	35
2.3.3.3	Bakteriofagi	36
<b>3</b>	<b>MATERIAL IN METODE</b>	<b>37</b>
3.1	MATERIAL	37
<b>3.1.1</b>	<b>Mošti</b>	<b>37</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Starterske kulture kvasovk in mlečnokislinskih bakterij</b>	<b>37</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Enološka sredstva</b>	<b>37</b>
<b>3.1.4</b>	<b>Kemikalije</b>	<b>37</b>
3.2	ZASNOVA POSKUSA	37
3.3	KEMIJSKE METODE	42
<b>3.3.1</b>	<b>Določanje organskih kislin</b>	<b>42</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Določanje sladkorjev in glicerola</b>	<b>43</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Določanje hlapnih spojin</b>	<b>44</b>
<b>3.3.4</b>	<b>Določanje aminokislin</b>	<b>47</b>
<b>3.3.5</b>	<b>Določanje prostega aminokislinskega dušika</b>	<b>48</b>
<b>3.3.6</b>	<b>Določanje skupnih fenolov</b>	<b>49</b>
<b>3.3.7</b>	<b>Določanje pH</b>	<b>49</b>
<b>3.3.8</b>	<b>Določanje titrabilnih in skupnih kislin</b>	<b>49</b>
<b>3.3.9</b>	<b>Določanje pufrne kapacitete</b>	<b>49</b>
<b>3.3.10</b>	<b>Določanje hlapnih kislin</b>	<b>49</b>
<b>3.3.11</b>	<b>Določanje sladkorne stopnje</b>	<b>50</b>
<b>3.3.12</b>	<b>Določanje reducirajočih sladkorjev</b>	<b>50</b>
<b>3.3.13</b>	<b>Določanje alkohola in skupnega ekstrakta</b>	<b>50</b>
<b>3.3.14</b>	<b>Določanje oddanega CO<sub>2</sub></b>	<b>50</b>
3.4	MIKROBIOLOŠKE PREISKAVE	51
<b>3.4.1</b>	<b>Določanje števila kvasovk</b>	<b>51</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Določanje števila mlečnokislinskih bakterij</b>	<b>51</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Določanje skupnega števila mikroorganizmov</b>	<b>51</b>
3.5	SENZORIČNA ANALIZA	52
3.6	STATISTIČNE METODE	52
<b>3.6.1</b>	<b>Statistična obdelava kemijskih parametrov in vsebnosti hlapnih spojin med vinifikacijami z letniki 2004 in 2005 v 28 L fermentacijski prostornini</b>	<b>52</b>
<b>3.6.2</b>	<b>Statistična obdelava vsebnosti aminokislin med vinifikacijami z letnikom 2005 v 28 L fermentacijski prostornini</b>	<b>53</b>
<b>4</b>	<b>REZULTATI Z RAZPRAVO</b>	<b>54</b>
4.1	VINIFIKACIJE LETNIKA 2004	54
<b>4.1.1</b>	<b>Kemijski parametri moštov letnika 2004</b>	<b>54</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Vinifikacije v 28 L fermentacijski prostornini z letnikom 2004</b>	<b>55</b>
4.1.2.1	Spremljanje organskih kislin	55
4.1.2.2	Spremljanje pH	58
4.1.2.3	Spremljanje hlapnih kislin	59
4.1.2.4	Spremljanje sladkorjev in glicerola	61
4.1.2.5	Kemijski parametri mladih in zorenih vin	64
4.1.2.6	Hlapne spojine v mladih in zorenih vinih	75
<b>4.1.3</b>	<b>Vinifikacije v 500 mL fermentacijski prostornini z letnikom 2004</b>	<b>81</b>
4.1.3.1	Spremljanje oddajanja CO <sub>2</sub>	81
4.1.3.2	Spremljanje rasti kvasovk, mlečnokislinskih bakterij in skupnih mikroorganizmov	84
4.1.3.3	Kemijski parametri mladih vin	85

4.1.3.4	Hlapne spojine v mladih vinih	88
<b>4.1.4</b>	<b>Vinifikacije pri dveh temperaturah v 500 mL fermentacijski prostornini z letnikom 2004</b>	<b>90</b>
4.1.4.1	Kemijski parametri mladih vin	90
4.1.4.2	Hlapne spojine v mladih vinih	92
4.2	VINIFIKACIJE LETNIKA 2005	93
<b>4.2.1</b>	<b>Kemijski parametri moštov letnika 2005</b>	<b>93</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Vinifikacije v 28 L fermentacijski prostornini z letnikom 2005</b>	<b>94</b>
4.2.2.1	Spremljanje organskih kislin	94
4.2.2.2	Spremljanje pH	97
4.2.2.3	Spremljanje hlapnih kislin	99
4.2.2.4	Spremljanje sladkorjev in glicerola	100
4.2.2.5	Spremljanje aminokislin	104
4.2.2.6	Spremljanje rasti kvasovk in mlečnokislinskih bakterij	110
4.2.2.7	Kemijski parametri mladih in zorenih vin	115
4.2.2.8	Hlapne spojine v mladih in zorenih vinih	127
4.2.2.9	Senzorična analiza	133
<b>4.2.3</b>	<b>Vinifikacije pri dveh temperaturah v 500 mL fermentacijski prostornini z letnikom 2005</b>	<b>135</b>
4.2.3.1	Kemijski parametri mladih vin	135
4.2.3.2	Hlapne spojine v mladih vinih	136
4.3	PRIMERJAVA MOŠTOV IN VIN LETNIKOV 2004 IN 2005	137
<b>4.3.1</b>	<b>Primerjava moštov letnikov 2004 in 2005</b>	<b>137</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Primerjava vin letnikov 2004 in 2005</b>	<b>137</b>
4.4	RAZPRAVA	141
<b>4.4.1</b>	<b>pH</b>	<b>141</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Organske kisline</b>	<b>141</b>
<b>4.4.3</b>	<b>Hlapne kisline</b>	<b>143</b>
<b>4.4.4</b>	<b>Sladkorji</b>	<b>143</b>
<b>4.4.5</b>	<b>Skupni ekstrakt</b>	<b>144</b>
<b>4.4.6</b>	<b>Višji alkoholi in druge hlapne spojine</b>	<b>144</b>
<b>4.4.7</b>	<b>Amino kisline in prosti aminokislinski dušik</b>	<b>145</b>
<b>4.4.8</b>	<b>Spremljanje oddajanja CO<sub>2</sub></b>	<b>146</b>
<b>4.4.9</b>	<b>Spremljanje populacije kvasovk in mlečnokislinskih bakterij</b>	<b>147</b>
<b>4.4.10</b>	<b>Vpliv temperature in fermentacijske prostornine</b>	<b>147</b>
<b>4.4.11</b>	<b>Korelacije</b>	<b>148</b>
<b>5</b>	<b>SKLEPI</b>	<b>150</b>
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>152</b>
6.1	POVZETEK	152
6.2	SUMMARY	154
<b>7</b>	<b>VIRI</b>	<b>157</b>
	<b>ZAHVALA</b>	
	<b>PRILOGE</b>	

---



## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Substrati in produkti metabolizma mlečnokislinskih bakterij (Jackson, 2000)	5
Preglednica 2: Seznam najbolj razširjenih mlečno-kislinskih bakterij v moštu in vinu (Ribéreau-Gayon in sod., 2000)	7
Preglednica 3: Vsebnosti biogenih aminov (mg/L) v rdečih in belih vinih iz različnih držav (du Toit, 2000)	23
Preglednica 4: Datumi trgatve posameznih kultivarjev za letnika 2004 in 2005	37
Preglednica 5: Vinifikacije letnikov 2004 in 2005 v 28 L in 500 mL fermentacijskih prostorninah	38
Preglednica 6: Dnevni časovni plan vzorčenja za določevanje kemijskih parametrov, organskih kislin, sladkorjev in glicerola med posamezno vinifikacijo iz 28 L fermentacijske prostornine	41
Preglednica 7: Dnevni časovni plan vzorčenja iz 500 mL fermentacijske prostornine z letnikom 2004 za mikrobiološke preiskave med posamezno vinifikacijo sorte malvazija	41
Preglednica 8: Dnevni časovni plan vzorčenja iz 28 L fermentacijske prostornine z letnikom 2005 za mikrobiološke preiskave med posamezno vinifikacijo	41
Preglednica 9: Dnevni časovni plan vzorčenja iz 28 L fermentacijske prostornine za določevanje aminokislin med posamezno vinifikacijo letnika 2005	42
Preglednica 10: Meje določitve (MD) in standardni odmiki (SO) določitev organskih kislin	43
Preglednica 11: Meje določitve (MD) in standardni odmiki (SO) določitev sladkorjev in glicerola	44
Preglednica 12: Meje določitve (MD) in standardni odmiki (SO) določitev hlapnih spojin	46
Preglednica 13: Meje določitve (MD) in standardni odmiki (SO) določitev aminokislin	47
Preglednica 14: Gradientna sestava mobilne faze za določevanje aminokislin	48
Preglednica 15: Kemijski parametri moštov letnika 2004	54
Preglednica 16: Kemijski parametri mladih vin chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	65
Preglednica 17: Kemijski parametri zorenih vin chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	66
Preglednica 18: Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	67
Preglednica 19: Kemijski parametri zorenih vin malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	68
Preglednica 20: Kemijski parametri mladih vin sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	69
Preglednica 21: Kemijski parametri zorenih vin sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	71
Preglednica 22: Kemijski parametri mladih vin laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	72
Preglednica 23: Kemijski parametri zorenih vin laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	73
Preglednica 24: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	77
Preglednica 25: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	77
Preglednica 26: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	78
Preglednica 27: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	78
Preglednica 28: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	79
Preglednica 29: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	79

Preglednica 30:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	80
Preglednica 31:	Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	80
Preglednica 32:	Skupna količina oddanega CO <sub>2</sub> (mg/L) po 30 dneh vinifikacij letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	81
Preglednica 33:	Rast kvasovk, skupnih mikroorganizmov in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	84
Preglednica 34:	Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	85
Preglednica 35:	Kemijski parametri mladih vin sauvignon letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	86
Preglednica 36:	Kemijski parametri mladih vin laški rizling letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	87
Preglednica 37:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	88
Preglednica 38:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih sauvignon letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	89
Preglednica 39:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih laški rizling letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	89
Preglednica 40:	Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2004 pri temperaturi 20 in 14°C vinifikacije v 500 mL fermentacijski prostornini	91
Preglednica 41:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2004 pri temperaturah 20 in 14°C vinifikacije v 500 mL fermentacijski prostornini	92
Preglednica 42:	Kemijski parametri moštov letnika 2005	93
Preglednica 43:	Rast kvasovk in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	111
Preglednica 44:	Rast kvasovk in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	112
Preglednica 45:	Rast kvasovk in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	113
Preglednica 46:	Rast kvasovk in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	114
Preglednica 47:	Kemijski parametri mladih vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	116
Preglednica 48:	Kemijski parametri zorenih vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	117
Preglednica 49:	Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	119
Preglednica 50:	Kemijski parametri zorenih vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	120
Preglednica 51:	Kemijski parametri mladih vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	122
Preglednica 52:	Kemijski parametri zorenih vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	123
Preglednica 53:	Kemijski parametri mladih vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	124
Preglednica 54:	Kemijski parametri zorenih vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	125
Preglednica 55:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	129
Preglednica 56:	Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	129

Preglednica 57:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	130
Preglednica 58:	Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	130
Preglednica 59:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	131
Preglednica 60:	Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	131
Preglednica 61:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih laški rizling letnika 2005 fermentaciji v 28 L fermentacijski prostornini	132
Preglednica 62:	Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	132
Preglednica 63:	Rezultati senzoričnega ocenjevanja mladih in zorenih vin letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	134
Preglednica 64:	Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2005 pri temperaturah 20 in 14°C v 500 mL fermentacijski prostornini	135
Preglednica 65:	Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2005 pri temperaturah 20 in 14°C v 500 mL fermentacijski prostornini	136

---

## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Mikroskopski posnetki MKB: <i>Oenococcus oeni</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> in <i>Pediococcus pentosaceus</i> (The microscopy facility, 2006)	6
Slika 2: Glavne metabolne poti pri MKB vrste <i>Oenococcus oeni</i> (Bauer in Dicks, 2004)	12
Slika 3: Embden-Meyerhof-Parnasova metabolna pot glukoze pri homo-fermentativnih MKB (Fugelsang, 1997)	14
Slika 4: 6-fosfoglukonatna metabolna pot glukoze pri heterofermentativnih MKB (Fugelsang, 1997)	15
Slika 5: Glavne metabolne poti citronske kisline pri MKB vrste <i>Oenococcus oeni</i> (Nielsen in Richelieu, 1999)	18
Slika 6: Metabolna pot arginina pri mlečnokislinskih bakterija (de Orduña in sod., 2001)	24
Slika 7: Dejavniki, ki vplivajo na mlečnokislinsko fermentacijo	28
Slika 8: Potek vinifikacijskega poskusa z letnikom 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	39
Slika 9: Potek vinifikacijskega poskusa z letnikom 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	39
Slika 10: Potek vinifikacijskega poskusa z letnikom 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	40
Slika 11: Potek vinifikacijskega poskusa z letnikom 2005 v 500 mL fermentacijski prostornini	40
Slika 12: Kromatogram standardne raztopine organskih kislin	43
Slika 13: Kromatogram standardne raztopine sladkorjev in glicerola	44
Slika 14: Kromatogram standardne raztopine hlapnih spojin	46
Slika 15: Kromatogram standardne raztopine primarnih aminokislin	48
Slika 16: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijo KIN1 sorte malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	56
Slika 17: Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami vin sorte malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	59
Slika 18: Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	60
Slika 19: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijo KIN1 sorte malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini	63
Slika 20: Spremljanje oddajanja CO <sub>2</sub> med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini	82
Slika 21: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijo KIN1 vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	95
Slika 22: Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	98
Slika 23: Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	99
Slika 24: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijo KIN1 sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini	101
Slika 25: Dendrogram moštov chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 glede na vsebnost aminokislin v moštih s programom Statistical data analysis R, metodo grupiranja Diana	104
Slika 26: Dendrogram vzorcev chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 glede na vsebnost aminokislin po 1/3 alkoholne fermentacije izdelan z uporabo programa Statistical data analysis R, metodo grupiranja Diana	109
Slika 27: Dendrogram vzorcev chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 glede na vsebnost aminokislin po 2/3 alkoholne fermentacije v primeru vinifikacij KON, KIN1, KIN2 in SP ter po zaključeni alkoholni fermentaciji v primeru vinifikacij IN1 in IN2 izdelan z uporabo programa Statistical data analysis R, metodo grupiranja Diana	109
Slika 28: Dendrogram mladih vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 glede na vsebnost aminokislin po 42 dneh vinifikacij izdelan z uporabo programa Statistical data analysis R, metodo grupiranja Diana	110

## KAZALO PRILOG

Priloga A1:	Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A2:	Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A3:	Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A4:	Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A5:	Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A6:	Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A7:	Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A8:	Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A9:	Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A10:	Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga A11:	Spremljanje oddajanja CO <sub>2</sub> med vinifikacijami sort chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini
Priloga A12:	Spremljanje oddajanja CO <sub>2</sub> med vinifikacijami sort chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini v času najbolj intenzivne alkoholne fermentacije
Priloga A13:	Rast kvasovk med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini
Priloga A14:	Rast mikroorganizmov med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini
Priloga A15:	Rast mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini
Priloga B1:	Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijske prostornine
Priloga B2:	Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga B3:	Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga B4:	Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga B5:	Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga B6:	Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga B7:	Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga B8:	Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga B9:	Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
Priloga B10:	Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

- Priloga B11: Vsebnost aminokislin med vinifikacijami sorte chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B12: Vsebnost aminokislin med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B13: Vsebnost aminokislin med vinifikacijami sorte sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B14: Vsebnost aminokislin med vinifikacijami sorte laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B15: Rast kvasovk med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B16: Rast mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B17: Spremljanje rasti mlečnokislinskih bakterij ter vsebnosti jabolčne in mlečne kisline med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B18: Spremljanje rasti mlečnokislinskih bakterij ter vsebnosti jabolčne in mlečne kisline med vinifikacijami vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B19: Spremljanje rasti mlečnokislinskih bakterij ter vsebnosti jabolčne in mlečne kisline med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga B20: Spremljanje rasti mlečnokislinskih bakterij ter vsebnosti jabolčne in mlečne kisline med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga C1: Primerjava kemijski parametrov moštov chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga C2: Primerjava kemijskih parametrov mladih in zorenih chardonnay letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga C3: Primerjava kemijskih parametrov mladih in zorenih vin malvazija letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski
- Priloga C4: Primerjava kemijskih parametrov mladih in zorenih vin sauvignon letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski
- Priloga C5: Primerjava kemijskih parametrov mladih in zorenih vin sorte laški rizling letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga C6: Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih sorte chardonnay letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga C7: Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih malvazija letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski
- Priloga C8: Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih sorte sauvignon letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga C9: Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih sorte laški rizling letnikov 2004 in 2005 iz poskusa
- Priloga C10: Regresijski koeficient ( $r$ ) med kemijskimi parametri mladih in zorenih vin letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini
- Priloga D1: Dodana količina  $K_2S_2O_5$  v mlada vina chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnikov 2004 in 2005 poskusa v 28 L fermentacijski prostornini za doseg prostega  $SO_2$  50 mg/L na osnovi linije vezave  $SO_2$
- Priloga E1: Fermentorji za izpeljavo fermentacij s prostornino 28 L (A) in 500 mL (B)
-

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

okrajšava, simbol	pomen
AF.....	alkoholna fermentacija
AK.....	aminokislina
BA.....	biogeni amini
CH.....	chardonnay
CK.....	citronska kislina
EK.....	etilkarbamat
FAN.....	prosti aminokislinski dušik (angl. free amino nitrogen)
FRU.....	fruktoza
GLI.....	glicerol
GLU.....	glukoza
IN1.....	vinifikacija inokulacije mlečnokislinskih bakterij 1 v mlado vino
IN2.....	vinifikacija inokulacije mlečnokislinskih bakterij 2 v mlado vino
JBK.....	jabolčna kislina
IPGV.....	integrirana pridelava grozdja in vina
JK.....	jantarna kislina
KIN1.....	vinifikacija koinokulacije kvasovk in mlečnokislinskih bakterij 1 v mošt
KIN2.....	vinifikacija koinokulacije kvasovk in mlečnokislinskih bakterij 2 v mošt
KON.....	kontrolna vinifikacija (brez dodatka mlečnokislinskih bakterij)
LR.....	laški rizling
MD.....	meja določitve
MK.....	mlečna kislina
MKB.....	mlečnokislinske bakterije
MKB1.....	mlečnokislinske bakterije 1 uporabljene v poskusu
MKB2.....	mlečnokislinske bakterije 2 uporabljene v poskusu
MKF.....	jabolčno-mlečnokislinska fermentacija
MLV.....	malvazija
PK.....	dejanska pufna kapaciteta
PS.....	vinifikacija z uporabo treh prehranskih sredstev
SAU.....	sauvignon
SO.....	standardni odmik
SE.....	skupni ekstrakt
SF.....	skupni fenoli
SP.....	spontana vinifikacija (brez dodatka starterskih kultur in prehranskih sredstev)
ŠK.....	šikimska kislina
TK1.....	titrabilne kisline
TK2.....	skupne kisline
VK.....	vinska kislina
Ala.....	alanin
Arg.....	arginin
Asn.....	asparagin
Asp.....	asparaginska kislina
Cys.....	cistein
Gln.....	glutamin
Glu.....	glutaminska kislina
Gly.....	glicin
His.....	histidin
Hyp.....	hidroksiprolin
Ile.....	izolevcin
Lev.....	levcin

Lys.....	lizin
Met.....	metionin
Phe.....	fenilalanin
Pro.....	prolin
Ser.....	serin
Thr.....	treonin
Trp.....	triptofan
Tyr.....	tirozin
Val.....	valin

---



# 1 UVOD

## 1.1 UTEMELJITEV PREDLAGANE RAZISKAVE

Proces pridelave vina je rezultat vrste biokemijskih procesov, ki jih vodijo različni mikroorganizmi, predvsem kvasovke in mlečnokislinske bakterije (MKB). Kvasovke so odgovorne za potek alkoholne fermentacije (AF), primarne fermentacije vinifikacije. MKB vodijo jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo (MKF), sekundarno fermentacijo v vinarstvu. V zvezi z MKF navkljub opravljenim raziskavam še vedno potekajo številne polemike o njenih prednostih v primerjavi s katerikoli drugim procesom v vinarstvu. To neskladje ne preseneča, saj MKF značilno spremeni kakovost vina; lahko jo izboljša ali poslabša. Zaradi tega se le redki vinarji odločajo za razmere vinifikacije, ki so ugodne za izvedbo MKF.

MKF navadno poteče po zaključeni AF. Vodijo jo lahko MKB rodov *Oenococcus*, *Lactobacillus* in *Pediococcus*, vendar so najbolj zaželene MKB vrste *Oenococcus oeni* (*O. oeni*), ki v veliki večini predstavljajo tržne starterske kulture MKB. Osnovni namen MKF je zmanjšanje kislosti vina, kar je zlasti zaželeno v vinih z veliko vsebnostjo kislin. MKF navadno poteka v suhih vinih. V primerjavi z rdečimi vini je MKF v belih vinih bistveno manj pogosta, njena uporaba pa je odvisna predvsem od sorte in vinorodnega področja. Vinarji, v večini iz hladnejših vinorodnih področij, imajo do MKF pozitiven odnos, še posebej za rdeča vina. V nasprotju imajo lahko vina iz toplejših območij nižjo kislinsko stopnjo, visok pH ali celo oboje. V tem primeru ima MKF lahko za vino negativne posledice, saj vodi do praznega okusa in mikrobiološke nestabilnosti vina. V zadnjem času se MKF vse pogosteje uporablja kot sredstvo za izboljšanje arome vina in ne le za zmanjšanje kislosti. Še posebno je to značilno za rdeča vina, čeprav se vse pogosteje uporablja tudi za bela vina. MKF zmanjša učinek rastlinskih not, poudarijo se sadne note v vonju in okusu, izboljša se harmoničnost, polnost in mikrobiološka stabilnost vina. MKF zaradi številnih in raznolikih biokemijskih reakcij, ki zajemajo organske kisline, saharide, poliole, aldehide, ketone, glikozide, fenolne kisline, estre, aminokisline, amine in druge spojine, zagotovo ni le način za doseg zmanjšanja kislosti.

Novi trendi v tehnologiji vinifikacij belih in rdečih vinih vključujejo vodeno MKF z vidika izboljšanja kakovosti vina. Pri nekaterih slovenskih vinih navadno MKF steče spontano, če zanjo vladajo ustrezne razmere. To pa pomeni nestalno kakovost med posameznimi letniki. Žal trg ponuja vina, pri katerih je MKF potekla ali poteka v stekleničnem vinu, kar je nezaželeno. Začetek, potek, dokončanje in vodenje inducirane MKF so bistveno bolj predvidljivi in kontrolirani v primerjavi s spontano MKF. Kontrolirana in vodena MKF je osnova za doseg večje kakovosti vina.

Endogeno mikrofloro grozdja in kletarske opreme v veliki večini predstavljajo kvasovke in tudi MKB. Ker kvasovke bolje rastejo v moštu kot MKB, se AF začne hitreje. Med AF zaradi naravne selekcije glede na interakcije med kvasovkami in MKB ter med bakterijami samimi, dominirajo MKB vrste *O. oeni*. MKB te vrste so najbolj zaželene zaradi dobre prilagodljivosti neugodnim razmeram, ki so v vinu (pH  $\leq$  3,5, etanol, malo hranilnih snovi) in tvorbe zaželenih aromatičnih spojin. Vendar pa lahko pri spontani MKF prevladajo MKB rodov *Lactobacillus* in/ali *Pediococcus*, ki jih uvrščamo med kvarljivce vin (Fleet, 2002; Liu, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Lonvaud-Funel, 1999; Fugelsang, 1997; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995).

MKF je v osnovi mikrobiološki način znižanja kislosti vina, ki je posledica dekarboksilacije jabolčne v mlečno kislino in CO<sub>2</sub>. V vinu se to odraža predvsem v svežini, polnejšem in bolj harmoničnem okusu. Kompleksnost arome, polnost in zaokroženost okusa ter kislinsko ravnotežje so najpomembnejši dejavniki vodene MKF, ki vplivajo na zelene senzorične parametre vina. Omenjene spremembe so posledica številnih, raznolikih in kompleksnih metabolnih procesov prisotnih mikroorganizmov (Fleet, 2002; Lui, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995). MKB kot vir ogljika in energije izkoriščajo sladkorje, predvsem monosaharide (glukozo, fruktozo, arabinozo), manj disaharide. Pri tem tvorijo laktat, acetat, etanol,

CO<sub>2</sub> in ATP. Za MKB določenih rodov, predvsem *Pediococcus*, je značilna sinteza polisaharidov, ki povzročajo nezaželeno vlečljivost vina (Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang in sod., 1997). MKB določenih rodov, vrst in sevov izkoriščajo kot vir ogljika in energije tudi citronsko kislino, ki jo pretvarjajo v laktat, acetat, diacetil in naprej v acetoin in 2,3-butandiol (Nielsen in Richelieu, 1999; Herjavec in Tupajič, 1998). MKB lahko porabljajo tudi vinsko kislino, kar je vedno povezano s poslabšanjem kakovosti oz. kvarom vina (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000). Najpomembnejši med polioli v vinu je glicerol, ki ima velik vpliv na senzorične lastnosti vina. Glicerol je produkt kvasovk med AF, medtem ko ga MKB lahko pretvarjajo v laktat, acetat in diacetil (Pasteris in de Saad, 2005; Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Acetaldehid lahko določene MKB pretvorijo v acetat in etanol, kar prispeva k zmanjšani porabi SO<sub>2</sub> (Osborne in sod., 2000). Znano je, da je aminokislinska sestava vina povezana z aminokislinsko sestavo grozdnega mošta, metabolizmom kvasovk med AF in njihovo avtolizo. MKB, odvisno od roda in celo seva, vključujejo v svoj metabolizem tudi aminokislino (AK), predvsem kot vir dušika. V neugodnih razmerah MKB metabolizirajo AK za pridobivanje potrebne energije. To vodi do nastanka zdravju škodljivih biogenih aminov (histamin) in etilkarbamata (Herbert in sod., 2005; Hernández-Orte in sod., 2005b; Soufleros in sod., 2003; de Orduña in sod., 2001, 2000a; Pripis-Nicolau in sod., 2000; Arena in sod., 1999), katerih vsebnosti so zakonsko omejene (Pravilnik o pogojih ..., 2004). V različnih metabolnih procesih MKB tvorijo hlapne spojine (estre, aldehide, ketone) in višje alkohole (Herjavec in sod., 2003; Delaquis in sod., 2000; Osborne in sod., 2000; Pripis-Nicolau in sod., 2000; Maicas in sod., 1999; Herjavec in Tupajič, 1998). Med hlapnimi spojinami najbolj izstopa diacetil z značilno noto po maslu (Bartowsky in Henschke, 2004; D'Incecco in sod., 2004; Flamini in sod., 2002; Nielsen in Richelieu, 1999) in ima glede na vsebnost pozitiven ali negativen vpliv na kakovost vina. Tržno dostopne starterske kulture MKB omogočajo uspešno dokončanje MKF. Na ta način med procesom nadzorujemo kakovost vina s stališča tvorbe stranskih aromatičnih produktov in varnosti vsebnosti zdravju škodljivih spojin.

Potek MKF v vinu je odvisen od številnih dejavnikov, ki vplivajo na metabolne procese MKB. Delimo jih na dejavnike medija (vina) in dejavnike mikrobnih interakcij. Najpomembnejši dejavniki medija so pH, temperatura, vsebnosti alkohola in SO<sub>2</sub>. Nobenega izmed njih ne smemo obravnavati ločeno od ostalih, saj delujejo kot celota. Za optimalno delovanje MKB težko določimo njihove točne meje. Acidofilen značaj MKB omogoča rast v vinu z nizkim pH do 3,2 (predvsem *O. oeni*). Pri pH med 2,9 in 3,0 še vedno rastejo, vendar zelo počasi. V praksi je razširjeno splošno pravilo, da MKB težko uspejajo pri vsebnosti SO<sub>2</sub> enaki ali večji od 50 mg skupnega SO<sub>2</sub>/L in 10 mg prostega SO<sub>2</sub>/L, vendar je to pogojeno s pH vina. Kot večina mikroorganizmov so tudi MKB občutljive na večjo vsebnost alkohola, vendar je to odvisno od rodu, vrste in seva. Optimalno temperaturno območje za rast in razmnoževanje *O. oeni* v vinu in razgradnjo jabolčne kisline je med 20 in 25 °C. Pri temperaturah od 15 do 18 °C se začetek MKF zamakne in tudi njeno trajanje je daljše, vendar to prispeva k ohranitvi hlapnih aromatičnih spojin. Na potek MKF ter rast in razvoj MKB vplivajo tudi vsebnosti fenolnih spojin, O<sub>2</sub>, maščobnih kislin itd. Zelo pomembne so tudi mikrobnе interakcije med kvasovkami in MKB, MKB samimi ter MKB in bakteriofagi. Pri inducirani in vodeni MKF so najpomembnejše interakcije med kvasovkami in MKB, na kar vpliva tudi čas inokulacije MKB z ozirom na inokulacijo kvasovk (koinokulacija mošta ali inokulacija mladega vina). Številni avtorji so ugotavljali povezave med omenjenimi dejavniki, ki tako pomembno vplivajo na MKF (Reguant in sod., 2005a, 2005b; Herve in sod., 2004; G-Alegría in sod., 2004; Fleet, 2003; Rosi in sod., 2003; Larsen in sod., 2003; Zapparoli in sod., 2003; Gockowiak in Henschke, 2003; Costello in sod., 2003; Delaquis in sod., 2000; Guzzo in sod., 2000; Huang in sod., 1996).

Dosedanje raziskave vpliva na kakovost slovenskih vin iz vseh treh vinorodnih dežel so bile maloštevilne, vendar so potrdile njen pozitiven vpliv na končno kakovost vina (Vrščaj in sod., 2006; Košmerl in sod., 2006; Muhar in Košmerl, 2005; Muhar, 2005; Košmerl in Bavčar, 2003).

## 1.2 NAMEN DELA

Temelj zasnove poskusa je bilo spremljanje poteka MKF v odvisnosti od dodatka dveh starterskih kultur MKB v mošt ali vino ter sorte in letnika v slovenskih belih vinih. Namen raziskave je bil ugotoviti potek MKF predvsem v odvisnosti časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB pri posamezni sorti in letniku. V poskus smo vključili po dve sorti iz hladnejšega (Haloze) in toplejšega (Koper) vinogradniškega področja. Odločili smo se za najbolj razširjeni slovenski sorti v posameznem vinorodnem okolišu, malvazijo in laški rizling ter klasični svetovni sorti ter chardonnay in sauvignon.

Rezultati raziskave imajo velik znanstveni in tudi prehranski pomen, saj bodo v veliki meri dopolnili dosedanje analitske metode in podatke o vsebnosti posameznih sestavin vina, v katerem je potekla vodena MKF. Z ugotavljanjem fizikalno-kemijskih parametrov grozdnega mošta bomo določili pravilno izbrano tehnologijo predelave in pridelave sortno karakterističnega in ekstraktno bogatejšega vina. Rezultati raziskave imajo izrazito aplikativno vrednost, ki se odraža na izboljšanju kakovosti in trajnosti pridelka, ob istočasno primernejši tehnologiji slovenskih belih vin.

Glede na različne mikroklimatske razmere v posameznih vinorodnih področjih pričakujemo, da bodo rezultati pomemben pokazatelj pozitivnega vpliva MKF pri posameznih sortah belih vin oziroma, da se bodo verjetno pokazale tudi značilne razlike v odvisnosti od letnika ter časa inokulacije starterske kulture MKB. Glede na našete številne dejavnike bomo dobili celovito sliko o različnem poteku MKF, njeni primernosti v povezavi z aromatiko ter nastalimi vzporednimi produkti.

## 1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Uvodoma smo že pojasnili, da ima MKF zelo velik vpliv na sestavo in kakovost vina. Raziskave v okviru doktorske disertacije so usmerjene v spremljanje MKF in njenega vpliva na fizikalno-kemijsko sestavo slovenskih belih vinih. Predvsem želimo ugotoviti vpliv MKF na izboljšanje sortnih lastnosti vin.

V okviru uporabljenih dveh sevov MKB pričakujemo razlike v poteku MKF, torej v začetku, trajanju in hitrosti MKF.

Glede na uporabljen sev MKB predvidevamo razlike v poteku MKF glede na čas dodatka starterske kulture MKB. Pri koinokulaciji v mošt pričakujemo hitrejši začetek in krajše trajanje v primerjavi z inokulacijo MKB v mlado vino.

V povezavi s spremljanjem vpliva fermentacijske prostornine in temperature menimo, da bo potek MKF hitrejši pri večji prostornini in višji temperaturi vinifikacije.

Z ozirom na različni potek MKF predvidevamo, da bo pri koinokulaciji v mošt dokončanje MKF popolnejše ter tako dosežena večja mikrobiološka stabilnost in senzorična kakovost vina.

Pričakujemo razlike tako v poteku MKF kot v vsebnostih nastalih končnih produktov, vezane na sorto, geografsko poreklo in letnik.

## 2 PREGLED OBJAV

Najpomembnejši proces pridelave vina je vsekakor AF, ki jo v primeru vodene in nadzorovane fermentacije vodijo kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*). Pretvorbo sladkorjev v alkohol in CO<sub>2</sub> spremljajo številne kemijske reakcije, ki vplivajo na sestavo vina in tako na njegove aromatične karakteristike. MKB so odgovorne za MKF, ki ima tudi zelo velik vpliv na kakovost in stil vina. Navadno MKF sledi AF. Tako kot poznamo endogeno mikrofloro kvasovk, je poznana tudi endogena mikroflora MKB. Spontana MKF je zelo nepredvidljiva, pri vinih z nižjim pH toliko bolj, ker je bolj zaželen. V izogib negotovosti ter napakam in boleznim vina se priporoča uporaba selekcionirane starterske kulture MKB, ki jo v veliki večini predstavljajo bakterije vrste *O. oeni*, lahko tudi določene vrste *Lactobacillus*, predvsem *Lactobacillus hilgardii*. Tako so začetek, potek in dokončanje MKF veliko bolj nadzorovani in predvidljivi.

Določene vrste kvasovk imajo sposobnost zmanjšanja vsebnosti kislin v vinih, vendar to ni MKF. Vsekakor je to tudi mikrobiološki način znižanja kislosti. Zmanjšanje vsebnosti kislin v vinu »Moslavac« (sin. Furmint) med AF so dosegli z uporabo dveh sevov kvasovke vrste *Saccharomyces paradoxus* (Herjavec in sod., 2003). Gene, ki so nosilci zapisa za encim malat permeazo, *mae1* iz kvasovke *Schizocaccharomyces pombe* in *mleA* iz MKB *O. oeni* so prenesli v industrijski sev vinske kvasovke *S. cerevisiae* ML01. Omenjena kvasovka je med AF sorte chardonnay popolnoma razgradila jabolčno kislino (Husnik in sod., 2006).

Glavni namen MKF je vsekakor zmanjšanje kislosti in povečanje pH kot posledica pretvorbe jabolčne kisline v mlečno kislino in CO<sub>2</sub>. Na splošno se poveča harmoničnost in pitnost vin, toda pretirano zmanjšanje kislosti se lahko odraža v praznem okusu, torej poslabšanju kakovosti vina. MKF je v bistvu biološki razkis, ki je zelo zaželen v vinih iz hladnejših vinorodnih področjih, kjer je vsebnost kislin večja. Zmanjšanje kislosti vin iz toplih vinorodnih področij ni priporočljivo, saj bi vina vsebovala premalo kisline in imela previsok pH, kar je ugodno za rast mikroorganizmov kvarljivcev. Kljub temu je MKF zaželen tudi v nekaterih rdečih in belih vinih iz toplih vinorodnih področij zaradi pozitivnega doprinosa MKF k aromi vina. Tako MKF pomeni za kakovost vina veliko več kot le zmanjšanje kislosti, saj obogati aromo in izboljša mikrobiološko stabilnost vina. V proces so vključeni številni substrati, ki so v vinu ali moštu prisotni v majhnih vsebnostih. Iz njih se tvorijo raznolike spojine, ki so kljub majhnim vsebnostim zelo pomembne. Zaželenost MKF je primarno odvisna od začetnega pH in kislosti grozdja. Na splošno velja, da je učinek MKF koristnejši, če je kislost velika in pH nizek. Nasprotno velja, da je v primeru majhne kislosti in visokega pH verjetnost pojava nezaželenih posledic MKF velika. Večja kot je vsebnost vinske kisline v moštu, manj verjetno je, da bo MKF značilno vplivala na kislost in pH vina. S spreminjanjem pH vina se spreminjajo tudi deleži različnih barvil. V splošnem velja ugotovitev, da je zmanjšanje obarvanosti vin zaradi MKF značilno le za vina svetlih barv ali za vina z visokim začetnim pH (Moreno-Arribas in Polo, 2005; Clarke in Bakker, 2004; Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Lonvaud-Funel, 1999; Fugelsang, 1997; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995).

Drugi pozitivni učinek MKF je izboljšana mikrobiološka stabilnost vina, ki je posledica metabolizma preostalih hranil po končani AF, saj MKB koristijo jabolčno in citronsko kislino, sladkorje, aminokislino in vitamine in druge spojine. Nasprotno splošno priznanemu mišljenju o izboljšanju mikrobiološke stabilnosti vina po zaključeni MKF, v določenih primerih temu ni tako. Poslabšanje mikrobiološke stabilnosti vina po MKF se zgodi v primeru, ko je začetni pH vina previsok, nad 3,5, kar ugodno vpliva na posledično rast MKB kvarljivcev, to so MKB rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus*. Tako vpliv MKF na mikrobiološko stabilnost vin ne izhaja le iz preostanka hranil za rast MKB (Clarke in Bakker, 2004; Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Lonvaud-Funel, 1999; Fugelsang, 1997; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995).

Največje polemike v zvezi s prednostmi in slabostmi MKF se nanašajo na spremembe arome vina. Značilne razlike v senzoričnih lastnostih so posledica raznolikosti prisotnih MKB različnih rodov, vrst

in tudi sevov. Preglednica 1 prikazuje nekatere substrate in produkte metabolizma MKB. Izmed aromatičnih spojin značilnih za MKF, je na prvem mestu diacetil, ki je lahko zaželen ali moteč. Na aromo vina po MKF pomembno vplivajo tudi acetaldehid, očetna kislina, etil laktat, acetoin, 2-butanol, dietil sukcinat, etil acetat in 1-heksanol. Večina MKB sintetizira tudi esterase in glikozidaze, kar prispeva k spremembam arome. Zelo pomembne za aromatiko vina so tudi aminokisliline. Metabolizem arginina, za katerega je značilen grenek in plehek okus, lahko pripomore k izboljšanju okusa vin, v katerih je vsebnost preostanka te AK visoka. Ne moremo prezreti niti vpliva fenolnih spojin, ki lahko delujejo pozitivno ali negativno, odvisno od vsebnosti in vrste (Clarke in Bakker, 2004; Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Lonvaud-Funel, 1999; Fugelsang, 1997; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995).

**Preglednica 1: Substrati in produkti metabolizma mlečnokislinskih bakterij (Jackson, 2000)**

Table 1: Substrats and products of lactic acid bacteria metabolism (Jackson, 2000)

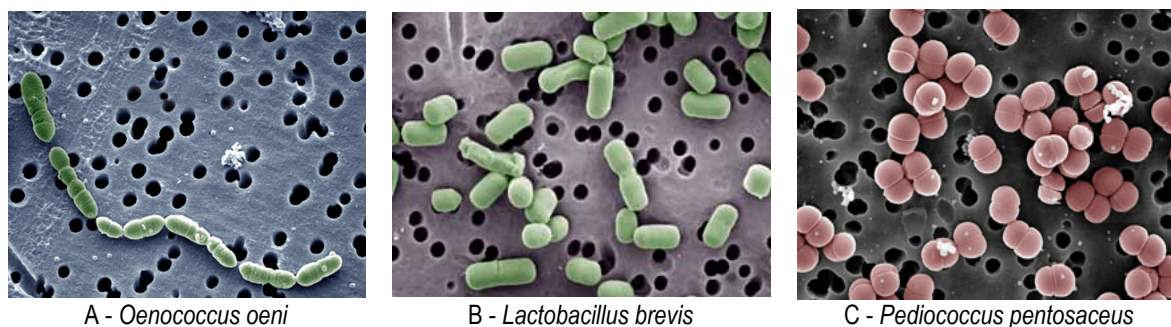
Substrat	Produkt	
Kislina	L-malat	L-laktat, CO <sub>2</sub> , sukcinat, acetat
	citrat, piruvat	laktat, acetat, CO <sub>2</sub> , acetoin, diacetil
	glukonat	laktat, acetat, CO <sub>2</sub>
	2-oksoglutarat	4-hidroksibutirat, CO <sub>2</sub> , sukcinat
	tartrat	laktat, acetat, CO <sub>2</sub> , sukcinat
	sorbat	sorbitol
Sladkorji	glukoza	laktat, etanol, acetat, CO <sub>2</sub>
	fruktoza	laktat, etanol, acetat, CO <sub>2</sub> , manitol
	arabinoza, ksiloza, riboza	laktat, acetat
Politoli	manitol	(verjetno enaki kot iz glukoze)
	2,3-butandiol	2-butanol
	glicerol	1,3-propandiol
Aminokisliline	arginin	ornitin, CO <sub>2</sub> , amonijak
	histidin	histamin, CO <sub>2</sub>
	fenilalanin	2-feniletilamin, CO <sub>2</sub>
	tirozin	tiramin, CO <sub>2</sub>
	ornitin	putrescin, CO <sub>2</sub>
	lizin	kadaverin, CO <sub>2</sub>
	serin	etanolamin, CO <sub>2</sub>
glutamin	aminobutirat, CO <sub>2</sub>	
Nepoznani substrati	propanol, izopropanol, izobutanol, 2-metil-1-butanol, izoamil alkohol, etil acetat, acetaldehid, <i>n</i> -heksanon, <i>n</i> -oktanol, glicerol, 2,3-butandiol, eritriol, arabitol, dekstran, diacetil	

Na sam potek MKF in razvoj MKB vplivajo številni dejavniki, ki jih delimo v tri skupine: fizikalni, kemijski in biološki. Med fizikalnimi dejavniki je odločujoča temperatura. Zelo številna je skupina kemijskih dejavnikov, kjer lahko izpostavimo pH, etanol in SO<sub>2</sub>. Skupina bioloških dejavnikov zajema interakcije kvasovk, bakterij in bakteriofagov z MKB. Poleg omenjenih so pomembni tudi drugi dejavniki, vendar imajo manjšo vlogo in jih lahko opredelimo le v nekaterih razmerah (Clarke in Bakker, 2004; Fleet, 2002, 2003; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995).

Zakonodaja Republike Slovenije zahteva (Pravilnik o pogojih ..., 2004), da vino vsebuje najmanj 3,5 g/L skupnih kislin in 1 g/L vinske kisline. To je seveda potrebno upoštevati, preden se odločimo za izvedbo MKF. MKF je kompleksen proces, ki zelo vpliva na sestavo in kakovost vina. Z vodenim procesom in nenehnim nadzorom jo usmerjamo k zelenemu cilju, torej k izboljšanju kakovosti vina. Glavne posledice MKF so zmanjšanje kislosti, izboljšanje arome in mikrobiološke stabilnosti vina. Zato se morajo vinarji, preden se odločijo za MKF zavedati, da bodo zelo vplivali na stil vina.

## 2.1 MLEČNOKISLINSKE BAKTERIJE VINA

Na grozdju, v moštu in vinu se nahajajo MKB, ki pripadajo dvema družinama in trem rodovom z mnogimi vrstami in sevi. Družina *Lactobacillaceae* vključuje grampozitivne bakterije rodu *Lactobacillus*. Družino *Streptococcaceae* predstavljajo bakterije dveh rodov: *Pediococcus* in *Oenococcus* (nekdaj *Leuconostoc*), v katerih so zastopani grampozitivni koki ali bacili. Medtem ko so za MKB rodu *Lactobacillus* in *Pediococcus* značilne mnoge vrste, so MKB vrste *O. oeni* edini predstavnik rodu *Oenococcus*, pri katerem poznamo številne seve (Fugelsang, 1997). Določeni avtorji trdijo, da vinske MKB pripadajo ne trem, temveč štirim rodovom: *Oenococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* in *Leuconostoc* (Bartowsky, 2005; Dicks in sod., 1998).



**Slika 1: Mikroskopski posnetki MKB v vinu: *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus brevis* in *Pediococcus pentosaceus* (The microscopy facility, 2006)**

Figure 1: Microscopic shots of lactic acid bacteria in wine: *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus brevis* and *Pediococcus pentosaceus* (The microscopy facility, 2006)

MKB so si s stališča zgradbe celice zelo podobne, vendar se razlikujejo v fiziologiji. Poleg morfologije in oblike značilne za koke, je metabolizem glukoze in ne mlečne kisline odločujoča lastnost pri njihovi klasifikaciji. Homofermentativne MKB proizvedejo iz glukoze več kot 85 % mlečne kisline. Heterofermentativne MKB proizvedejo iz glukoze  $\text{CO}_2$ , etanol in očetno kislino ter dodatno tudi mlečno kislino. Med koki so MKB rodu *Pediococcus* homofermentativne in MKB rodu *Oenococcus* heterofermentativne. MKB rodu *Lactobacillus* so lahko ali homo- ali heterofermentativne in jih razdelimo v tri skupine (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000; Fugelsang, 1997; Zoecklein in sod., 1995):

- I. skupina: izključno homofermentativne (ta skupina v vinih ni bila nikoli identificirana),
- II. skupina: fakultativno heterofermentativne,
- III. skupina: izključno heterofermentativne.

Izključno homofermentativni laktobacili (I. skupina) ne fermentirajo pentoz ter iz ene molekule glukoze tvorijo dve molekuli mlečne kisline po Embden-Meyerhoff-Parnasovi poti (slika 3). Fakultativno heterofermentativni laktobacili (II. skupina) tudi fermentirajo eno molekulo glukoze v dve molekuli mlečne kisline, vendar pretvarjajo pentoze po heterofermentativni pentoza fosfatni poti (slika 4) v mlečno in očetno kislino. Izključno heterofermentativne bakterije (III. skupina) ne vsebujejo fruktoze 1,6-difosfat aldolaze, ki je značilna za Embden-Meyerhoff-Parnasovo pot. Tako pretvarjajo glukozo v  $\text{CO}_2$ , mlečno in očetno kislino ter etanol po pentoza fosfatni poti. MKB te skupine fermentirajo tudi pentoze v mlečno in očetno kislino (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

V preglednici 2 so predstavljene MKB, ki so najpogosteje prisotne v moštu in vinu. MKB vrste *O. oeni* so znane po zagotovitvi, da MKF poteče v večini primerov. V moštu in vinu do sedaj še niso izolirali izključno homofermentativnih laktobacilov iz I. skupine. Tako so MKB iz te skupine razdeljene v dve podskupini; fakultativne in strogo heterofermentativne laktobacile ter v homofermentativne (*Pediococcus*) in heterofermentativne (*Oenococcus*) koke (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

**Preglednica 2: Seznam najbolj razširjenih MKB v moštu in vinu (Ribéreau-Gayon in sod., 2000)**

Table 2: List of the most widespread lactic acid bacteria in grape must and wine (Ribéreau-Gayon and coll., 2000)

Laktobacili	Fakultativno heterofermentativne MKB (II. skupina)	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>
	Izključno heterofermentativne MKB (III. skupina)	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus hilgardii</i>
	Homofermentativne MKB	<i>Pediococcus damnosus</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>
Koki	Heterofermentativne MKB	<i>Oenococcus oeni</i> ( <i>Leuconostoc oenos</i> ) <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>

### 2.1.1 BAKTERIJE VRSTE *Oenococcus oeni*

MKB vrste *Oenococcus oeni* so do leta 1995 imenovali *Leuconostoc oenos*. Osnova za preimenovanje in za taksonomske spremembe so bila nova odkritja (Dicks in sod., 1995). Predhodno imenovane *Leuconostoc oenos* so bile edine acidofilne MKB tega rodu, za katere je bilo značilno pomanjkanje encima glukoza-6-fosfat dehidrogenaze. Od ostalih vrst rodu *Leuconostoc* so se razlikovale tudi po mediju rasti, saj so bile prisotne le v vinu, kjer je bil pH nižji od 4,8 in je bila vsebnost alkohola vsaj 10 vol.% (Fugelsang, 1997; Dicks in sod., 1995). Novo imenovanje *O. oeni* se kljub minulemu desetletju od spremembe počasi uveljavlja.

MKB vrste *O. oeni* štejejo med najbolj koristne in zaželeno predstavnike MKB. Nasprotno so MKB rodovi *Pediococcus* in posamezne vrste rodu *Lactobacillus* nezaželeni, saj so kvarljivci vina. MKB vrste *Lactobacillus hilgardii* se tudi uporabljajo kot starterska kultura MKB. MKB vrste *O. oeni* so grampozitivni negibljivi koki, nesporogene, elipsoidne do kroglaste oblike ter se navadno pojavljajo v parih ali verižicah. So kemoorganotrofne in fakultativno anaerobne bakterije. Test na katalazo je negativen. V celični zgradbi manjkajo citokromi. Proteoliza zanje ni značilna ter ne reducirajo nitratov. So nehemolitični in ne tvorijo indola. So acidofilne bakterije, saj jim ustreza medij s pH manjšim od 4,8, celo do 3,0. Uspevajo tudi v prisotnosti 10 vol.% etanola. Rast v gojišču je počasna in navadno konstantna. Površinsko rast vzpodbudimo z inkubacijo v 10 % atmosferi CO<sub>2</sub>. Kolonije se navadno razvijejo po petih dneh. Najbolje uspevajo pri temperaturah od 20 do 30 °C. Optimalna temperatura je 22 °C, medtem ko je pri nižjih temperaturah (<15 °C) rast upočasnjena. Zahtevajo prehransko bogat medij s kompleksnimi rastnimi dejavniki in AK. V gojišču rastejo le ob prisotnosti paradiznikovega ali grozdnega soka ter pantotenske kisline. Glukozo fermentirajo v D(-)mlečno kislino in CO<sub>2</sub> ter etanol ali acetat. Koristijo lahko le malo ogljikovih hidratov. Bolje fermentirajo fruktozo kot glukozo, vendar navadno koristijo tudi trehalozo ter pentoze (arabinozo in ksilozo). Ne koristijo saharoze, laktoze, maltoze, rafinoze in manitola. L-malat dekarboksilirajo v L(+)-laktat v prisotnosti fermentirajočih ogljikovih hidratov. MKB vrste *O. oeni* nimajo encima glukoza-6-P dehidrogenaze. Arginin hidrolizirajo le določeni sevi, vendar le v vinu. Določeni sevi izkoriščajo tudi citrat, vendar samo v prisotnosti fermentirajočih sladkorjev. MKB vrste *O. oeni* so dosedaj uspeli izolirati samo iz vina in mošta (Dicks in sod., 1995; Fugelsang, 1997; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002).

Počasno rast MKB vrste *O. oeni* v primerjavi z drugimi MKB je potrdila raziskava primerjave rasti MKB vrst *O. oeni* in *Lactobacillus brevis* v kontinuirni kulturi, kjer je bila za MKB vrste *O. oeni* značilna manjša največja specifična hitrost rasti, manjša celična produkcija, manjši obseg največje biomase in večji koeficient vzdrževanja kulture (Zhang in Lovitt, 2006). Študija primerjave rasti, porabe proteinov in tvorbe AK MKB vrst *O. oeni* in *Pediococcus pentosaceus* v čistih in mešanih kulturah je pri MKB vrste *O. oeni* pokazala majhno celično rast in veliko sposobnost tvorbe AK, medtem ko je bila za MKB vrste *P. pentosaceus* značilna večja celična produkcija z zmanjšanjem vsebnosti AK v mediju. Za mešano kulturo omenjenih dveh MKB je bil značilen mutualizem; simbioza, pri kateri imata koristi oba simbionta (Fernández in de Nadra, 2006).

## 2.1.2 IZVOR MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ

Izvorno okolje endogenih MKB vrste *O. oeni* ostaja nepoznano. Čeprav se pojavljajo na grozdju in listih vinske trte (v zelo majhnem številu), je vino njihov edini poznan medij. MKB rodu *Oenococcus* v vinu prevladujejo, medtem ko so MKB rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus* navadno pogostejše na grozdju. Običajna vsebnost MKB rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus* v grozdnem moštu je najmanj  $10^3$  CFU/mL. Velikost populacije MKB teh dveh rodov je v veliki meri odvisna od zrelosti in zdravstvenega stanja grozdja. Večje populacije so značilne za zrelo in s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* okuženo grozdje ter mehansko poškodovano grozdje. Lahko pa se pojavijo tudi v vinu, toda kot kvarljivci, torej ob pojavu bolezni vina. MKB rodu *Oenococcus* prevladujejo v vinih s pH manjšim od 3,5, medtem ko so MKB rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus* prevladujoče v vinih s pH večjim od 3,5 (Renouf in sod., 2005; Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997; Boulton in sod., 1996).

Čeprav MKF lahko sprožijo endogene MKB, ki rastejo praviloma le na površini grozdja, pa lahko MKB izhajajo tudi iz vinarske opreme. Pecljalniki, drozgalniki, stiskalnice in fermentorji so lahko izvor predvsem MKB vrste *O. oeni*. V prid vodeni in nadzorovani MKF vinarji uporabljajo izbrane starterske kulture MKB, ki jih v veliki večini predstavljajo sevi MKB vrste *O. oeni*. Tako se izognejo endogeni populaciji MKB, ki v večini pripadajo rodovoma kvarljivcev (Jackson, 2000).

Med MKF v moštu ali vinu za razvoj MKB, v nasprotju z rastjo kvasovk med AF, ni značilna dosledna zaporedna rast bakterij. Značilne spremembe v rasti MKB se pogosto pojavijo glede na dejavnike, kot so pH, skupne kisline, jabolčna kislina,  $SO_2$ , temperatura, alkohol, hranila ter čas trajanja kontakta mošta s jagodnimi kožicami in vina z drožmi (Jackson, 2000).

Pri večini spontanih MKF bakterijske celice hitro lizirajo, kakor hitro se začne AF, kar zmanjša velikost populacije MKB. Med AF tako odmre večina MKB, ki so bile prisotne na grozdju oziroma v moštu. V vinih s pH nad 3,5 lahko opazimo začasno rast nekaterih sevov, na primer bakterije vrste *Lactobacillus plantarum*. Občasno, v primerih pH vina nad 3,5 in uporabe majhnih količin  $SO_2$ , lahko MKB vrste *O. oeni* sprožijo MKF sočasno z AF (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002).

Za zmanjšanje začetne endogene populacije MKB so odgovorni različni dejavniki:  $SO_2$ , kislost, tvorba etanola, maščobne kisline ali zelo slab prehranski status mošta, ki se s potekom AF poslabšuje. Vsi omenjeni dejavniki imajo lahko le omejen vpliv. Ob koncu AF navadno nastopi pred povečanjem populacije MKB faza lag. Trajanje te faze je lahko zelo različno, od zelo kratke do nekaj mesečne. Ko pa se rast MKB začne, lahko populacija naraste na  $10^6$  do  $10^8$  CFU/mL. V večini vin z nizkim pH uspevajo le MKB vrste *O. oeni*, vendar pa lahko pride med MKF do razlik v deležu sevov te vrste (Jackson, 2000; Fugelsang, 1997).

Ob koncu stacionarne faze MKB nastopi podaljšana faza odmiranja. Hitrost odmiranja lahko dramatično spremenimo s kletarsko prakso. Na primer, shranjevanje vina pri temperaturah pod  $15\text{ }^\circ\text{C}$ , pretok ali žveplanje lahko povzročijo hitro odmiranje MKB. Če je pH višji od 3,5 in so ostale razmere ugodne, se lahko začnejo razmnoževati endogene MKB kompetitivnih rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus*. Rast MKB teh dveh rodov povzroči zmanjšanje populacije MKB vrste *O. oeni* (Jackson, 2000; Fleet, 2002).

MKB sevov vrste *O. oeni* se razlikujejo glede na tolerantnost na pH, etanol,  $SO_2$ , temperaturo, rastne sposobnosti, mlečnokislinsko aktivnost in na način koriščenja ogljikovih hidratov. Zaradi velike tolerance na kislost MKB vrste *O. oeni* prevladujejo v vinih s pH nižjim od 3,5. Vsebnost etanola nad 5 vol.% delno inhibira rast MKB vrste *O. oeni*, ki lahko prenesejo do 14 vol.% alkohola. Nasprotno MKB rodu *Lactobacillus* ne rastejo pri vsebnosti 5-6 vol.%. MKB vrst *L. casei* in *L. brevis* so bolj tolerantne na alkohol. Izmed MKB rodu *Pediococcus* so v vinu najbolj zastopane MKB vrst *P. damnosus*, *P. pentosaceus* in *P. parvulus*. Izmed naštetih so najbolj razširjene MKB vrste *P. damnosus*, zaradi največje tolerantnosti na kislost. MKB rodu *Pediococcus* so redko udeležene pri



MKF, vendar obstaja velika verjetnost, da se pojavijo v vinu po končani MKF, ko je pH višji od 3,5. Delovanje MKB tega rodu se močno izraža v negativnih senzoričnih lastnostih vina. V prisotnosti ogljikovih hidratov in nizki vsebnosti kisika MKB rodu *Pediococcus* tvorijo večje količine polisaharidov, ki so vzrok za vlečljivost vina (Fleet, 2002).

Med MKF se navkljub naravni selekciji poveča število MKB in tudi raznolikost sevov. Potem, ko je populacija MKB dosegla optimalno število, se zmanjša. Istočasno odmrejo najprej homo- in nato heterofermentativni laktobacili, kar je v korist MKB vrste *O. oeni*. Nato odmrejo še homofermentativni koki in MKB sevov vrste *L. mesenteroides*. Določene vrste MKB, predvsem kvarljivci, lahko živijo v zelo majhni populaciji, manj kot  $10^2$  CFU/mL. Spontani razvoj endogene mikroflore MKB v vinu sovпада z najbolje prilagojenimi vrstami MKB, saj vino zanje predstavlja zelo neugoden medij, predvsem zaradi kislosti in prisotnosti alkohola (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

### 2.1.3 RAZVOJ ENDOGENE POPULACIJE MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ

Življenjski cikel mikroorganizmov delimo na šest rasti faz: faza lag, faza pospešene rasti, faza eksponentne rasti, faza pojemajoče rasti, stacionarna faza in faza odmiranja. Tudi za mikrofloro MKB vina so te faze značilne. V moštu so MKB prisotne v zelo spremenljivem številu, najpogosteje od  $10^2$  do  $10^4$  CFU/mL. Velikost populacije MKB je zelo odvisna od podnebnih razmer v zadnjih dneh zorenja grozdja. Na splošno je število MKB manjše v razmerah, naklonjenih razvoju zdravega grozdja. Med raznolikimi operacijami od trgatve do polnjenja vinske posode, se mošt zelo hitro kontaminira z MKB, najverjetneje preko opreme. V času trgatve so MKB tako kot kvasovke v vinski kleti zelo razširjene (Renouf in sod., 2005; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

V prvih dneh AF kvasovke, endogene ali inokulirane, ki so bolj prilagojene na grozdni mošt v primerjavi z MKB, hitro prevladajo v mediju. V tem času se razmnožujejo tudi MKB, vendar ostaja njihova rast omejena in populacija doseže največ  $10^5$  CFU/mL. Njihov večji razvoj je v tem času odvisen od pH medija in obsega žveplanja grozdja. V normalnih razmerah dodana količina  $SO_2$  (okrog 5 g/hL) in pH med 3,2 in 3,4 ne preprečijo rasti MKB, temveč jo le omejijo (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002; Fugelsang, 1997).

Z napredovanjem AF ostaja populacija MKB v latentni fazi za določeno obdobje, ki lahko traja do nekaj mesecev, če so pH, vsebnost etanola in temperatura neugodni. V optimalnih razmerah ta faza traja le nekaj dni in se v določenih primerih sploh ne pojavi. V največ primerih se faza pospešene rasti MKB pojavi po pretoku vina (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Razvoj mikroorganizmov v vinu sledi zaporedju: najprej kvasovke, nato MKB. To predstavlja tudi optimalne razmere za potek vinifikacije, pri katerih se fermentirajoči sladkorji metabolizirajo preden v mediju prevlada populacija MKB. V nasprotnem primeru se MKB razmnožujejo že proti koncu AF in tako koristijo sladkorje po heterofermentativni poti. Posledica je povečana vsebnost hlapnih kislin v vinu. Eksponentna faza rasti traja nekaj dni in populacija MKB naraste na  $10^7$  CFU/mL ali več. Njeno trajanje je pogojeno tudi s sestavo medija. Stacionarna faza tudi časovno variira. Nato MKB preidejo v fazo odmiranja. Enološka praksa veleva, da se po popolnoma končani pretvorbi jabolčne kisline vino žvepla. To skupaj z znižanjem temperature in pretokom zelo zmanjša populacijo MKB in skrajša fazo odmiranja (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002; Fugelsang, 1997).

MKF v bistvu nastopi med fazo eksponentne rasti MKB, kakor hitro populacija preseže  $10^7$  CFU/mL. MKF se popolnoma zaključi med stacionarno fazo ali včasih med fazo odmiranja. V zelo ugodnih razmerah z omejeno količino jabolčne kisline, se MKF konča pred zaključkom faze eksponentne rasti MKB. Populacija MKB v tem primeru preseže  $10^8$  CFU/mL. Kakor hitro se oblikuje dovolj biomase MKB, se začne metabolizem jabolčne kisline. MKB so vedno aktivne, vendar je stopnja aktivnosti odvisna od različnih razmer, še posebej temperature (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002; Fugelsang, 1997).

Če vina po končani MKF ne žveplamo, je lahko faza odmiranja zelo dolga in MKB lahko v vinu preživijo tudi mesece, kar ni priporočljivo. Kljub temu, da se preostale MKB v fazi odmiranja ne morejo več aktivno razmnoževati, lahko metabolizirajo različne substrate in si zagotovijo preživetje. Reakcije metabolizma lahko povečajo vsebnost nezaželenih spojin tako s senzoričnega kot tudi s prehranskega vidika. Ob koncu MKF se priporoča žveplanje v taki količini, da vino vsebuje prostega SO<sub>2</sub> od 30 do 40 mg/L. Pri teh vsebnostih v nekaj dneh odmrejo skoraj vse MKB. Populacija MKB predstavlja do 10 CFU/mL. Učinkovito zmanjšanje populacije MKB dosežemo tudi s čiščenjem vina z bentonitom (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002).

#### 2.1.4 STARTERSKE KULTURE MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ IN INOKULACIJA

Čeprav v vinih med spontano MKF v večini primerov prevladajo MKB vrste *O. oeni*, vinarji vse pogosteje uporabljajo starterske kulture MKB in inducirajo MKF. Ta odločitev je povezana z mnogimi prednostmi vodene MKF v primerjavi s spontano MKF: zanesljivejšim začetkom, hitrejšim potekom in uspešnim dokončanjem MKF ter izboljšano kakovostjo vina. V tem primeru se zelo omeji verjetnost pojava kvara vina zaradi delovanja endogenih MKB in zmanjša se učinek bakteriofagov. Kot pri kvasovkah, inokulirane starterske kulture MKB številčno prevladajo nad endogeno populacijo MKB (Fleet, 2002). Časovno glede na potek vinifikacije lahko starterske kulture MKB dodamo (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002):

- v mošt hkrati s kvasovkami - koinokulacija, imenovana tudi sočasna inokulacija,
- v delno prevret mošt, po približno 1/3 AF,
- v mlado vino po končani AF (naknadna inokulacija).

V veliki večini primerov se starterske kulture MKB dodajajo v mlado vino takoj po končani AF. Inokulacija v delno prevret mošt je zelo redka, zaradi nezaželenih produktov, predvsem acetata. Rezultati poskusa inokulacije starterske kulture MKB *O. oeni* na začetku AF skupaj s kvasovkami, na sredini in po koncu AF so pokazali, da lahko startersko kulturo MKB inokuliramo v vseh treh primerih, ne da bi upočasnili ali zaustavili AF (Rosi in sod., 2003). Primerjava sočasne in naknadne inokulacije MKB s kvasovkami vina chardonnay iz hladnega vinogradniškega področja ni potrdila negativnih vplivov koinokulacije na kakovost vina in ni pokazala značilnih razlik v fizikalno-kemijskih parametrih vin (Jussier in sod., 2006).

V vseh treh primerih inokulacije mora pravilno pripravljena in razmnožena populacija MKB doseči v stacionarni fazi velikost populacije več kot 10<sup>7</sup> CFU/mL. To število zagotavlja konstantno kulturo MKB, kar pomeni, da je potrebno zelo malo ali nič prirasta biomase za dokončanje pretvorbe malata v laktat. Zato je zelo pomembna priprava starterske kulture MKB, ki je veliko bolj zahtevna kot pri kvasovkah. Ne smemo prezreti pomena optimalnih dejavnikov vina oziroma mošta za razvoj MKB (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997). V raziskavi vpliva pH, etanola in vrste vina na začetek MKF je neposredna inokulacija starterske kulture MKB, brez predhodne priprave, pokazala, da na živost starterske kulture MKB bolj značilno vpliva vrsta vina kot pH ali vsebnost etanola (Gockowiak in sod., 2003).

Tržne starterske kulture MKB se najpogosteje nahajajo v liofilizirani obliki. V nasprotju s kvasovkami jih moramo shranjevati pri -20 °C. Neposredna inokulacija v vino ali mošt brez predhodne priprave ni priporočljiva, saj se pri tem populacija zelo zmanjša ali celo odmre (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997). Preizkus neposredne in posredne (s predhodno pripravo starterske kulture) inokulacije starterske kulture MKB v vino je potrdil veliko bolj zanesljiv in hitrejši potek MKF v primeru posredne inokulacije (Cavazza in sod., 1999). Pri posredni inokulaciji liofilizirane starterske kulture MKB najprej izvedemo rehidracijo v mlačni destilirani vodi, katere temperatura ne sme presegati 30 °C. Mešanje ni priporočljivo, zaradi vnosa O<sub>2</sub>. V primeru slabega prehranskega statusa vina ali mošta se priporoča tudi dodatek hranil za MKB, saj imajo le-te zelo omejene sposobnosti sinteze dušikovih spojin. Vino oziroma mošt postopoma dolivamo rehidrirani populaciji MKB ter jo na

ta način počasi pripravljamo na razmere, kakršne vladajo v mediju, kamor jih nameravamo dodati. Za doseg populacije  $5 \times 10^7$  CFU/mL bi morali vino inokulirati z 2 % reaktivirane starterske kulture MKB. Ko vino inokuliramo z drugim vinom, kjer je MKF že potekla, moramo dodati 10 % inokulum za doseg populacije  $1-5 \times 10^6$  CFU/mL. Tako vino moramo tudi mikroskopsko pregledati, da preverimo prisotnost nezaželenih MKB rodov *Lactococcus* in *Pediococcus* (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997).

Mnenja o tem, kdaj je pravi čas za potek MKF, so različna. V izogib nezaželenim interakcijam med rastjo MKB in kvasovk ter za najboljši nadzor nad potekom MKF, je najprimernejši čas za inokulacijo z MKB takoj po končani AF. To je načelo t.i. Bordojske vinarske šole. Obenem v tem času lahko vinu uravnamo pH na 3,2. V tem primeru je priporočljivo zorenje vina na drožeh. Zgodnja MKF je naklonjena razvoju zaželenih aromatičnih spojin, kot je diacetil, vendar lahko pride tudi do zastoja MKF. S kasnejšim potekom MKF pa se izognemo toksičnim C<sub>8</sub>- in C<sub>10</sub>-maščobnimi kislinam, saj se njihova vsebnost po končani AF zelo zmanjša. Kakorkoli, velike vsebnosti alkohola inhibirajo MKF. Ameriška vinarska šola ni potrdila izkušnje francoske glede povečanih vsebnosti acetata, antagonizma kvasovk ali zaustavitve MKF v povezavi z njenim zgodnjim potekom (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997).

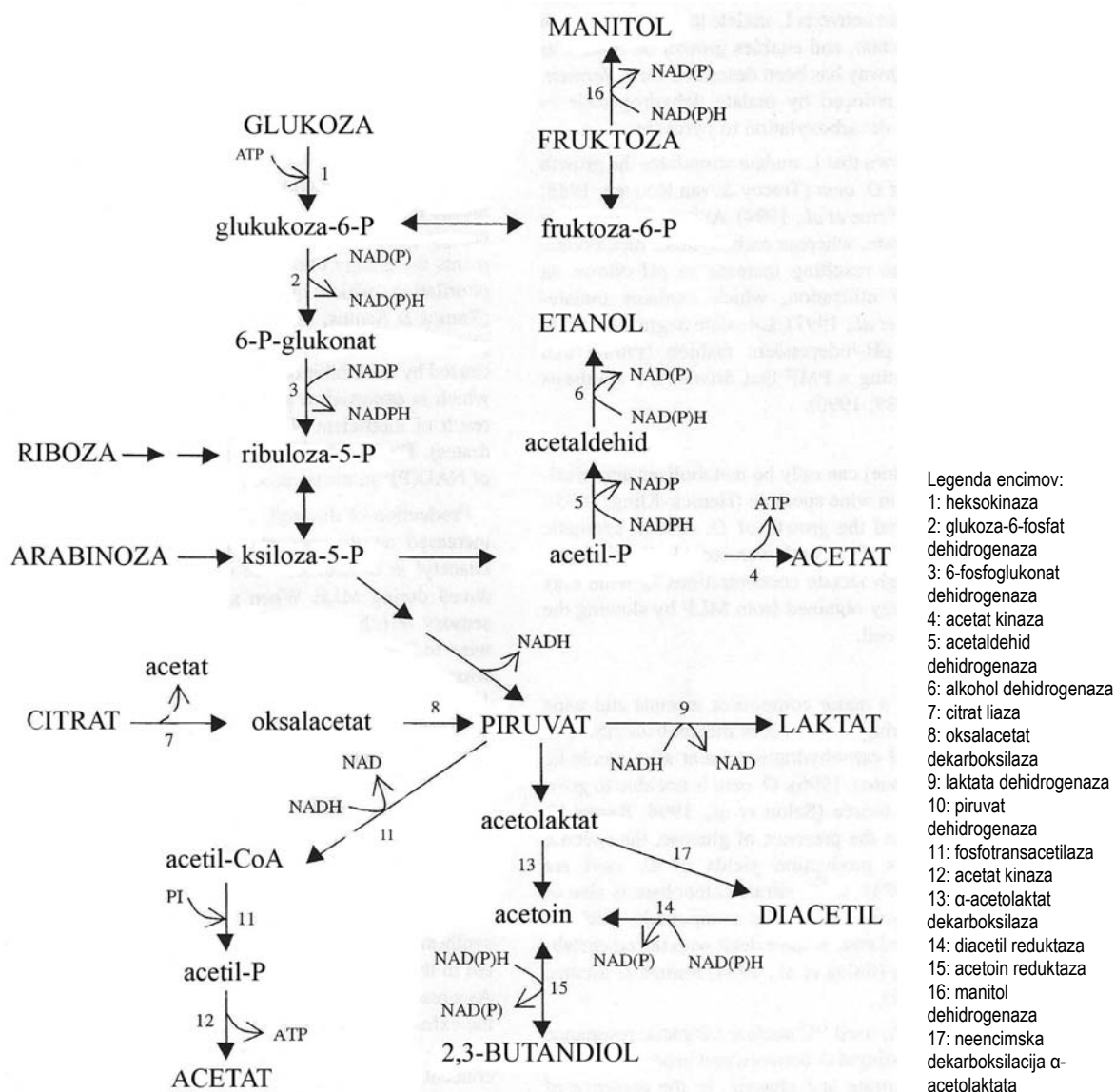
Sočasna AF in MKF sta mogoči v primeru koinokulacije mošta s starterskima kulturama kvasovk in MKB. V tem primeru lahko vino pretočimo z droži, ohladimo in žveplamo takoj po končani AF. MKB niso izpostavljene pomanjkanju hranil, niti negativnemu vplivu alkohola. Značilnost združitve MKF in AF je zmanjšanje vsebnosti diacetila. Potek MKF v prisotnosti velike količine fermentirajočih sladkorjev ne vodi nujno do nastanka acetata v prevelikih vsebnostih, v kolikor se AF začne takoj in poteče do konca. Obstaja nevarnost, da močna rast MKB inhibira rast kvasovk; kar vodi do upočasnitve ali zaustavitve AF. Posledica je bakterijski kvar vina in prevelike količine acetata in prisotnost drugih neželenih komponent arome vina. To je zelo malo verjetno, saj optimalne razmere za potek AF niso optimalne za MKF. Ko inokuliramo mošt s startersko kulturo MKB, jih moramo dodati hkrati s kvasovkami. Če jih dodamo predhodno, bodo MKB producirale iz sladkorjev prevelike količine acetata. V izogib povečani tvorbi acetata se priporoča inokulacija z MKB vrste *Lactobacillus plantarum*, ki so občutljive na nizek pH, hitro dekarboksilirajo jabolčno kislino, ne proizvajajo očetne kisline in z naraščanjem vsebnosti alkohola hitro odmrejo (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Raziskava vpliva pH, liofilizacije, temperature in vsebnosti etanola na rast in razvoj endogenih MKB sevov *Lactobacillus plantarum* in MKB vrste *O. oeni* je pokazala, da so tudi sevi MKB vrste *L. plantarum* uporabni kot starterske kulture za vzpodbuditev MKF v vinarstvu (G-Alegría in sod., 2004). Alternativen postopek dodajanja starterske kulture MKB je dodatek inokuluma MKB med AF. Teoretično se tako izognemo toksičnosti velikih vsebnosti etanola in SO<sub>2</sub>, vendar je delovanje maščobnih kislin največje. V tem primeru je najmočnejši tudi antagonizem kvasovk zaradi sinteze metabolitov (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

## 2.1.5 INHIBICIJA MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ

Inhibicijo MKF izvajamo z vzpostavitvijo neugodnih dejavnikov MKF. Tako zorenje vina pri temperaturah okrog 10 °C, ohranjanje prostega SO<sub>2</sub> nad 50 mg/L, zgodnji pretoki in bistrenje vina, dodajanje kisline moštom ali vinom z visokim pH ter minimalna maceracija, pripomorejo k inhibiciji MKB. V ta namen so na voljo enološki preparati. Fumarna kislina se lahko doda šele po zaključeni AF, saj bi jo kvasovke v nasprotnem primeru vključile v metabolizem. Priporoča se dodatek od 1,5 do 2 g/L fumarne kisline, vendar fumarna kislina v Sloveniji ni dovoljena (Pravilnik o pogojih ..., 2004). Deluje baktericidno in ima sinergistični učinek z zmanjševanjem pH. V nekaterih primerih MKB lahko premagajo inhibicijo fumarata, saj ga z delovanjem fumaraze pretvorijo v malat. Antibiotik nizin in še posebej encim lizozim sta novejši enološki sredstvi preprečitve MKF. Delovanje lizozima je časovno omejeno (Gao in sod., 2005; Jackson, 2000). Študije so pokazale, da so na lizozim bolj občutljive

MKB sevov *O. oeni* kot rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus* (Delfini in sod., 2004). Raziskave inhibicije MKB kvarljivcev vrst *L. kunkeei*, *L. brevis*, *P. parvulus* in *P. damnosus* z uporabo lizozima v vinu chardonnay so dale pozitivne rezultate, saj se je izkazal kot zelo učinkovit za omenjene MKB, toda na populacijo starterske kulture kvasovk vrste *S. cerevisiae* ni učinkoval (Gao in sod., 2002). Uporaba lizozima v belih vinih je vodila k manjši vsebnosti očetne kisline, biogenih aminov in populacije MKB po 18 mesecih zorenja (Gerbaux in sod., 1997).

## 2.2 METABOLIZEM MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ IN VPLIV NA VINO



Slika 2: Glavne metabolne poti pri MKB vrste *Oenococcus oeni* (Bauer in Dicks, 2004)

Figure 2: Main metabolic pathways of lactic acid bacteria species *Oenococcus oeni* (Bauer and Dicks, 2004)

Metabolizem zajema vse biokemijske reakcije razgradnje in sinteze, ki potekajo v bakterijski celici med njenim življenjskim ciklusom. V katabolnih reakcijah nastaja energija ter poteka pretvorba substratov iz okolja ali rezervnih spojin celice. Med anabolnimi reakcijami poteka celična sinteza, v katero so vključeni okoljski substrati ali vmesni produkti katabolizma. MKB so kemotrofi, saj energijo, ki jo potrebujejo za celoten metabolizem, pridobivajo z oksidacijo kemijskih spojin, predvsem sladkorjev. Oksidacija substrata predstavlja prenos elektronov na drugo spojina, ki se reducira. Pri

večini oksidacij je pretok protonov in elektronov spontan. Njihov transport do končnega akceptorja lahko aktivira verigo oksidacijsko-redukcijskih reakcij. Tako je oksidacija substrata vedno povezana z redukcijo drugega. Lastnost končnega prejemnika elektronov določa tip metabolizma: dihanje ali fermentacija. Glede na prisotnost kisika razlikujemo med aerobnimi in anaerobnimi mikroorganizmi. V primeru fermentacije nastopajo v anaerobnih razmerah kot reducirajoče molekule endogeni substrati, torej eden izmed produktov metabolizma celice. V primeru MKF predstavlja endogen substrat piruvat, ki nastane iz malata. Slednji se reducira v laktat, produkt glavne reakcije MKF. V nasprotju s ponovno oksidacijo koencima v dihalni verigi se pri fermentaciji energija ne tvori (Lehninger in sod., 1993).

## 2.2.1 METABOLIZEM SLADKORJEV

Oksidacija sladkorjev predstavlja za MKB osnovno pot pridobivanja energije za rast in razmnoževanje. MKF je v bistvu reakcija asimilacije sladkorjev. V bakterijsko celico prehajajo sladkorji s pomočjo sistema aktivnega transporta, saj je citoplazminska membrana neprepustna za mnoge organske spojine. Za to je potrebna energija in delovanje encimov, ki so specifični za posamezen sladkor, ki se transportira v celico. MKB rodov *Oenococcus*, *Lactobacillus* in *Pediococcus* asimilirajo heksoze na homofermentativen ali heterofermentativen način (Fugelsang, 1997; Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Izmed sladkorjev so v grozdju, moštu in vinu prisotne heksoze in pentoze. Med heksozami predstavljata glukoza in fruktoza v grozdnem soku večino sladkorjev. Pri normalni zrelosti grozdja sta vsaka prisotni v vsebnostih od 70 do 120 g/L. Pri poznih trgatvah in okužbi grozdja s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* lahko dosežeta skupno vrednost do 500 g/L. V suhih vinih je vsebnost glukoze in fruktoze zelo majhna, tudi manj kot 1 g/L (Fleet, 2002; Jackson, 2000). V stekleničenih slovenskih belih vinih je bilo določeno od 0,0 do 159,9 mmol/L glukoze in od 2,8 do 239,2 mmol/L fruktoze (Košmerl, 1999). V grozdju *Vitis vinifera* je prisotna tudi saharoza, do 10 in celo do 50 g/L. Vendar je v moštu in vinu zastopana v zelo majhnih vsebnostih, ker se zaradi kislega medija, delovanja kvasovk in invertaze grozdja hitro hidrolizira v glukozo in fruktozo. Poleg glukoze in fruktoze sta v vinu prisotni izmed heksoz še manoza in galaktoza, v koncentracijah od 50 do 200 mg/L. V zelo majhnih vsebnostih se pojavljajo tudi nekatere pentoze, ki so del rastlinskih pektinov. To so arabinoza (0-0,13 g/L), ksiloza (0,01-0,1 g/L), riboza (0,01-0,1 g/L) in ramnoza (do 0,4 g/L). Saharidi maltoza, melibioza, rafinoza, melicitoza in stahiloza se v vinih nahajajo v vsebnostih od 0 do 360 mg/L (Fleet, 2002).

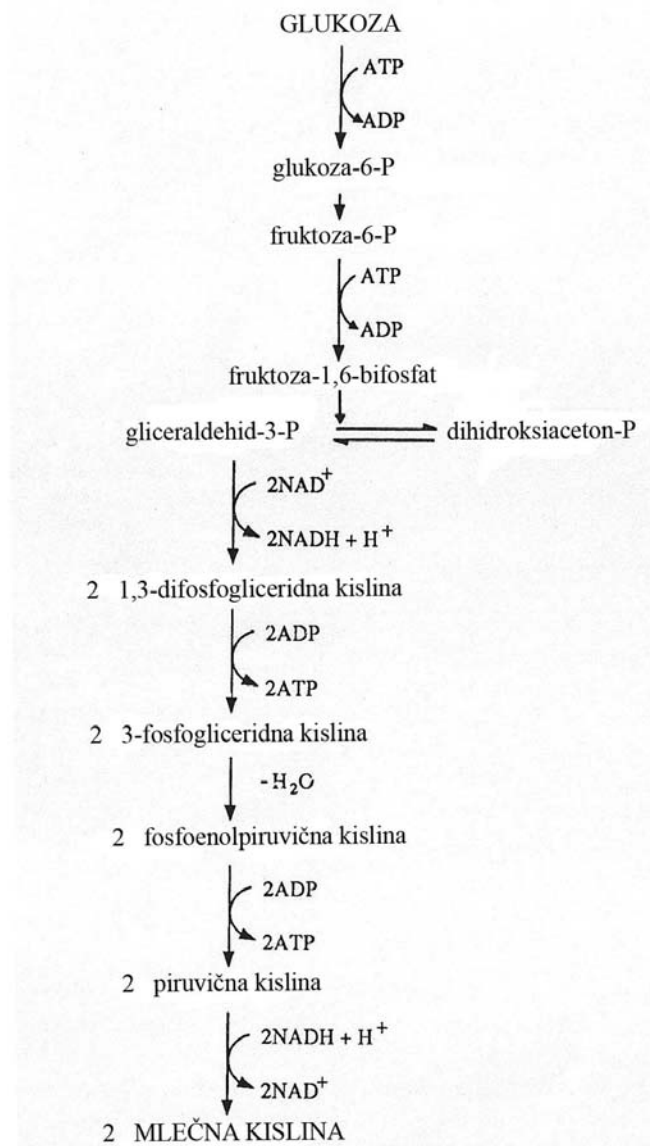
Obseg sposobnosti razgradnje sladkorjev je odvisen od vrste MKB in dejavnikov okolja. MKB vrste *O. oeni* raje metabolizirajo fruktozo kot glukozo, kar je v nasprotju s kvasovkami. Prisotnost fruktoze skupaj z glukozo ugodno vpliva na njihovo rast. Razgradnja fruktoze v manitol regenerira koencima, ki sta potrebna za oksidacijo glukoze. Kljub pomanjkanju reducirajočih encimov, se acetyl-P ne transformira v etanol, ampak v očetno kislino in ATP. Med fermentacijo preostanka sladkorjev pridobljena energija zadovoljuje potrebe po energiji za rast populacije MKB ter uspešen začetek in dokončanje MKF. Sladkorji, ki so prisotni v vinu, ne izhajajo le neposredno iz grozdja, ampak nastajajo tudi pri hidrolizi nekaterih drugih spojin, še posebej polisaharidov (Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Študija vpliva sladkorjev in sladkornih mešanic na rast MKB vrste *O. oeni* je dokazala, da ustrezne sladkorne mešanice skupaj z ustreznimi okoljskimi dejavniki lahko odločilno izboljšajo produktivnost omenjene MKB (Zhang in Lovitt, 2005).

Dejavniki, ki vplivajo na metabolizem sladkorjev med MKF so nizek pH medija, nizke vsebnosti sladkorjev in vrste prisotnih sladkorjev. MKB vrste *O. oeni* rastejo počasneje na glukozni in hitreje na glukozni in malatni ali glukozni in fruktozni. Toda ob prisotnosti L-malata hitro porabljajo glukozo. Vsi sevi te vrste zelo dobro metabolizirajo fruktozo. Nekaj fruktoze uporabijo kot akceptor H<sup>+</sup> in jo reducirajo v

manitol. Količina nastalega acetata je odvisna od fermentacije sladkorjev, torej od količine razpoložljive fruktoze in redoks stanja (Fleet, 2002).

Študije homo- in heterofermentativnih metabolnih poti sladkorjev omogočajo napoved produktov MKF. Pentoze so vedno vir očetne in mlečne kisline. Heterofermentativne MKB tvorijo očetno kislino tudi iz heksoz, vendar so poti tvorbe drugačne. V anaerobnih razmerah NADH oksidaza ne more regenerirati  $\text{NAD}^+$ . Iz glukoze se prednostno tvorita mlečna kislina in etanol. V primeru ponovne oksidacije NADH v drugem procesu, se vsebnost etanola zmanjša, kar se odraža v povečani količini očetne kisline. Do tega pride v aerobnih razmerah ali ob prisotnosti druge spojine, ki se lahko reducira. Končno homofermentativne MKB fermentirajo glukozo izključno v mlečno kislino. V anaerobnih razmerah z omejeno vsebnostjo glukoze homofermentativne bakterije, kot so bakterije vrste *Lactobacillus casei*, tvorijo manj mlečne kisline. Tako osnovni produkti predstavljajo očetno kislino, mravljinčno kislino in etanol (Fleet, 2002).

### 2.2.1.1 Homofermentativni metabolizem heksoz

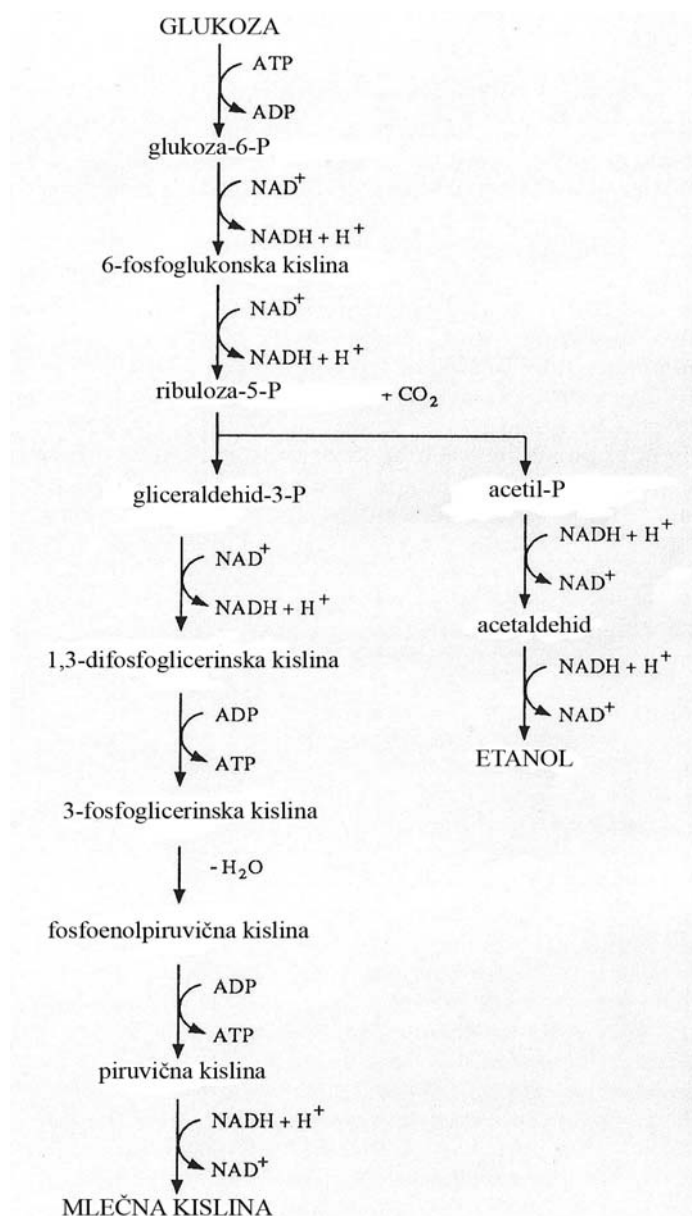


Slika 3: Embden-Meyerhof-Parnasova metabolna pot glukoze pri homofermentativnih MKB (Fugelsang, 1997)

Figure 3: Embden-Meyerhof-Parnas metabolic pathway for utilization of glucose by homolactic bacteria (Fugelsang, 1997)

Homofermentativne MKB, kamor se uvrščajo bakterije rodu *Pediococcus* in določene vrste rodu *Lactobacillus*, metabolizirajo skoraj vse sladkorje v mlečno kislino. Odvisno od seva nastane L- ali D-izomera mlečne kisline. Homofermentativna ali homolaktična pot, se imenuje tudi Embden-Meyerhof-Parnasova pot (slika 3). Prva faza te poti vključuje vse reakcije glikolize (od heksoze do piruvata), kjer se z oksidacijo tvori reduciran koencim NADH. To pot uporabljajo mnoge celice. Pri aerobnih organizmih glikolizi sledi ciklus trikarboksilnih kislin. Pri MKB poteka fermentacija v drugi fazi po Embden-Meyerhof-Parnasovi poti. Reduciran koencim se med redukcijo piruvata v laktat oksidira v NAD<sup>+</sup>. Za vsako asimilirano molekulo heksoze potrebujejo MKB eno molekulo NAD<sup>+</sup>. Celica mora zato uporabiti sistem, ki zagotavlja sprejemljivo raven NAD<sup>+</sup>. MKB tako uporabljajo piruvat, ki nastaja med glikolizo, kot akceptor elektronov za oksidacijo NADH. Ta značilnost definira MLF kot fermentacijo. V splošnem, MKB pretvorijo po homofermentativni poti eno molekulo heksoze v dve molekuli mlečne kisline (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997).

### 2.2.1.2 Heterofermentativni metabolizem heksoz



Slika 4: 6-fosfogluconatna metabolna pot glukoze pri heterofermentativnih MKB (Fugelsang, 1997)

Figure 4: 6-phosphogluconate metabolic pathway for utilization of glucose by heterolactic bacteria (Fugelsang, 1997)

Heterofermentativne MKB pretvarjajo heksoze predvsem v mlečno kislino, vendar se tvorijo tudi CO<sub>2</sub>, očetna kislina in etanol, ki so produkti pentoza fosfatne poti. Ko se glukoza transportira v celico, jo glukokinaza fosforilira v glukoza-6-P. Namen tvorbe glukoza-6-P je popoloma drugačen kot pri tvorbi iste spojine po homofermentativni poti. Zaporedoma nastopita dve reakciji oksidacije: v prvi nastane glukonat-6-P in v drugi ribuloza-5-P z dekarboksilacijo. V obeh reakcijah se reducira molekula NAD<sup>+</sup> ali NADP<sup>+</sup>. Ribuloza-5-P se nato pretvori v ksiloza-5-P. Ta molekula se ob delovanju encima fosfoketolaze razcepi v acetil-P in gliceraldehid-3-P, kar zahteva energijo. Kot v primeru homofermentativne poti se gliceraldehid-3-P pretvori v mlečno kislino. Odvisno od razmer okolja pa nadaljnja razgradnja acetil-P lahko poteka na dva načina. Acetil-P se uspešno reducira v acetaldehid in nato v etanol. V tem primeru se največkrat ponovno oksidira molekula koencima NADH ali NADPH, ki nastaneta med reakcijama oksidacije heksoze na začetku heterofermentativne poti. Ta ponovna oksidacija je bistvena za nastanek koencima, ki je potreben za asimilacijo sladkorjev. V določenih razmerah, ko celica uporablja drugo pot ponovne oksidacije koencima, acetat kinaza katalizira reakcijo, ki vodi do tvorbe acetata iz acetil-P. S to reakcijo se s prenosom fosfata z acetil-P ponovno sintetizira ATP. V tem primeru ponovna oksidacija koencima aktivira NADH ali NADPH oksidaze v aerobnih razmerah (npr. transformacija fruktoze v manitol). Druga pot pretvorbe acetil-P vodi do nastanka očetne kisline, za kar je značilna boljša energijska bilanca. Pri tej reakciji se tvori iz molekule heksoze dodatna molekula ATP. Končna bilanca metabolizma glukoze heterofermentativnih MKB pove, da je druga pot pogostejše aktivna. Njeno koriščenje je še vedno odvisno od stopnje aeracije in prisotnosti drugih akceptorjev protonov in elektronov. Tako *O. oeni* raje producirajo laktat in etanol v delno aeriranem mediju in nasprotno laktat in acetat v dobro aeriranem mediju. Spremembe okolja ne vplivajo samo na naravo produktov, temveč tudi na sproščeno energijo in posledično na rast MKB (Lehninger in sod., 1993; Fugelsang, 1997; Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

### 2.2.1.3 Metabolizem pentoz

Določeni sevi MKB rodov *Lactobacillus*, *Pediococcus* ali *Oenococcus* fermentirajo pentoze (riboza, arabinoza, ksiloza), ne glede na to ali so homo- ali heterofermentativne MKB, po enaki poti. V reakciji, ki jo aktivirajo kinaze, se pentoze fosforilirajo z uporabo ATP. Specifične izomeraze nato vodijo reakcije nastanka molekule ksiluloze-5-P. Reakcije, ki sledijo, so že opisane v heterofermentativni poti asimilacije sladkorjev (2.2.1.2). Kljub temu, da je v tem primeru za gliceraldehid-3-P značilna enaka pot razgradnje, pa iz acetil-P nastane izključno acetat in ATP. Dejansko v tej reakciji reducirana molekula koencima ni sposobna redukcije acetil-P v etanol. Fermentacija ene molekule pentoze oskrbi celico z dvema molekulama ATP. Pot fermentacije pentoz ima boljši energijski izkoristek kot fermentacija heksoz po pentoza fosfatni poti (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

## 2.2.2 METABOLIZEM ORGANSKIH KISLIN

Med MKF ne poteka v celici MKB le metabolizem jabolčne kisline, temveč tudi citronske. MKB lahko razgrajujejo tudi druge organske kisline vina, vendar te z izjemo vinske kisline v vinu niso prisotne v večjih količinah. Nastali produkti zelo vplivajo na senzorične lastnosti vina. V moštu in vinu je prisotnih veliko organskih kislin. Najpomembnejši sta vinska in jabolčna kislina. Grozdni sok vsebuje povprečno do 1 do 8 g/L jabolčne kisline in tudi do 1 g/L mlečne kisline. Grozdje, pridelano v hladnih klimatskih področjih, vsebuje več jabolčne kisline kot grozdje iz toplejših področij (manj kot 2 g/L). Vino vsebuje od 2 do 10 g/L vinske kisline. Po MKF je mlečna kislina prisotna v vsebnostih celo do 7 g/L. Citronska kislina se nahaja v vinu v vsebnostih od 0,1 do 0,7 g/L, medtem ko je piruvične do 0,3 g/L. Jantarna kislina, ki je produkt kvasovk in je MKB ne metabolizirajo, je v vinu prisotna v



vsebnostih od 0,2 do 2 g/L. Fumarna kislina se v vinu nahaja v majhnih količinah in se dodaja po AF kot inhibitor MKB, kjer je to zakonsko dovoljeno. Glukonska kislina je produkt plesni in očetnokislinskih bakterij, v vinu je prisotna do 1,1 g/L. Ne smemo prezreti prisotnosti raznolikih fenolnih in maščobnih kislin (Bauer in Dicks, 2004; Jackson, 2000; Fleet, 2002). V raziskavi reoloških lastnosti vina so bile v stekleničenih slovenskih belih vinih določene organske kisline v naslednjih vsebnostih: od 28,8 do 97,6 mmol/L jabolčne kisline, od 1,3 do 28,9 mmol/L mlečne kisline, od 16,0 do 42,7 mol/L vinske kisline in od 2,2 do 10,0 mmol/L citronske kisline (Košmerl, 1999).

### 2.2.2.1 Metabolizem jabolčne kisline

Leta 1901 je Seifert v vinu odkril pretvorbo jabolčne v mlečno kislino in CO<sub>2</sub>. MKB transformirajo L-jabolčno kislino izključno v L-mlečno kislino. To je pot dekarboksilacije malata brez vmesnega produkta, ki bi se vključeval v druge metabolne poti. Raziskave so odkrile, da heterofermentativni koki (*Oenococcus*) iz glukoze tvorijo izključno D-mlečno kislino in iz L-jabolčne kisline izključno L-mlečno kislino. To je razkrilo, da dekarboksilacija jabolčne kisline ne poteka preko vmesnega produkta piruvične kisline temveč neposredno. Pri tej reakciji so najprej predvidevali, da sodelujeta dva encima: jabolčno-mlečnokislinski encim (JMKE) in malat dehidrogenaza (MDH). Ta dva encima sta sposobna vezave in katalize reakcij L-jabolčne kisline. MDH katalizira reakcijo pretvorbe L-malata v oksalacetat, medtem ko JMKE sodeluje pri reakciji pretvorbe L-malata v piruvat in CO<sub>2</sub>. Oksalacetat se z lahkoto dekarboksilira v piruvat in CO<sub>2</sub> in tako ti dve reakciji vodita do nastanka piruvata iz L-malata. Ker je končni produkt MKF v vinu L-mlečna kislina, bi se encima MDH ali JMKE lahko povezala z encimom laktat dehidrogenazo, ki katalizira redukcijo piruvata v L-laktat v tej metabolni poti. Ta hipoteza za MKB *O. oeni* ni bila potrjena, saj bakterije tvorijo le encim D-laktat dehidrogenazo. Tako bi se iz jabolčne kisline tvorila le D-mlečna kislina (Bauer in Dicks, 2004; Fleet, 2002; Fugelsang, 1997).

JMKE katalizira ob prisotnosti NAD<sup>+</sup> in Mn<sup>2+</sup> neposredno dekarboksilacijo L-jabolčne kisline v L-mlečno kislino, brez nastanka vmesnih produktov in redukcije kofaktorja. JMKE je edini encim, ki je vključen v proces pretvorbe malata v laktat. Prisotnost tega encima so dokazali pri MKB sevov rodu *Oenococcus* ter določenih vrstah rodu *Lactobacillus*. Pri kultivaciji teh MKB v številnih generacijah brez prisotnosti jabolčne kisline ima ta encim zelo nizko aktivnost. Maksimalno aktivnost ponovno doseže ob dodatku malata. Njegovo aktivnost spodbudi tudi prisotnost fermentirajočih sladkorjev. JMKE deluje le v prisotnosti kofaktorja NAD<sup>+</sup> in dvovalentnih ionov, med katerimi je najbolj učinkovit Mn<sup>2+</sup>. Optimalni pH reakcije je 5,9, kar pomeni, da v vinu reakcija poteka daleč od optimalnih razmer. Karboksilne kisline vina, kot so jantarna, citronska in L-vinska, so kompetitivni inhibitorji. Inhibitorni učinek vinske in jantarne kisline je večji na celotno celico MKB kot na beljakovino encima (Bartowsky, 2005; Bauer in Dicks, 2004; Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Versari in sod., 1999; Fugelsang, 1997).

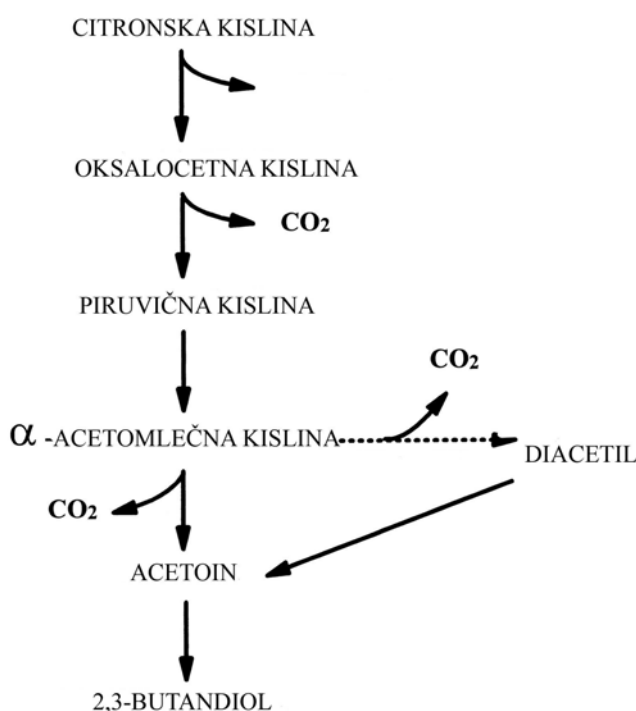
Med MKF iz 1 g jabolčne kisline nastane 0,67 g mlečne kisline in 0,33 g CO<sub>2</sub>. MKF je zaključena, ko v vinu preostane jabolčne kisline med 0,2 in 0,5 g/L (Ribéreau-Gayon in sod., 2000). MKB lahko izkoriščajo jabolčno kislino po treh različnih metabolnih poteh. Večina MKB vina vsebuje MKE, ki dekarboksilira L-malat v L-laktat brez intermediatov. Bakterije vrst *Lactobacillus casei* in *Lactococcus faecalis* vsebujejo jabolčni encim, ki pretvarja malat v piruvat in onemogoča rast na osnovi malata kot viru ogljika. Tretja metabolna pot malata je značilna za MKB vrste *Lactobacillus fermentum*, ki tvorijo iz malata D- in L-laktat, acetat, sukcinat in CO<sub>2</sub>. Pri nizkem pH (<4) se tvori v večini laktat, medtem ko se pri višjem pH (>5) tvori v večini sukcinat in acetat. Jasno je, da se pri nizkem pH malat pretvarja v laktat preko oksalacetata in piruvata, medtem ko se pri višjem pH tvori sukcinat preko fumarata (Fleet, 2002).

Pretvorba malata v laktat poteka v celici MKB, torej v zavarovanem mediju pred inhibitorji. Hitrost razgradnje jabolčne kisline je omejena s hitrostjo transporta v celico. Čeprav je optimalna vrednost

pH aktivnosti JMKE okrog 6,0, je pH medija med 3,0 in 3,5. Pri tem pH malat lažje prehaja v MKB kot pri višjem pH. Malat ima tudi fiziološko vloge pri razmnoževanju kulture MKB. Dodatek malata v gojišče MLB stimuilira hitrost in obseg rasti populacije (Bartowsky, 2005; Fleet, 2002).

### 2.2.2.2 Metabolizem citronske kisline in diacetila

Določene MKB, heterofermentativni koki in homofermentativni bacili, razgrajujejo citrsko kislino. MKB sevov, ki predstavljajo endogeno mikrofloro v vinu, kot so bakterije vrst *O. oeni*, *L. plantarum*, *L. casei* in *L. mesenteroides*, hitro koristijo citrat, medtem ko ga MKB sevov rodu *Pediococcus* in vrst *L. hilgardii* in *L. brevis* ne morejo. MKB ne izkoriščajo citronske kisline po poti trikarboksilnih kislin, ker so izključni anaerobi in zaradi odsotnosti encima malat dehidrogenaze, ki je del omenjene poti. MKB vina razgradijo citrat s citrat liazo v acetat in oksalacetat; oksalacetat se nadalje dekarboksilira v piruvat, ki se pretvori v acetat, etanol, laktat, diacetil ali acetoin (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997).



**Slika 5: Glavne metabolne poti citronske kisline pri MKB vrste *Oenococcus oeni* (Nielsen in Richelieu, 1999)**

Figure 5: Main metabolic pathways of citric acid by lactic acid bacteria species *Oenococcus oeni* (Nielsen and Richelieu, 1999)

V slovenskih belih vinih je zgornja meja vsebnosti citronske kisline omejena na 1 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004). V vinu poteka razgradnja citronske kisline istočasno z razgradnjo jabolčne kisline, vendar je mnogo počasnejša. Zato je lahko ob koncu MKF prisotna v vsebnostih do 0,15 g/L ali včasih tudi več. Citronska kislina predstavlja MKB dodaten vir energije, ki se tvori iz acetil fosfata (acetil-P), ta pa izvira iz piruvata. V prisotnosti preostanka sladkorjev (glukoze, fruktoze) del piruvata, ki izvira iz citronske kisline deluje kot akceptor elektronov ali protonov. Del acetil-P, ki nastane iz sladkorjev, vodi do nastanka acetata in ATP. V tem primeru prisotnost citronske kisline v vinu izboljša rast in preživetje MKB, še bolj opazno v prisotnosti sladkorjev (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Versari in sod., 1999).

MKB pretvarjajo citrsko kislino najprej v oksalacetat in acetat. Največje količine tega encima se tvorijo v mediju z majhno vsebnostjo sladkorjev ob prisotnosti citronske kisline, saj glukoza deluje represivno. Prva stopnja razgradnje citronske kisline vodi do nastanka oksalacetata, ki ga sevi vrste

*O. oeni* dekarboksilirajo v piruvat. Pri določenih MKB rodu *Lactobacillus* lahko iz njega delno tvorijo sukcinat in formiat. Iz piruvata se v nadaljevanju razgradnje citronske kisline tvorijo spojine diacetil, acetoin in 2,3-butandiol. Diacetil (2,3-butandion) je posebej pomemben zaradi senzoričnih lastnosti, saj je zelo aromatična spojina. Je diketon z zelo nizkim pragom zaznave. V enologiji ga opišemo s senzoričnimi deskriptorji: po maslu, po jogurtu, po mleku. Senzorična zaznava acetoina in 2,3-butandiola, ki nastane z redukcijo diacetila, je mnogo manjša. Nezaželene in zelo intenzivne vonjave diacetila so posledica delovanja MKF kvarljivcev v vinih s pH nad 3,5 (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997).

Produkti metabolizma citronske kisline so raznovrstni. Ne glede na razmere MKF se iz substrata vedno tvori očetna kislina. Nastanek ostalih produktov iz citrata je pogojen z dejavniki, ki vplivajo na razmere rasti MKB. Acetoin nastane v primeru omejene vsebnosti glukoze, nizkem pH in prisotnosti inhibitorjev rasti MKB. Dejansko glede na razmere, piruvat ni usmerjen niti v sintezo celičnega materiala (otežkočena rast), niti v sintezo laktata in etanola. Pot sinteze acetoina se smatra kot proces detoksikacije celice. Skladno z ohranjanjem znotrajceličnega pH mora celica odstraniti piruvat. Nasprotno, v primeru dobre rasti, celice izkoriščajo piruvat za sintezo maščobnih kislin, pri čemer tvorijo veliko očetne kisline. Tako ni presenetljivo, da nekatera vina vsebujejo več kot 10 mg diacetila/L. Na splošno med MKF nastanejo majhne količine diacetila. K povečanju kompleksnosti arome vina prispevajo vsebnosti diacetila pri belih vinih do 3 mg/L in pri rdečih do 5 mg/L. Opišemo jih lahko s senzoričnimi deskriptorji: po toastu, po lešnikih, kar je zaželeno. Presežne količine diacetila, 7 mg/L in več, nastanejo zaradi delovanja MKB rodu *Pediococcus* in povzročijo neprijetno aromo po maslu. Ta je razločno zaznavna in poslabša kakovost vina. MKB sevov *O. oeni* tvorijo bistveno manj diacetila kot MKB sevov *Pediococcus*, pri katerih govorimo o kvaru vina. Vsebnost diacetila in acetoina je med vini zelo različna, saj na vsebnosti vplivajo presežne količine razpoložljivega piruvata, redoks potencial vina in preostala metabolna aktivnost kvasovk. Količino nastalega diacetila določajo razmere MKF, količina razgrajene citronske kisline (od 0,2 do 0,3 g/L) in nedvomno prisotnost sevov *O. oeni*. H končni vsebnosti diacetila doprinesejo tudi druge reakcije. Med prvimi je sinteza diacetila med AF, do 0,3 mg/L, ki poteka po popolnoma drugačnih poteh in je vezana na metabolizem aminokislin. V tem primeru se diacetil reducira v acetoin z diacetil reduktazo, encimom, ki je prisoten tako v kvasovkah kot MKB. Med vinifikacijo se vsebnost diacetila poveča dvakrat; prvič med AF in drugič med MKF z razgradnjo citronske kisline. V primeru, da med AF in MKF poteče daljši čas, se med obema fermentacijama vsebnost diacetila zmanjša. Z zorenjem vina na drožeh kvasovk in MKB po končanih fermentacijah je to zmanjšanje zagotovljeno in tudi določa končno vsebnost diacetila. Nenazadnje zmanjšuje vsebnost diacetila tudi dodatek SO<sub>2</sub>. MKB ne tvorijo diacetila le iz citronske kisline, temveč v veliko manjši meri tudi iz sladkorjev po homo- ali heterofermentativni poti (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997).

Raziskava vsebnosti diacetila v vinih chardonnay osmih zaporednih trgategv je razkrila korelacijo med vsebnostjo diacetila in senzoričnim deskriptorjem po maslu (Bartowsky in sod., 2002). Martineau in sod. (1995a) poročajo, da zaznava diacetila v vinih chardonnay ni odvisna samo od njegove vsebnosti, temveč tudi od občutljivosti posameznika.

Na vsebnost diacetila v vinu vplivajo mnogi dejavniki: sev MKB, vrsta vina, čas inokulacije in količina starterske kulture MKB, zorenje vina na drožeh, vsebnost SO<sub>2</sub> in citronske kisline, temperatura MKF, začetni pH vina/mošta in vsebnost sladkorjev. Diacetil je produkt metabolizma ne le vinskih MKB, temveč tudi rodu *Streptococcus* (Bartowsky in Henschke, 2004). Raziskave so razkrile tvorbo diacetila in acetoina tudi pri različnih sevih kvasovk ne le vrste *S. cerevisiae*, temveč tudi *Kloeckera apiculata*, *Candida stellata*, *Metschnikowia pulcherrima* in *Brettanomyces bruxellensis* (Romano in sod., 2003). Kvasovke *S. cerevisiae* med svojim metabolizmom tvori majhne količine acetoina, do 12 mg/L (Romano in Suzzi, 2002). Vsebnost diacetila v vinu je bolj odvisna od vsebnosti kisika in redoks potenciala, manj od vsebnosti citronske kisline ter SO<sub>2</sub> (Nielsen in Richelieu, 1999). Primerjalna raziskava o vplivu sorte vina na vsebnost diacetila je potrdila hipotezo tako s kemijskega

kot s senzoričnega vidika (Martineau in sod., 1995b). SO<sub>2</sub> se kot antioksidant lahko reverzibilno veže z diacetilom in trenutno zmanjša njegovo vsebnost v vinu, vendar se ta med zorenjem vina lahko ponovno poveča zaradi sproščanja SO<sub>2</sub> (Swiegers in sod., 2005).

### 2.2.2.3 Metabolizem vinske kisline

MKB vina lahko metabolizirajo tudi vinsko kislino, vendar se ta metabolizem razlikuje od razgradnje jabolčne in citronske kisline. Razgradnja vinske kisline je bolezen vina, ki jo je opisal že Pasteur. Povezana je z delovanjem MKB rodu *Lactobacillus* in pH vina nad 3,5. V nasprotju z metabolizmom malata, poteka v aerobnih razmerah. Njen pojav je nevaren, saj razgradnja vinske kisline, najpomembnejše kisline vina, zmanjšuje kislost in je povezana z velikim povečanjem vsebnosti očetne kisline. Pri tem nastajata tudi jantarna kislina in CO<sub>2</sub>. Razgradnja vinske kisline je lahko delna ali popolna, odvisno od stopnje razvoja MKB kvarljivcev. V vsakem primeru se kakovost vina zelo poslabša. Ta bolezen vina je dokaj redka, saj so MKB sevov predvsem rodu *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. brevis*), ki so njeni povzročitelji, zelo maloštevilne in so občutljive na SO<sub>2</sub>. Ker je visoka vrednost pH po končani MKF ugodna za razmnoževanje MKB, so vina z višjo kislostjo manj prizadeta. Z upoštevanjem splošnih pravil higiene v vinski kleti in pravilno vodenim procesom vinifikacije, se pojavu te bolezni izognemo (Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997; Boulton in sod., 1996).

### 2.2.2.4 Metabolizem drugih organskih kislin

Piruvična kislina: MKB pretvorijo piruvat v laktat z encimom laktat dehidrogenazo. MKB sevov rodu *Oenococcus* in vrste *Lactobacillus casei* lahko razgradijo piruvat v acetat brez nastanka ATP. Po tej poti se piruvat najprej razcepi s piruvat-formiat liazjo v formiat in acetil-CoA. Slednji se fosforilira in nastane acetil-fosfat, ki se pretvori v acetat, pri čemer nastane ena molekula ATP. Količina metaboliziranega piruvata po tej poti je odvisna od razpoložljivosti drugih ogljikovih hidratov in pH medija. Pri omejeni količini glukoze se skoraj ves piruvat pretvori v acetat (in etanol). Metabolizem piruvata, acetaldehida in  $\alpha$ -ketoglutarata pri MKB je v vinarstvu pomemben zaradi vezave teh spojin s SO<sub>2</sub>. V vinih, kjer je potekla MKF, so uporabili manjše količine SO<sub>2</sub> za preprečevanje oksidacije in mikrobiološkega kvara. *O. oeni* dekarboksilirajo  $\alpha$ -ketoglutarano kislino in sukcinat je končni produkt te reakcije (Bauer in Dicks, 2004; Jackson, 2000; Fleet, 2002).

Glukonska kislina: MKB vrst *O. oeni* in *Lactobacillus brevis* lahko metabolizirajo glukonsko kislino v mlečno kislino, očetno kislino in CO<sub>2</sub> (Fleet, 2002; Jackson, 2000).

Sorbinska kislina, kratkoverižna nenasičena maščobna kislina, inhibitorno deluje na kvasovke v vsebnostih od 150 do 250 mg/L in plesni ter se zato dodaja v vino, zlasti v vina s preostankom sladkorja. *O. oeni* jo lahko vključijo v svoj metabolizem, pri čemer pride do negativnega vonja vina po geranijah (Bauer in Dicks, 2004; Jackson, 2000; Fleet, 2002).

Fenolne kisline: MKB, predvsem sevi *Lactobacillus*, lahko vključijo v svoj metabolizem različne fenolne kisline (ferulna, kina, šikimska kislina) kot tudi njihove estre. Pri tem nastanejo hlapni fenoli, kot so etil gvajakol, etil fenol, vinil gvajakol in vinil fenol (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Moreno-Arribas in Polo (2005) poročata, da čeprav ni poznana dekarboksilacija fenolnih kislin (ferulna, *p*-kumarna kislina) pri MKB vrste *O. oeni*, je to značilno za MKB rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus*, kar se odraža v povečani vsebnosti hlapnih fenolov, t.i. vonju po konjih. Po drugi strani pa te iste spojine v vsebnostih pod pragom zaznave dopolnjujejo kompleksnost vonja vina, kar je zaželeno (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Šikimska kislina, ki je prisotna v zelo majhnih vsebnostih, je pomembna kot intermediat v šikimat-arogenatni poti nastanka aromatskih AK, antocianidinov, flavonoidov, taninov in drugih spojin, ki so prisotne v grozdju (Macheix in sod., 1990). Izvor šikimske kisline v moštih in vinih je jagodna kožica

grozdja. Ibarz in sod. (2006) navajajo, da so v grozdju sorte sauvignon določili tri skupine aromatičnih spojin derivatov šikimske kisline: benzenoide, hlapne fenole in derivate vanilina. Sama šikimska kislina sicer nima velikega vpliva na senzorične lastnosti vina, lahko pa služi kot parameter avtentičnosti tako belih kot rdečih vin (Vrščaj in Košmerl, 2006; Fischerleitner in sod., 2005; Mardones in sod., 2005; Holbach in sod., 2001).

## 2.2.3 METABOLIZEM POLIOLOV

### 2.2.3.1 Metabolizem glicerola

Glicerol (1,2,3-propantriol) je produkt metabolizma kvasovk med AF in je ena izmed pomembnejših spojin vina, tako glede količine (4-8 g/L) kot tudi glede senzoričnih lastnosti vina. V vinu je glicerol najpomembnejši poliol. MKB med MKF ne koristijo glicerola, lahko pa se to zgodi po končani pretvorbi malata v laktat. To je značilno za MKB vrst *L. brevis*, *L. buchneri* in *P. pentosaceus*. Razgradnja glicerola škoduje vinu in je povezana s pojavom bolezni akroleinskega cika, predvsem pri rdečih vinih. Pri tem se vsebnost glicerola zmanjšuje in tvorijo se nezaželeni produkti, najpomembnejši je akrolein. Vino postane zelo grenko. Tvorijo se lahko tudi drugi produkti, kot so očetna kislina in acetoin. Količina teh produktov je odvisna od okoljskih dejavnikov ter delno od količine fermentirajočih se sladkorjev in aeracije. Pojav te bolezni je bolj odvisen od seva MKB (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Swiegers in sod., 2005). V stekleničenih belih vinih slovenskega porekla je bilo določeno od 49,95 do 132,46 mmol/L glicerola (Košmerl, 1999). Sev bakterij vrste *P. pentosaceus* N5p lahko metabolizira glicerol po glicerol kinazni ali glicerol dehidrogenazni poti, vendar je bolj pogosta glicerol kinazna pot, pri čemer se tvorijo D-laktat, acetat, diacetil in 2,3-butandiol (Pasteris in de Saad, 2005). Zakonodaja Republike Slovenije predpisuje za posamezne kakovostne razrede vin (namizna in deželna vina, kakovostna vina ZGP, vrhunska vina ZGP) najmanjše vsebnosti (4, 5, 6 g/L) glicerola (Pravilnih o pogojih ..., 2004).

### 3.2.3.2 Metabolizem manitola

Manitol (heksan-1,2,3,4,5,6-heksol) je za glicerolom drugi najbolj razširjen poliol vina. Njegov pojav v vinu je povezan z delovanjem heterofermentativnih MKB, npr. bakterije vrste *Lactobacillus brevis* in preostankom sladkorjev. Tvorba manitola je posledica pojava kvara vina in nastaja iz fruktoze (Ribéreau-Gayon in sod., 2000). MKB vseh treh rodov pa lahko manitol v nasprotju z glicerolom koristijo kot vir ogljika in energije. Vendar ga lahko MKB vrste *Lactobacillus plantarum* koristijo le ob prisotnosti kisika ali spojin, ki služijo kot akceptorji elektronov, kot sta citrat in  $\alpha$ -ketokislina. Iz 1 mola manitola nastaneta 2 mola laktata, etanol in druge spojine. Poleg glicerola in manitola lahko MKB v metabolizem vključijo tudi eritrol (Liu, 2002; Swiegers in sod., 2005).

## 2.2.4 METABOLIZEM AMINOKISLIN

Aminokislina (AK) so zelo pomembne sestavine mošta in vina. Kot vir dušikovih spojin odločajo o poteku in dokončanju AF in tudi MKF. So vmesni produkti raznovrstnih aromatičnih spojin vina ter nezaželenih biogenih aminov in etilkarbamata (EK) (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000). Raziskave v sintetičnem mediju vina so pokazale, da so AK pomembne tudi za tvorbo aromatičnih spojin med zorenjem vina, še posebej žveplovsobujoča AK cistein (Pripis-Nicolau in sod., 2000). Grški raziskovalci so uporabili aminokislinsko sestavo belih vin za klasifikacijo vin glede na sorto, letnik, geografsko poreklo in tip vinifikacije (Soufleros in sod., 2003).

Raziskava vsebnosti in zastopanosti AK v slovenskih stekleničenih belih vinih je pokazala veliko raznolikost. Največ primarnih AK, med katerimi je prevladoval arginin, so vsebovala vina sort sivi pinot, malvazija, chardonnay, sauvignon in rebula. Prolin je predstavljal od 22,1 do 95,4 % vseh AK.

Ugotovili so, da na osnovi vsebnosti asparagina, histidina, tirozina in metionina ne moremo razlikovati med letniki trgatve (Uhan, 2005), kot so to menili Soufleros in sod. (2003). Mlada vina chardonnay slovenskega porekla, ki so bila fermentirana z različnimi sevi in vrstami kvasovk, so vsebovala od 801 do 1264 mg/L skupnih AK. Delež prolina je predstavljal od 89,4 do 96,6 % (Wondra, 1996).

Za MKB predstavljajo AK pomemben esencialen vir asimilativnega dušika, vendar tudi vir ogljika in žvepla. Poleg AK, MKB kot vir dušika koristijo nekatere dipeptide (Fernández in sod., 2004), različne proteine in peptidne frakcije (Fleet., 2002). Eksperiment, kjer so proučevali učinek metabolizma L-jabolčne in citronske kisline na zahteve po esencialnih AK MKB vrste *O. oeni* v sintetičnem mediju revnem z njimi, je pokazal, da sta omenjeni organski kislini rast izboljšali. Citronska kislina je bila udeležena v sintezi aspartata (Saguir in de Nadra, 2002).

Pri metabolizmu MKB so AK vključene v primarne kemijske reakcije dekarboksilacije, transaminacije, deaminacije in desulfuracije (odstranitev žvepla). Med dekarboksilacijo nastajajo biogeni amini in CO<sub>2</sub>. Med transaminacijo se povečuje vsebnost AK in  $\alpha$ -keto kislin. Deaminacija ima za posledico nastanek amonijaka in  $\alpha$ -keto kislin. Cistein in metionin sta vključena v reakcije desulfuracije, iz katerih se tvorijo žveplovsebujoče hlapne spojine. Vsi omenjeni produkti so vključeni v sekundarne kemijske reakcije AK, katerih produkti so aldehidi. Ti se reducirajo v alkohole in/ali kisline, ki predstavljajo končno obliko transformacije AK (Liu, 2002; Ardö, 2006).

Zahteve po AK so različne glede na vrsto in celo sev MKB. AK so lahko strogo nenadomestljive ali so le aktivatorji rasti. Koki imajo večje zahteve po AK kot bacili. Začasno pomanjkanje AK se pojavi na začetku AF med hitro rastjo kvasovk, vendar potem navadno ne več. Metabolizem in kasneje avtoliza kvasovk vodita do sproščanja velike količine raznolikih AK. V vinu se količina določenih AK zmanjša, drugih pa naraste, verjetno zaradi hkratne hidrolize peptidov ali beljakovin. Z deaminacijo sočasno narašča tudi vsebnost amonijaka. AK celica koristi za izgradnjo beljakovin. Odvisno od seva MKB, lahko nekatere AK katabolizirajo in služijo kot vir energije (arginin, histidin) (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Vsebnost vseh prostih AK v vinu je lahko po končani MKF večja kot pred njenim začetkom. Vzrok je najverjetneje delovanje proteaz in peptidaz vina, o čemer je malo znanega. Proteaze so bile odkrite pri sevih MKB vrst *Lactobacillus plantarum* in *Lactobacillus casei*, vendar so sevi MKB vrste *O. oeni* na splošno neproteolitični (Fleet, 2002). V raziskavi proteolitične aktivnosti proteaz MKB vrste *O. oeni* v belem vinu so ugotovili, da le-te lahko oskrbijo MKB z esencialnimi rastnimi dušikovimi hranili, predvsem AK (de Nadra in sod., 1997). Temeljita študija ovrednotenja učinka različnih virov dušikovitih spojin na rast in metabolizem bakterij vrste *O. oeni* je pokazala različno proteazno aktivnost glede na vire dušika in odvisnost proteazne aktivnosti od seva (Remize in sod., 2005).

Natančen potek metabolizma posameznih AK pri MKB še ni popolnoma razjasnjen. Na to vplivajo tudi mnogi dejavniki. Posamezni sevi MKB vrste *O. oeni* lahko katabolizirajo serin v amonijak in piruvat z encimom serin deaminazo. Raziskave z asparaginsko kislino so pokazale inhibitoren učinek na rast MKB pri večjih vsebnostih, medtem ko je delovala spodbujevalno pri majhnih vsebnostih (Liu, 2002). V prisotnosti SO<sub>2</sub> in etanola, ki delujeta stresno za MKB, so MKB seva *O. oeni* X<sub>2</sub>L sprostile večje vsebnosti asparagina, fenilalanina in histidina, ki predstavljajo prehranske rastne dejavnike MKB (de Nadra in sod., 2004). MKB izolirane iz vina, še posebej sevi MKB vrste *O. oeni*, so sposobni metabolizma metionina in tvorbe hlapnih žveplovih spojin, ki vplivajo na kakovost vina (Pripis-Nicolau in sod., 2004).

#### 2.2.4.1 Metabolizem biogenih aminov

Med neželene produkte MKF sodijo toksični biogeni amini (BA). Nastanejo z dekarboksilacijo AK. Njihov metabolizem predstavlja vir energije za MKB. V vinu se poleg najbolj zastopanega histidina pojavljajo tudi tiramin, fenil etilamin, kadaverin in putrescin (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod.,

2000). V zelo majhnih vsebnostih so v vinih odkrili prisotnost redkih BA: sperminalina, spermidina in agmatina (Bauza in sod., 1995). Na splošno so BA, še posebej histamin, prisotni v vinu po končani MKF. Selekcionirani sevi za starterske kulture MKB morajo biti preverjeni na sposobnost tvorbe BA (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000). BA ne nastanejo le med MKF, ampak jih tvorijo tudi kvasovke (Torrea in Ancín, 2002). Vsebnosti določenih BA v rdečih in belih vinih iz različnih držav sveta prikazuje preglednica 3. Zakonodaja Republike Slovenije omejuje vsebnost histamina v vinih na največ 2 mg/L (Pravilnih o pogojih ..., 2004).

**Preglednica 3: Vsebnosti biogenih aminov (mg/L) v rdečih in belih vinih iz različnih držav (du Toit, 2000)**

Table 3: Biogenic amine contents (mg/L) in red and white wines of different country origins (du Toit, 2000)

Biogeni amin	Francija	Švica	Španija	Nemčija	Kanada	ZDA	J Afrika
RDEČA VINA							
Histamin	8,1	2,0	4,1	0-4	3,7	7,3	1-18
Tiramin	7,3	2,8	3,0	0-5	4,3	8,6	0-16
Putrescin	7,6	21,4	/	0-12	2,2	5,5	0-331
BELA VINA							
Histamin	4,4	1,5	0,8	/	1,9	3,6	0,1
Tiramin	6,5	7,5	1,5	/	/	3,2	0-9
Putrescin	2,3	11,1	/	/	1,3	1,7	0-42

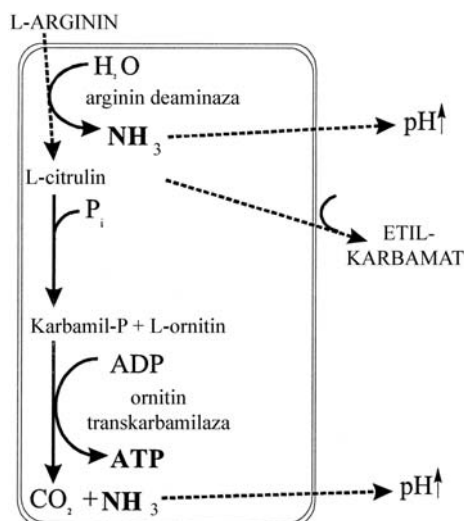
Značilnost dekarboksilacije histidina je dokazana za MKB rodov *Pediococcus* in *Oenococcus*. Prisotnost histamina v vinu kaže na pomanjkanje higiene v vinski kleti. MKB vrste *O. oeni* tvorijo v gojišču več histamina, bolj ko so razmere rasti slabše, pri pomanjkanju drugih substratov (predvsem sladkorjev), nizkem pH in prisotnosti etanola. Vsebnost histamina je seveda odvisna tudi od vsebnosti AK histidina. Dodatek droži kvasovk, iz katerih se postopoma sproščajo AK in peptidi, poveča vsebnost histamina v mediju. Značilen izvor histidina so tudi MKB, ki vsebujejo peptidaze. Zato ne preseneča dejstvo, da vsebnost histamina narašča s potekom MKF in celo narašča tudi po njenem zaključku, dokler so v mediju prisotne MKB. Encim histidin dekarboksilazo vsebuje malo sevov MKB *O. oeni*, vendar se njegova aktivnost v drožeh MKB ohrani dolgo časa. Optimalen pH za delovanje tega encima je 4,5. Izmenjava histidina, ki vstopa v celico in histamina, ki iz nje izstopa, ustvarja na nivoju membrane protonski gradient, kar vodi v nastanek ATP. Sevi MKB vrste *O. oeni*, ki koristijo histidin, imajo tako dodatno prednost, ki je lahko odločujoč faktor pri vinifikaciji, ko je medij reven s hranili. V tem primeru je lahko razvoj omenjenih MKB pospešen (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000; Lonvaud-Funel, 2001a). Martín-Alvarez in sod. (2006) trdijo, da na značilno povečane vsebnosti BA v rdečih vinih vplivajo letnik, ukrepi vinifikacije, ki povečujejo kakovost vina (zorenje vina na drožeh, dolgotrajna maceracija), medtem ko dodatek pektolitčnih encimov nima vpliva. Raziskava vsebnosti prostih AK in BA v španskih vinih je pokazala, da sorta, geografsko poreklo pridelave grozdja in letnik sicer lahko vplivajo na vsebnost preiskovanih spojin, vendar sta vpliva AF in MKF večja in zabrišeta vpliv prvih (Herbert in sod., 2005).

Študija tvorbe BA pri različnih sevih MKB vrste *O. oeni* v italijanskih vinih v optimalnih razmerah vinifikacije je pokazala, da je 60 % sevov tvorilo histamin v vsebnostih od 1 do 33 mg/L, in le nekateri so potrdili tvorbo putrescina in kadaverina (Guerrini in sod., 2002a). Pri metabolizmu AK tirozin se tvori tiramin, medtem ko iz fenilalanina nastane feniletilamin (Liu, 2002). Pri *in vitro* študiji tvorbe BA različnih MKB, vključno s tržnimi starterskimi kulturami, so ugotovili, da je večina preiskovanih MKB tvorila največ tiramina, medtem ko do tvorbe histamina ni prišlo (Moreno-Arribas in sod., 2003). Tvorba putrescina, ki ne nastane le iz ornitina, temveč tudi iz arginina, je značilna za določene seve MKB vrste *O. oeni* samostojno ali za seve *O. oeni*, za katere je značilna metabioza (Mangani in sod., 2005). Metabioza je fenomen, pri katerem se en organizem odzove na neugodne okoljske razmere v taki meri, da omogoči rast drugega ali drugih organizmov. Primer metabioze je izkoriščanje kisika aerobnih organizmov, ki lahko ustvarijo anaerobno mikrookolje, v katerih lahko uspevajo striktni

anaerobi (Singleton in Sainsbury, 1993). Nekateri sevi MKB imajo visoko aktivnost aminokislinske dekarboksilaze, še posebno sevi MKB rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus*, tudi nekateri sevi MKB vrste *O. oeni*. Delovanje omenjenega encima je vzrok za nastanek BA (Fleet, 2002). Študija proteolitične in dekarboksilazne aktivnosti 220 izolatov MKB vrste *O. oeni* je razkrila, da sta obe encimski aktivnosti značilni le za malo izolatov in da sposobnost MKB vrste *O. oeni* izkoriščanja AK in produkcije BA ni zelo odvisna od prehranskega statusa vina in ni stalna lastnost sevov (Leitão in sod., 2000).

#### 2.2.4.2 Metabolizem arginina in etilkarbamata

Arginin je najbolj zastopana AK grozdnega soka v času dozorelosti grozdja. Vsebnosti arginina v grozdnem soku variirajo od nekaj 100 mg/L do 2,4 g/L (Liu in Pilone, 1998). Za kvasovke in MKB predstavlja vir asimilativnega dušika. Za MKB je arginin lahko tudi vir energije. Na začetku AF se izmed AK mošta najhitreje in najpopolneje porablja, medtem ko se med avtolizo kvasovk sprošča v vino. Arginin je med MKF pomemben predvsem zaradi nastanka kancerogenega estra etilkarbamata (EK) (uretana). Razgradnja arginina vodi do nastanka amonijaka. To povzroči dvig vrednosti pH in večje tveganje za okužbo z MKB kvarljivci. Citrulin, drugi produkt razgradnje arginina, je prekurzor za nastanek EK. Njegova prisotnost v vinu je vedno posledica razgradnje arginina zaradi delovanja MKB. Na razgradnjo arginina vplivajo različni dejavniki: sev MKB, pH, vsebnost arginina, temperatura in vrsta sladkorja. Tvorbo EK stimulirajo višje temperature, vendar se lahko pojavi tudi pri nižjih temperaturah, pri katerih vino navadno zori. Fruktaza inhibira tvorbo EK in amonika iz arginina. Pri izbiri MKB za startersko kulturo, se mora preveriti metabolizem arginina (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Liu in Pilone, 1998; Fugelsang in sod., 1997). Kodama in sod. (1994) so določili vsebnosti EK v komercialnih vinih v območju od 15 µg/L v namiznih vinih do 60 µg/L v desertnih vinih. Slovenska zakonodaja omejuje vsebnost EK v vinih na največ 15 µg/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).



**Slika 6: Metabolna pot arginina pri mlečnokislinskih bakterijah (de Orduña in sod., 2001)**

Figure 6: Metabolic pathway of arginine by lactic acid bacteria (de Orduña and coll., 2001)

MKB arginin najpogosteje koristijo po t.i. arginin deaminazni poti, kjer se tvori tudi ATP. Poznana je tudi arginin dekarboksilacijska pot. Encim arginin deaminaza katalizira prvo reakcijo, to je deaminacijo arginina v citrulin. Nato ornitin transkרבamilaza in karbamat kinaza vodita do nastanka ornitina, CO<sub>2</sub>, amonijaka in ATP. Ta dva encima homofermentativne MKB ne vsebujejo. Dolgo je bilo razširjeno mišljenje, da so te pretvorbe sposobni le heterofermentativni laktobacili. Za seve MKB vrste *O. oeni* se je smatralo, da spadajo med MKB, ki niso sposobne hidrolize arginina. Vendar pa so



novejše raziskave dokazale nasprotno. Fleet (2002) poroča, da naj bi sevi MKB vrste *O. oeni* razgrajevali arginin, kar pa zanikajo Arena in sod. (1999). Pri MKB rodu *Lactobacillus* lahko le nekateri sevi razgrajujejo arginin (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Liu, 2002; Lonvaud-Funel, 2001a; Liu in Pilone, 1998). V primerjavi metabolizma arginina pri MKB vrst *Lactobacillus buchneri* in *O. oeni*, je le-ta potekal pri oenokokih pri višjem pH in njegov začetek je bil zakasnen v primerjavi z začetkom razgradnje malata (de Orduña in sod., 2001). Raziskava metabolizma arginina na različnih heterofermentativnih sevih bakterij vrst *Lactobacillus brevis* in *Lactobacillus hilgardii* je odkrila prisotnost citulina v celicah vseh MKB (de Orduña in sod., 2000a). Na pretvorbo arginina v citrulin so pri MKB vrste *Lactobacillus buchneri* inhibitorno delovali sladkorji riboza, glukoza in fruktoza (de Orduña in sod., 2000b). Študija tvorbe EK v rdečih vinih, kjer so kot starterske kulture MKB uporabili vrste *O. oeni* in *Lactobacillus hilgardii*, je pokazala povečane vsebnosti neodvisno od vrste MKB (Uthurry in sod., 2006).

Sintezo potrebnih encimov za razgradnjo arginina po arginin deaminazni poti spodbudi prisotnost arginina v mediju. V medij se izloči tudi majhna količina citulina, ki jo MKB vrste *O. oeni* ne vključi v svoj metabolizem, kot je značilno za laktobacile. Kot je primer pri sevih MKB, ki dekarboksilirajo histidin, imajo tudi sevi, ki razgrajujejo arginin, prednosti pred drugimi sevi zaradi tvorbe energije. ATP nastaja iz karbamin-P. Arginin stimulira rast laktobacilov, kar pa ni dokazano za seve MKB vrste *O. oeni* (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002; Lonvaud-Funel, 2001a).

## 2.2.5 METABOLIZEM EKSOCELULARNIH POLISAHARIDOV

Značilnost sinteze eksocelularnih polisaharidov je pri MKB zelo razširjena, vendar predvsem pri rodu *Pediococcus*, med katerim so v vinu najbolj zastopane bakterije vrste *P. damnosus*. To je vzrok za povečano viskoznost vina, ki jo lahko tudi senzorično zaznamo. Prisotnost polisaharidov je povezana s pojavom vlečljivosti, bolezni vina. Njen pojav je vezan na rod in vrsto MKB. Navadno so prisotne tudi oetnokislinske bakterije. Bakterije rodu *Pediococcus* se razvijejo tudi v prisotnosti alkohola več kot 12 vol.% in prostega SO<sub>2</sub> do 30 mg/L. Njihovo rast stimulira pH vina nad 3,5. V vinu pride do tvorbe polisaharidov zaradi preostanka glukoze, zadostuje že nekaj mg/L glukoze. Kvar se lahko pojavi v mladem ali zorenem vinu, tudi stekleničenem (Fleet 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

## 2.2.6 METABOLIZEM VITAMINOV IN MINERALOV

Vino predstavlja za rast MKB hranilno reven medij. Vendar lahko rast stimuliramo z dodatkom kvasnega ekstrakta, ki je bogat z vitamini, minerali, esencialnimi AK in kratkimi peptidi. Za rast in razvoj potrebujejo MKB številne vitamine, derivate nukleinskih kislin, maščobne kisline ali njihove estre ter soli. Kationi Mn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> in Na<sup>+</sup> so potrebni v vlogi kofaktorjev encimov. V prehrani laktobacilov so potrebni tudi naslednji mikroelementi: Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Mo<sup>4+</sup>, in Se<sup>4+</sup>. Natančen pomen teh ionov za MKB še ni povsem raziskan. S stališča sestave nukleinskih kislin, fosfolipidov in shranjevanja energije v obliki ATP je zelo pomemben tudi fosfor (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Vitamini nastopajo v vlogi koencimov ali njihovih prekurzorjev. MKB niso sposobne sintetizirati vitaminov skupine B, še posebej nikotinske kisline, tiamina, biotina in pantotenske kisline. Vrsta *O. oeni* potrebuje za rast tudi gvanin, adenin, ksantin in uracil. Večina laktobacilov potrebuje pantotensko in nikotinsko kislino, heterofermentativni laktobacili tudi tiamin. Še številni drugi vitamini so potrebni za posamezne seve MKB (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Vsi naštetih minerali in vitamini, kakor tudi ogljikova in dušikova hranila, so navadno v vinu zastopana v zadostnih vsebnostih. Le v izjemnih primerih se po končani AF pojavijo težave pri poteku MKF zaradi pomanjkanja hranil (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

## 2.2.7 METABOLIZEM AROMATIČNIH SPOJIN

Hlapne spojine so najpomembnejše med spojinami, ki določajo aromo vina. V vinu imajo tri izvore: grozdje, AF in MKF ter zorenje vina. V vinu poznamo preko 400 hlapnih spojin, ki so prisotne v zelo majhnih vsebnostih in zaznavne pri različnih pragih zaznave. Hlapne spojine vina predstavljajo spojine naslednjih skupin: terpene, alkohole, aldehide, ketone, estre, etre, kisline, acetale, amine in fenole. Večina hlapnih spojin vina se tvori med AF, vendar potek MKF zelo vpliva tudi na sestavo aromatičnih spojin. To je drugi razlog zaželenosti MKF. Višji alkoholi predstavljajo 50 % aromatičnih spojin vina. Večina jih nastane med AF in najpomembnejši med njimi so izoamil alkohol, amil alkohol, izobutanol in 2-feniletanol. Med zorenjem vina se iz njih tvorijo estri (Clarke in Bakker, 2004; Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000). Raziskava zmanjšanja kislosti belega vina »Moslavac«, ki je poznano po zelo visoki kislosti, s kemijskimi in mikrobiološkimi metodami, je potrdila pozitiven vpliv MKF na končno senzorično kakovost vina (Herjavec in sod., 2003). MKF se lahko pojavi tudi v vinih, ki so osnova za vinjake in tako vpliva na njihov aromatičen profil (du Plessis in sod., 2002). Kot je poznano, ima lesena vinska posoda značilen vpliv na aromo vina. Primerjava vsebnosti hlapnih spojin pri vinu sauvignon brez ali z MKF v leseni vinski posodi je pokazala večje vsebnosti spojin, ki izvirajo iz lesa v vinu, pri katerih je MKF potekla (de Revel in sod., 1999). Ocetna kislina med MKF nastaja med metabolizmom sladkorjev in citronske kisline. Povečane vsebnosti očetne kisline, acetaldehida, etilacetata in acetoina v vinih so lahko posledica delovanja glukofilnih kvasovk vrst *Hanseniaspora osmophila* in *Kloeckera corticis* med spontano AF (Granchi in sod., 2002). Diacetil, etil laktat, etil acetat, očetna kislina in acetaldehid so najpomembnejše hlapne spojine, ki nastanejo zaradi delovanja MKB.

Za aromo vina so AK pomembne kot prekurzorji višjih alkoholov in estrov. Raznolikost sestave in količine posameznih AK odločajo o nastanku ustrezne hlapne spojine. Iz AK levcin nastane izoamil alkohol, iz valina izobutanol, iz fenilalanina 2-fenil etanol in iz izolevcina amil alkohol. Seveda se tvorijo prijetne in neprijetne arome. Zelo pomembno vlogo na metabolizem AK ima sev, tako kvasovk kot MKB. Na tem področju je bilo narejenih sicer veliko raziskav, vendar zaradi raznovrstnosti spojin, ki so prisotne v majhnih vsebnostih, še vedno obstaja veliko vprašanj. Primerjava vpliva različnih starterskih kultur MKB vrst *O. oeni* in *Lactobacillus plantarum* na vsebnost AK in hlapnih spojin je potrdila značilne razlike v obravnavanih spojinah (Pozo-Bayón in sod., 2005). Študija vpliva 29 izolatov kvasovk vrste *S. cerevisiae* v povezavi z vsebnostjo AK in aromatičnimi spojinami vina chardonnay je potrdila značilne razlike v aromatičnih spojinah, ki jih je podkrepila tudi senzorična ocena (Wondra in Berovič, 2001). Raziskave vpliva dodatka dušikovih spojin in uporabe različnih sevov kvasovk na aromatični profil vin je potrdil večji vpliv kvasovk kot dušikovih spojin, vendar tudi značilne razlike v vsebnosti aromatičnih spojin (Hernández-Orte in sod., 2005a; Hernández-Orte in sod., 2005b; Vrščaj in sod., 2005; Vrščaj, 2004; Wondra, 1996). AK sestava posamezne sorte grozdja tudi vpliva na senzorične karakteristike vina. Žveplovsebujoči AK grozdja in vina sta metionin in cistein. Metabolizem metionina so odkrili pri sevih MKB vrste *O. oeni* in rodu *Lactobacillus*. Pri tem se tvorijo metantol, dimetil sulfid, 3-metilsulfanilpropan-1-ol in 3-metilsulfanilpropanojska kislina. Cistein je lahko prekurzor žveplovsebujočih heterocikličnih spojin, kot so tiazoli. Tripeptid glutation in cistein, v nasprotju z metioninom, stimulirata rast MKB vrste *O. oeni*. Žveplovsebujoče AK zaradi velike reaktivnosti z ogljikovimi spojinami, predvsem sladkorji, vstopajo v Maillardovo reakcijo. Cistein je zelo pomembna AK sorte sauvignon (Hernández-Orte in sod., 2002; Swiegers in sod., 2005) in lahko reagira tudi z diacetilom (Pripis-Nicolau in sod., 2004). Zelo pomemben za senzorične lastnosti vina je metabolizem lizina in ornitina, ki vodi do nastanka neprijetnih vonjev dušikovih heterocikličnih spojin in je vzrok za bolezen vina miševino. Na splošno je največji potencial za nastanek omenjenih spojin značilen za heterofermentativne MKB, primer so bakterije vrste *Lactobacillus hilgardii* (Swiegers in sod., 2005).

Poskus vpliva vodene MKF na sestavo hlapnih spojin v rdečih vinih je pokazal značilen porast skupnih višjih alkoholov, estrov in kislin, ki pomembno vplivajo na senzorične lastnosti in kakovost

vina (Maicas in sod., 1999). Primerjava vinifikacij vina »Frankovka«, kjer je potekla spodbujena MKF, spontano ali je bila inhibirana, ni potrdila razlik v vsebnosti višjih alkoholov, opazne pa so bile večje vsebnosti etil laktata in etil acetat (Herjavec in Tupajić, 1998). Na vsebnost prostih aromatičnih spojin belega vina, predvsem višjih alkoholov, estrov, maščobnih kislin in laktonov je zelo vplivala maceracija grozdja (Selli in sod., 2006). Ni znano, da bi MKB tvorile metanol. V slovenskih vinih je zgornja meja vsebnosti metanola omejena na 150 mg/L za bela in rose vina ter na 300 mg/L za rdeča vina (Pravilnik o pogojih ..., 2004).

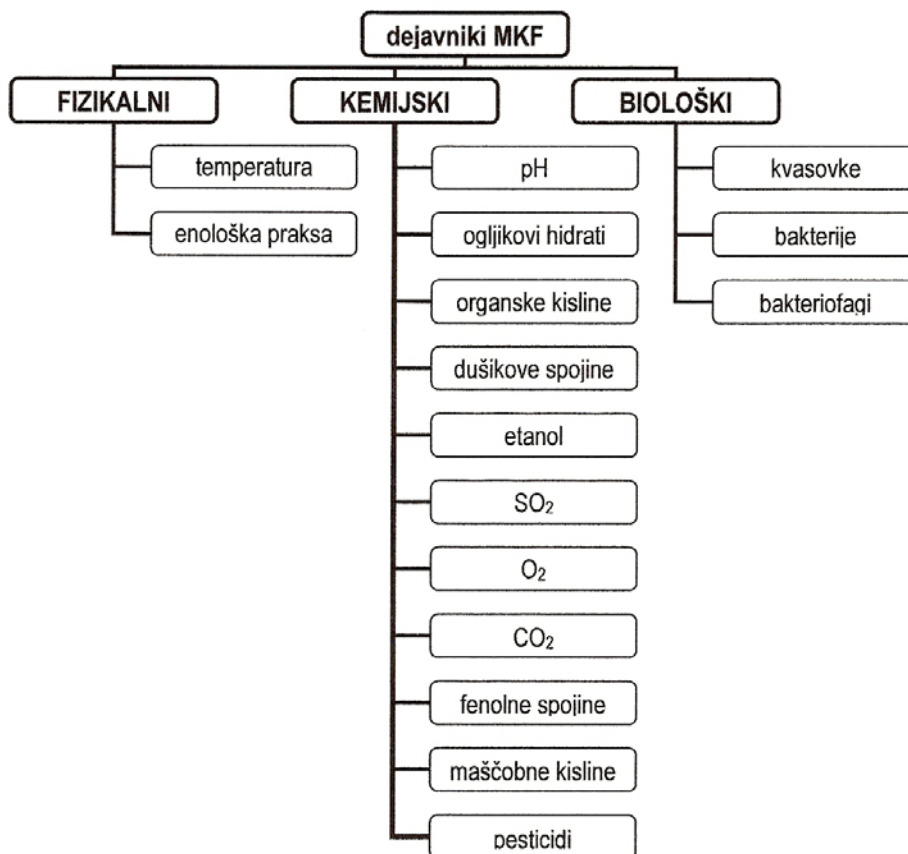
Na aromo vina ne vplivajo samo metabolizem MKB, temveč tudi njihovi encimi: glukozidaze in esteraze. Za bakterije rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus* so značilne različne glikozidazne aktivnosti, na katere vplivajo mnogi dejavniki, kot so etanol in/ali sladkorji, temperatura in pH (Grimaldi in sod., 2005a). Aktivnost  $\beta$ -glukozidaz sevov MKB bi morali upoštevati pri selekciji sevov MKB za starterske kulture, saj vplivajo na sproščanje aktivnih aromatičnih spojin in fenolov, torej na aromo in barvo vina (Barbagallo in sod., 2003). *O. oeni* predstavljajo alternativni vir glikozidaz, katere sproščajo aromatične glikozilirane spojine grozdja, ker je lahko razlaga za bolj saden karakter vin po MKF (Grimaldi in sod., 2005b; Ugliano in sod., 2003). Zaradi delovanja glikozidaz se lahko med MKF sproščajo tudi vezane aromatične glikolizirane spojine (mono-, di-, triglikozidi), ki pripadajo skupinam norizoprenoidov (damascenon), hlapnih fenolov (vinil fenol), monoterpenov (linalool, nerol, geraniol) in alifatskim spojinam (heksanol). Glikozidazna učinkovitost MKB vrste *O. oeni* je lahko odvisna od kultivarja in razmer MKF (Swiegers in sod., 2005). Glikozidaze, ki jih tvorijo sevi MKB vrste *O. oeni* med MKF, imajo nizko aktivnost in so odgovorne za sprostitvev disaharidov aglikonov, ki imajo vlogo prekursorjev arom za vinjake (D'Incecco in sod., 2004).

Grozdje vsebuje zelo malo estrov, velika večina jih nastane med AF, manj med MKF in najmanj med zorenjem vina. Estri, kot so etil acetat in estri maščobnih kislin, so v veliki meri odgovorni za sadno aromo vina (Liu, 2002; Clarke in Bakker, 2004). Na področju tvorbe estrov med MKF je narejenih malo raziskav. Poznane pa so povečane vsebnosti etilnih estrov, kot so etil acetat, etil laktat, etil heksanoat in etil oktaonat, v vinih po končani MKF. Vendar pa esteraze MKB niso odgovorne le za sintezo estrov, ampak tudi za njihovo hidrolizo (Liu, 2002). Zaradi delovanja MKB esteraz ima MKF tako velik vpliv na senzorične lastnosti vina, saj naj bi povzročile nezaželeno izgubo sadnosti vin, čemur pa ni vedno tako. Nasprotno je neencimska sinteza nekaterih estrov, še posebej etil acetata, med MKF povečana (Fleet, 2002; Jackson, 2000). Mnoge MKB tvorijo esteraze. Vendar se vsebnosti večine estrov, kot sta 2-feniletal acetat in etil heksanoat, med MKF malo spremenijo. Do zmanjšanja vsebnosti določenih estrov sicer pride, vendar je neznatno in ne povzroči opazne spremembe sadnosti vina. Vsebnosti drugih estrov, predvsem etilnih estrov (etil acetat, etil laktat, etil heksanoat, etil oktanoat) in dietil sukcinata, se navadno povečajo. Vsebnost nekaterih drugih estrov se zmanjša, kar lahko izboljša ali poslabša senzorične karakteristike vina (Jackson, 2000; Swiegers in sod., 2005). Ugliani in Moio (2005) poročata, da je razlika v sestavi hlapnih spojin rdečega vina z ali brez MKF značilna, predvsem estrov C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> maščobnih kislin, 3-metilbutil acetata, etil laktata, 2-feniletanola, 3-hidroksibutanata, metionola in  $\gamma$ -butirolaktona.

V vinu je acetaldehid najpomembnejši predstavnik aldehydov. Nastaja med AF, vendar so povečane količine v vinu nezaželene in so povezane z oksidacijo vina. Raziskave so odkrile, da predvsem MKB vrste *O. oeni* lahko metabolizirajo aldehyde (Liu, 2002). MKB rodov *Oenococcus* in *Lactobacillus* lahko pretvarjajo acetaldehid v očetno kislino in etanol ter tako vplivajo na barvo vina. Sposobnost koriščenja acetaldehida vezanega s SO<sub>2</sub>, deluje inhibitorno na potek MKF, zaradi sproščanja SO<sub>2</sub> (Swiegers in sod., 2005). Vpliva tudi na razbarvanje nekaterih barvil (Jackson, 2000). Metabolizem acetaldehida, iz katerega sta nastali očetna kislina in etanol, je bil potrjen pri MKB rodov *Lactobacillus* in *Oenococcus*, ne pa pri *Pediococcus* (Osborne in sod., 2000). Študija zmanjšanja vsebnosti acetaldehida med MKF rdečih vin je dala pozitivne rezultate, vendar sta na to vplivala tudi pH in SO<sub>2</sub> (Morneau in de Orduña, 2005). Določanje vsebnosti organskih spojin v vinih chardonnay brez in z MKF je pokazala statistične razlike v vsebnosti diacetila, acetoina in alifatskih

nasičenih aldehydov (Flamini in sod., 2002). V različnih mladih vinih sorte chardonnay slovenskega porekla so določili od 126 do 537 mg/L izoamil alkohola, od 3,7 do 7,0 mg/L izobutanola, od 34,3 do 85,7 mg/L 2-feniletanola, od 12,3 do 73,7 mg/L etil acetata, od 11,0 do 18,7 mg/L etil laktata in izoamil acetata od 136 do 392 mg/L (Wondra, 1996).

## 2.3 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA MLEČNOKISLINSKO FERMENTACIJO



**Slika 7: Dejavniki, ki vplivajo na mlečnokislinsko fermentacijo**

Figure 7: Parameters of malolactic fermentation

Na sam potek MKF in razvoj populacije MKB vplivajo številni dejavniki, ki jih delimo v tri skupine: fizikalni, kemijski in biološki. Optimalne vrednosti štirih najpomembnejših dejavnikov za uspešno izvedbo MKF so:

- pH večja od 3,2,
- temperatura 20-25 °C,
- prosti SO<sub>2</sub> manj kot 20 mg/L in vezani SO<sub>2</sub> manj kot 50 mg/L,
- etanol manj kot 13 vol.%.

Med fizikalnimi dejavniki je odločujoča temperatura, vendar igra veliko vlogo tudi enološka praksa. Zelo številna je skupina kemijskih dejavnikov, kamor so uvrščeni pH, sladkorji in poliolli, organske kisline, dušikove spojine, etanol, SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, fenolne spojine, maščobne kisline in pesticidi. Skupina bioloških dejavnikov vključuje interakcije kvasovk, bakterij in bakteriofagov z MKB. Med vsemi omenjenimi dejavniki lahko izpostavimo temperaturo, pH, alkohol in SO<sub>2</sub>. Pomembni so tudi drugi dejavniki, vendar imajo manjšo vlogo in jih lahko opredelimo le za nekatere razmere. Nobenega izmed dejavnikov ne moremo obravnavati posamično, saj delujejo kot celota. Težko tudi določimo njihove točne meje vpliva (Clarke in Bakker, 2004; Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995).

## 2.3.1 FIZIKALNI DEJAVNIKI

### 2.3.1.1 Temperatura

Vpliv temperature na MKF je poznan zelo dolgo. Proces se v vinskih kletah sproži takoj po končani AF, ko se sprošča toplota ali spomladi, ko se temperatura v vinskih kletah poveča. Za pospešitev MKF se lahko prostori ogrevajo, tako da je temperatura vina večja od 20 °C. Čeprav ima temperatura neposreden vpliv na hitrost in fazo rasti MKB, pa je izrazit njen vpliv na hitrost razgradnje jabolčne kisline. Višja temperatura spodbuja biokemijske in kemijske reakcije MKF. Razgradnja jabolčne kisline poteka najbolje pri temperaturah med 20 in 25 °C. V praksi je priporočena temperatura za potek MKF okrog 20 °C. Pretvorba jabolčne kisline v mlečno pri 15 in 30 °C poteka počasneje. Pri temperaturah pod 18 °C se začetek in trajanje MKF zamakneta in pri 10 °C se dekarboksilacija ustavi. MKB večine sevov vrste *O. oeni* pri temperaturi pod 15 °C rastejo zelo počasi ali pa sploh ne. Vendar pa nizke temperature ohranjajo celice žive. MKF v vinu poteka tudi pri temperaturah med 10 in 15 °C. Vendar se je v tem primeru zadostna količina biomase MKB predhodno namnožila v ugodnih razmerah. Po končani MKF ohlajena vina še mesece vsebujejo veliko populacijo MKB. Temperatura nad 25 °C zelo upočasnjuje rast MKB vrste *O. oeni*, vendar pa pospeši rast MKB rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus*. V tem primeru se poveča tveganje kvara in večje tvorbe hlapnih kislin (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000; Fugelsang, 1997).

Optimalni temperaturni interval za rast MKB vrste *O. oeni* je med 27 in 30 °C, vendar to ne velja za alkoholni medij, torej vino. Ko vsebnost alkohola naraste na 13 vol.%, se optimalna temperatura za rast MKB zmanjša. Hlajenje zaustavlja rast MKB, vendar je ne prepreči in posledično se zmanjša celična aktivnost. MKF v vinu poteka, ko se je že začela, tudi v primeru zelo nizkih temperatur, vendar traja zelo dolgo. Čas razgradnje celotne jabolčne kisline tako lahko traja od 5 dni do nekaj tednov ali celo mesecev. Skupaj s pH je temperatura zagotovo dejavnik, ki ima največji vpliv na potek MKF v določenem vinu. Hkrati ta dejavnik najlažje spremljamo in kontroliramo (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000; Fugelsang, 1997). Delaquis in sod. (2000) navajajo, da so imele večji vpliv na sestavo vina interakcije med MKB in kvasovkami kot temperatura poteka MKF.

### 2.3.1.2 Enološka praksa

Enološka praksa je tretji fizikalni dejavnik MKF in tudi odločilno vpliva na začetek, potek in dokončanje MKF. Maceracija jagodnih kožic v večini primerov poveča pogostnost pojava in hitrost MKF zaradi sprostitve povečanih količin manoproteinov in zmanjšano produkcijo maščobnih kislin. To je razlog bolj pogoste spontane MKF v rdečih (z dolgotrajno maceracijo) v primerjavi z belimi vini. Višja vrednost pH večine rdečih vin je prav tako nedvomno zelo pomembna. Pretok in bistrenje vina neposredno vplivata na zmanjšanje populacije MKB, zlasti bistrenje spodbuja sedimentacijo MKB s kvasovkami in ostanki delcev grozdja. S pretakanjem, čiščenjem in filtriranjem vina se vsebnost hranil zelo omeji. Uporaba SO<sub>2</sub> je zelo odločilna za MKF (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000; Boulton in sod., 1996). Na MKB vpliva tudi vinska posoda: lesena ali iz nerjavnega jekla. Raziskava, katere namen je bil odkriti učinek lesnih laktonov evgenola, izoevgenola in vanilina na rast MKB vrste *O. oeni* v sintetičnem mediju v povezavi s sestavo hlapnih spojin, je potrdila možnosti interakcije MKB z omenjenimi spojinami lesa, pri čemer so nastale različne hlapne spojine (de Revel in sod., 2005).

## 2.3.2 KEMIJSKI DEJAVNIKI

### 2.3.2.1 pH

Začetna vrednost pH vina ali mošta izrazito vpliva na MKF; na začetek in hitrost MKF ter MKB katerega rodu oziroma seva bodo sprožile in vodile MKF. pH je zelo pomemben dejavnik MKF in ga moramo upoštevati pri (Ribéreau-Gayon in sod., 2000):

- selekciji najbolje prilagojenih sevov MKB,
- rastni fazi MKB,
- mlečnokislinski aktivnosti MKB,
- lastnostih metabolizma substratov.

Nizek pH ne samo upočasnjuje potek MKF, temveč jo lahko tudi onemogoči. MKB so sicer acidofilne, vendar predstavlja pH 3,0 spodnjo mejo njihovega obstoja. Pri pH pod 3,5 prevladujejo MKB vrste *O. oeni*, medtem ko so pri pH nad 3,5 prevladujoče MKB rodov *Lactobacillus* in *Pediococcus*. Nizek pH poveča občutljivost celične membrane MKB na etanol in vsebnost prostega SO<sub>2</sub>. pH tudi značilno vpliva na sestavo in delež nenasičenih maščobnih kislin celične membrane. Prav tako vpliva na metabolno aktivnost MKB. MKB fermentirajo sladkorje veliko bolj učinkovito pri višjih pH. Podobno se poveča tudi sinteza acetat, medtem ko se tvorba diacetila v povezavi s pH zmanjša. Vpliv pH je opazen tudi pri metabolizmu jabolčne in vinske kisline. Razgradnja jabolčne kisline je večja pri nizkih pH, medtem ko je razgradnja vinske kisline večja pri pH nad 3,5 (Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Rast MKB zaradi kislosti v mediju se ustavi, ko pH v celici doseže določeno mejo, ki je odvisna tudi od narave kisline. Sevi vrst MKB *O. oeni* in *L. plantarum* se najbolje prilagodijo večji kislosti. Mehanizmi prilagoditve MKB na kislost niso natančno poznani, vendar zelo vplivajo na naravno selekcijo teh sevov v vinu. V vinih z relativno visokim pH se nahaja najbolj raznolika flora MKB. Ta vina so mikrobiološko manj stabilna, saj vsebujejo MKB kvarljivce. Na isti način kot pH pospešuje rast MKB, dvig pH izboljša njihovo preživetje (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002; Jackson, 2000).

Razen na rast vpliva pH na celotno aktivnost celice MKB. Optimalni pH za delovanje jabolčno-mlečnokislinskega encima je 5,9, medtem ko je optimalni pH za aktivnost sevov MKB vrste *O. oeni* med 3,0 in 3,2. Tako se običajne vrednosti pH vin dobro ujemajo z največjo mlečnokislinsko aktivnostjo celice MKB. Vedeti pa moramo, da je raven MKF odvisna ne samo od aktivnosti, temveč tudi od številčnosti populacije MKB. pH vpliva na enak način na aktivnost in številčnost celic. Posledično, ko so razmere vseh ostalih dejavnikov enake, poteka MKF hitreje pri višjih pH. MKB lažje tolerirajo višjo alkoholno stopnjo in večjo vsebnost SO<sub>2</sub> ob višjem pH kot ob nižjem (Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

V povezavi z vplivom na rast populacije MKB vpliva pH tudi na aktivnost pretvorbe substratov. Optimalni pH za asimilacijo jabolčne kisline in sladkorjev se ujema z najmanjšim pH, pri kateri še poteka pretvorba substrata, vendar je odvisna tudi od rodu in seva MKB. Mejna vrednost pH za asimilacijo jabolčne kisline je nižja (3,23) kot za sladkorje (3,51). V območju med tema dvema pH, MKB razgrajujejo jabolčno kislino brez fermentacije velikih količin sladkorjev in tako je povečanje hlapnih kislin majhno (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002).

### 2.3.2.2 Ogljikovi hidrati in polioli

Kemijska sestava vina ali mošta zelo vpliva na potek MKF. Ogljikovi hidrati in polioli predstavljajo najbolj značilno skupino spojin, ki so vključene v fermentacijo kot vir energije za rast MKB. Večina suhih vin vsebuje med 1 in 3 g/L preostanka sladkorjev v obliki heksoz in pentoz. V vinih se nahajajo tudi različne količine di- in trisaharidov, sladkih alkoholov, glikozidov, glicerola in drugih poliolorov. Med

posameznimi sevi in rodovi MKB obstaja velika raznolikost v sposobnosti koriščenja omenjenih hranil. Na sposobnost fermentacije ogljikovih hidratov vplivata tudi etanol in vrednost pH. Večina poliolov se le slabo izkoristi (Jackson, 2000; Fleet, 2002).

Polisaharidi, ki jih sprostijo kvasovke pred ali med svojim odmiranjem ob koncu AF, stimulirajo rast MKB vrste *O. oeni*. Bistrenje mošta pred AF poveča naknadno sprostitev polisaharidov kvasovk. Povečana vsebnost glikozidov v MKB ob prisotnosti polisaharidov kvasovk je razlaga, da lahko predstavlja hidroliza polisaharidov izvor ogljika za rast MKB. Občasno pri spremljanju MKF opazimo značilno povečanje vsebnosti glukoze in fruktoze. Vsebnost sladkorjev lahko naraste zaradi razpada kompleksnih sladkorjev (trehaloza), hidrolize fenolnih glikozidov ali sprostitve sladkorjev zaradi pirolizne hidrolize hemiceluloze v ožganih hrastovih sodih (Jackson, 2000; Fleet, 2002).

### 2.3.2.3 Organske kisline

MKB poleg jabolčne kisline v svoj metabolizem vključujejo tudi druge organske kisline. Pomen metabolizma organskih kislin za tvorbo energije, potrebne MKB, ni poznan. Vendar se pri metabolizmu organskih kislin in prenosu protonov skozi celično membrano ustvari dovolj osmotskega potenciala, ki aktivira fosforilacijo ADP v ATP. Metabolizem majhnega deleža jabolčne kisline lahko poteka tudi po drugih poteh, ne samo z dekarboksilacijo v mlečno kislino, pri čemer se lahko tvori majhna količina energije (NADH) (Jackson, 2000; Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997).

### 2.3.2.4 Dušikove spojine

MKB imajo zelo kompleksne zahteve po dušikovitih hranilih. AK so za MKB glavni vir asimilativnega dušika. Zahteve po AK so različne glede na vrsto in celo sev. AK so lahko strogo nenadomestljive ali so le aktivatorji rasti. Koki imajo večje zahteve po AK kot bacili. Poznano je, da se med MKB vsebnosti posameznih AK v vinu lahko povečajo, zmanjšajo ali ostanejo nespremenjene. Razlog tega je prisotno delovanje proteaz, ki sprostijo AK iz topnih beljakovin. Dodatno se AK sproščajo zaradi avtolize kvasovk. Zdi se, da ostaja stalna le vsebnost arginina, zaradi biokonverzije v ornitin. Sečnina pri tem ne nastane in tako ne pride do reakcije z etanolom in tvorbe nezaželenega EK. Zmanjšanje vsebnosti AK je verjetno najbolj povezano z vgradnjo v beljakovine. Zmanjšanje lahko pripišemo tudi dekarboksilaciji AK v BA. Pri metabolizmu AK z vezanim SO<sub>2</sub> se lahko sprosti dovolj SO<sub>2</sub>, da upočasni ali celo zaustavi MKF. Med dušikovimi spojinami imajo veliko vlogo pri aktivaciji rasti MKB purinske in pirimidinske baze. Zahteve po adeninu, gvanidinu, uracilu, timinu in timidinu so odvisne od seva, niso pa vedno bistvene za rast MKB (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fleet, 2002).

### 2.3.2.5 Etanol

Splošno znano je, da etanol inhibira rast MKB, vendar je to odvisno od rodu in vrste. MKB rodu *Lactobacillus* so najbolj tolerantne na etanol in bakterije vrste *L. trichodes* lahko rastejo v vinih, ki vsebujejo do 20 vol.% etanola. Nekateri sevi MKB vrste *O. oeni* uspevajo v vinih do 15 vol.% alkohola. Toleranca MKB na etanol se zmanjšuje tako s povečanjem temperature kot zmanjšanjem vrednosti pH. Dosedanje raziskave kažejo, da majhna vsebnost etanola (1,5 vol.%) celo izboljšuje rast MKB (Jackson, 2000).

Mehanizem toksičnosti etanola je nepoznan, vendar najverjetneje vključuje spremembe prepustnosti celične membrane MKB. Poslabšano delovanje celične membrane je vzrok za motnjo rasti, zmanjša število živih celic in povzroči počasen potek MKF v vinih z visoko vsebnostjo alkohola. V primeru, da se vsebnost etanola v vinu poveča iz 11 na 13 vol.%, se dekarboksilacija jabolčne v mlečno kislino

zmanjša tudi do 80 % (Jackson, 2000). Raziskava vpliva etanola in nizke vrednosti pH na metabolizem arginina in citrulina pri različnih MKB je pokazala velik vpliv etanola na tvorbo EK v povezavi z rodovoma MKB (Arena in de Nadra, 2005).

### 2.3.2.6 Žveplov dioksid

Na MKB ima med plini največji vpliv  $\text{SO}_2$ . Njegov učinek je kompleksen zaradi različnih vsebnosti in toksičnosti mnogih oblik  $\text{SO}_2$  v vinu. Izmed treh oblik  $\text{SO}_2$  ima največji protimikrobni učinek prosti  $\text{SO}_2$ . Na delež prostega  $\text{SO}_2$  najbolj vpliva vrednost pH in sicer se vsebnost prostega  $\text{SO}_2$  zmanjšuje s povečanjem pH. To moramo upoštevati po končani MKF, da vino ustrezno zaščitimo. Na občutljivost MKB na  $\text{SO}_2$  zelo vpliva temperatura. V vseh primerih pa je učinek  $\text{SO}_2$  bolj bakteriostatičen kot baktericiden. Različni rodovi in sevi MKB so različno občutljivi na  $\text{SO}_2$ . Na splošno velja, da so bakterije rodu *Oenococcus* med MKB vina najbolj občutljive na  $\text{SO}_2$ . Zaradi visoke tolerance MKB rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus* so te MKB lahko prisotne v vinih z visokim pH pri običajnih količinah dodanega  $\text{SO}_2$  (Jackson, 2000).

V praksi je razširjeno splošno pravilo, da se MKB težko razvijajo pri vsebnosti  $\text{SO}_2$  enaki ali večji od 100 mg skupnega  $\text{SO}_2/\text{L}$  in 20 mg prostega  $\text{SO}_2/\text{L}$ . Razumljivo je, da rezultat ni enak pri vrednosti pH 3,2 in 3,8. Vezani  $\text{SO}_2$  tudi pripomore k inhibiciji MKB. MKB so sposobne metabolizirati acetaldehid v povezavi s sproščanjem  $\text{SO}_2$ . Vezani  $\text{SO}_2$  naj bi pet do desetkrat manj učinkovito deloval na MKB kot prosti  $\text{SO}_2$  (Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Izkazalo se je, da so bile MKB seva *O. oeni*, prilagojene na kislino, manj občutljive na dodatek  $\text{SO}_2$  v primerjavi s kislinsko neprilagojenimi MKB (Guzzo in sod., 1998). Študija sposobnosti različnih sevov kvasovk vrste *S. cerevisiae* inhibicije MKB vrste *O. oeni* v moštu chardonnay je nakazala, da ima lahko vezani  $\text{SO}_2$  večji vpliv na inhibicijo MKF kot smo predvidevali (Larsen in sod., 2003). Raziskava učinka treh letnikov ter različnih starterskih kultur kvasovk in dodatka  $\text{SO}_2$  na dinamiko populacije sevov endogene mikroflore bakterij vrste *O. oeni* v novi vinski kleti, je pokazala večji vpliv letnika kot ostalih dveh parametrov (Reguant in sod., 2005a).

### 2.3.2.7 Kisik

MKB so različno dovzetne za prisotnost  $\text{O}_2$ . Čeprav so MKB izključno fermentativne, lahko majhne količine  $\text{O}_2$  ugodno vplivajo na potek MKF. Ker pri MKB ne poteka respiracija, ne potrebujejo za rast niti sterolov niti nenasičenih maščobnih kislin.  $\text{O}_2$  izboljšuje redoks potencial zaradi reakcije s flavoproteini (Jackson, 2000).

Dejansko je obnašanje MKB vina lahko zelo različno glede na  $\text{O}_2$ . MKB so lahko fakultativno anaerobne in se bolje razmnožujejo v odsotnosti  $\text{O}_2$ . Nekatere so aerotolerantne, torej jih prisotnost  $\text{O}_2$  ne moti, vendarle ga ne izkoriščajo. Nekatere MKB so mikroaerofilne in tako za optimalno rast potrebujejo majhne vsebnosti  $\text{O}_2$ . Vendarle so MKB vrste *O. oeni* izključno anaerobne. Nadalje je odnos določenega seva MKB lahko zelo odvisen od  $\text{O}_2$  zaradi vpliva okolice (Ribereau-Gayon in sod., 2000). Spremljanje vpliva aeracije in temperature med AF na potek spontane ali vzpodbujene MKF s sledenjem rasti populacije bakterij vrste *O. oeni* je potrdil predvidevanja, da je pomankanje  $\text{O}_2$  vzrok za zaostalo AF in hitrejši razvoj avtohtonih MKB, ki preprečujejo pravilen razvoj starterske kulture MKB (Reguant in sod., 2005b).

### 2.3.2.8 Ogljikov dioksid

Poskusi so pokazali, da  $\text{CO}_2$ , tako kot  $\text{N}_2$ , aktivira rast MKB. Predviden mehanizem delovanja  $\text{CO}_2$  se zaključi z nastankom oksalacetata preko karboksilacije piruvata. Tako oksalacetat kot piruvat pripomoreta k ohranitvi zelenega redoks ravnotežja in pripomoreta k biosintezi AK (Jackson, 2000).



### 2.3.2.9 Fenolne spojine

Fenolne spojine lahko na rast MKB delujejo kot inhibitorji ali stimulatorji. Veliko bolj kot pri MKF belih vin, so fenolne spojine pomembne za MKF rdečih vin. Različne fenolne kisline (ferulna, kumarna, kina, šikimska kislina) kot tudi njihove estre nekatere MKB, predvsem sevi rodu *Lactobacillus*, vključujejo v svoj metabolizem. Tvorijo se hlapni fenoli, katere prepoznamo po vonjih, ki jih opišemo s senzoričnimi deskriptorji medicinski, po konjih, po hlevu. Le v redkih primerih lahko njihova vsebnost naraste nad prag zaznave, tako da niso karakteristične za MKF. V zelo majhnih vsebnostih so zaželeni, v povečanih pa nezaželeni (Jackson, 2000; Lonvaud-Funel, 2001b).

Fenolne spojine v vsebnostih, v katerih se nahajajo v vinu, nimajo zaviralnega učinka na potek MKF. Vendar pa maceracija drozge s pecljevino lahko opazno upočasni začetek MKF. Enak učinek ima lesena vinska posoda, v nasprotju z nerjavno posodo. Na to najverjetneje vplivajo procianidini in elagotanini kot tudi vanilinska kislina in eskulin, ki izvirajo iz lesa in tako zmanjšujejo število živih celic MKB. Nasprotno pa antociani in galna kislina ugodno vplivajo na živost populacije MKB (Jackson, 2000; Lonvaud-Funel, 2001b). Raziskave so pokazale, da MKB metabolizirajo galno kislino in antociane, še posebej v rastni fazi (Vivas in sod., 1997). Reguant in sod. (2000) poročajo, da galna kislina zakasni ali celo zaustavi nastanek očetne kisline pri metabolizmu citrata.

Raziskave vpliva fenolnih spojin na metabolizem citronske kisline in sladkorjev pri MKB vrste *O. oeni* v sintetičnem mediju so pokazale, da so fenolne spojine zmanjšale porabo sladkorjev in povečale porabo citronske kisline, kar je bil vzrok za večje vsebnosti očetne kisline (Rozés in sod., 2003). Glikolaldehid, produkt redukcije glioksala, ki je vključen v redoks sistem metabolizma bakterij vrste *O. oeni*, je povzročil porjavenje katehina v sintetičnem mediju vina, kar vpliva na barvno stabilnost predvsem belih vin (Flamini in Vedova, 2003). Toksičen vpliv fenolnih kislin za MKB je povezan z vrsto kisline. Raziskava vpliva fenolnih kislin na celično membrano bakterij izbranih sevov MKB vrst *O. oeni* in *Lactobacillus hilgardii* je pokazala, da ima največji toksičen vpliv *p*-kumarna kislina. Na splošno je bil učinek hidroksicimetnih kislin hitrejši kot učinek hidroksibenzojskih kislin (Campos in sod., 2005).

### 2.3.2.10 Maščobne kisline

Maščobne kisline so produkt AF. Na MKB delujejo inhibitorno in prispevajo k antagonizmu kvasovk do MKB. Najbolj prisotne so oktanojska, dekanajojska in dodekanojska kislina. Če je vsebnost dekanajojske večja od 12,5 mg/L in dodekanojske od 2,5 mg/L, ne delujeta več stimulatorno pri nizkih vsebnostih alkohola, ampak imata toksičen učinek na MKB, ki se večja z večanjem vsebnosti etanola. Zorenje vina na drožeh omili učinek maščobnih kislin, saj se tako njihova vsebnost zmanjša (Bauer in Dicks, 2004; Jackson, 2000). Guerrini in sod. (2002b) navajajo, da določeni sevi MKB vrste *O. oeni* niso sposobni sinteze oleinske kisline in le-ta lahko deluje kot dejavnik preživetja MKB. Tvorba srednjevrižnih maščobnih kislin ( $C_6$ - $C_{12}$ ), ki so produkt kvasovk, je vzrok antagonizma med kvasovkami in MKB (Alexandre in sod., 2004). Povečana količina dolgoverižnih maščobnih kislin, ki so v mošt prešle med predfermentativno maceracijo drozge sorte chardonnay, so ugodno vplivale na rast in živost kvasovk vrste *S. cerevisiae*. Tako se je povečala količina manoproteinov, ki so zmanjšali vsebnost maščobnih kislin in izboljšali razmere za rast MKB. V poskusu so se kot toksične izkazale samo  $C_{10}$ - in  $C_{12}$ -maščobne kisline, še posebej estri (Guilloux-Benatier in sod., 1998).

### 2.3.2.11 Pesticidi

Malo je znanega o možnih vplivih ostankov pesticidov na delovanje bakterij, še posebej na MKB. Raziskave na tem področju so zelo redke. Poznani so primeri za posamezne tržne pripravke. Vinklozolin in iprodion zaustavita rast MKB, vendar se hkrati poveča rast očetnokislinskih bakterij.

Cimoksanil in diklofluanid tudi inhibirata MKB, nasprotno pa danenalaksil, karbendazim in triadimefon ne vplivajo na MKB (Jackson, 2000). Raziskave aktivnosti treh sevov MKB vrste *O. oeni* so razen učinka prostega SO<sub>2</sub> in dodekanojske maščobne kisline potrdile tudi značilen inhibitoren učinek pesticidov na osnovi bakra (Carreté in sod., 2002). Študija vsebnosti fungicidov in insekticidov v rdečem vinu ter njihov vpliv na MKB vrste *O. oeni* je pokazala zmanjšanje vsebnosti nekaterih pesticidov, vendar tudi inhibitoren učinek določenih na razgradnjo malata (Ruediger in sod., 2005). Bakterija vrste *Bacillus thuringiensis*, biološki insekticid, ki se uporablja pri pridelavi grozdja, je inhibitorno vplival na rast *O. oeni* v trdnem gojišču, ne pa tudi v tekočem mediju (Bae in sod., 2004). Zaviralni učinek bakra in diklofluanida na MKB je odvisen od njiune vsebnosti v moštu (Bordons in sod., 1998).

### 2.3.3 BIOLOŠKI DEJAVNIKI

V vinu ali moštu je prisotna raznolika mikroflora kvasovk, bakterij, plesni in virusov. Med mikroorganizmi poteka naravna selekcija skladno z okoljskimi razmerami: sestava vina/mošta, oksido-redukcijski potencial, ter s specifičnimi interakcijami antagonizma in sinergizma med različnimi mikroorganizmi. Vpliv bioloških dejavnikov na MKF je zelo zapleten in kompleksen, tako kot vpliv že omenjenih fizikalnih in kemijskih dejavnikov. Večina bioloških dejavnikov zavira rast MKB. Glede na veliko raznolikost mikroorganizmov in njihove spremenljive sposobnosti prilagoditve v mediju, med njimi potekajo številne interakcije, med katerimi jih dobro poznamo le malo (Fleet, 2002; Fugelsang, 1997).

#### 2.3.3.1 Kvasovke

Primeri sočasnega spontanega poteka AF in MKF zelo redki. MKB zaviralno delujejo na rast kvasovk in tako povzročijo zastoje v AF. Bolj pogosta je inhibicija MKB s kvasovkami. Tako MKF poteče dneve, tedne ali mesece po končani AF. Okužba vina s kvasovkami kvarljivci, kot so kvasovke rodov *Pichia*, *Candida* in *Saccharomyces*, tudi lahko zavira rast MKB. Med kvasovkami in MKB ločimo tri vrste interakcij (Alexandre in sod., 2004):

- inhibicija MKB zaradi delovanja kvasovk,
- kvasovke stimulirajo rast MKB,
- inhibicija kvasovk zaradi delovanja MKB.

Interakcije med kvasovkami in MKB so odvisne tudi od posameznega seva tako kvasovk kot MKB (Comitini in sod., 2005). Kvasovke delujejo inhibitorno na MKB zaradi več dejavnikov. Glavni vzrok je biosinteza SO<sub>2</sub> s strani kvasovk. Druga možnost je poraba arginina in drugih AK kot vira dušika na začetku AF. Za seve kvasovk vrste *Saccharomyces bayanus* je znano, da imajo velik inhibitoren vpliv na MKB. K temu najverjetneje pripomore težnja sinteze SO<sub>2</sub> ter kvasovk, kakor tudi njihova visoka toleranca na alkohol (počasno odmiranje in sproščanje hranil). Določeni sevi kvasovk se skupaj z MKB hitro sedimentirajo in tako povzročijo zastoj MKF. Naraščanje vsebnosti alkohola in maščobnih kislin tudi vpliva na zmanjšanje rasti MKB. Kvasovke vsebujejo beljakovine s protibakterijskim učinkom, kot je lizozim, ki so ga izolirali v nekaterih sevih vrste *S. cerevisiae* (Alexandre in sod., 2004; Hervé in sod., 2004; Costello in sod., 2003; Fleet, 2003; Jackson, 2000).

Kvasovke so dobro prilagojene na rast v moštu. Se zelo hitro razmnožujejo. Tudi MKB se razmnožujejo hitro, če jih v isti medij inokuliramo same. Okoljski dejavniki, še posebej pH in žveplanje, imajo pomembno vlogo pri razvoju mešane kulture kvasovk in MKB. Povišan pH je ugoden za rast MKB, toda žveplanje grozdja zelo omeji preživetje MKB na začetku AF. Tako imajo kvasovke prosto pot za razmnoževanje. Pri koinokulaciji kvasovk in MKB prevladajo kvasovke, vendar faza odmiranja kvasovk sovпада s hitro rastjo MKB. Med kvasovkami in MKB je prisoten antagonizem. V času hitre rasti kvasovk na začetku AF, te izrabijo zaloge AK, kar ovira

razmnoževanje MKB skupaj z delovanjem toksičnih metabolitov kvasovk, z izjemo etanola. Majhne vsebnosti alkohola (do 6 vol.%) celo pospešijo rast MKB. Med drugim so v antagonizmu vključene tudi maščobne kisline, ki jih izločajo kvasovke. Te kisline ovirajo delovanje celične membrane MKB. Po koncu AF se izkažejo tudi pozitivni učinki kvasovk na MKB. Ko kvasovke vstopijo v stacionarno fazo svojega razvoja stanje ni mirujoče: ene celice kvasovk se razmnožujejo, druge lizirajo. Lizirane kvasovke so za MKB zelo pomembne, saj so vir vitaminov, dušikovih baz, peptidov in AK. Vse te spojine pa delujejo kot rastni faktorji za MKB. Tako v zadnji fazi AF kvasovke stimulirajo rast MKB. Nekajtedensko ali nekajmesečno zorenje vina na kvasovkah spodbudi MKF. V nekaterih primerih je poleg hranil zelo pomembna tudi prisotnost raztopljenega CO<sub>2</sub>, ki se nahaja v drožeh. Ta učinek je združen z manj znanim fenomenom, v katerem MKB inhibirajo rast kvasovk. MKB v tem primeru pospešijo odmiranje kvasovk. Aktivnost glukozidaz in MKB proteaz je zagotovo odgovorna za hidrolizo celične stene kvasovk. Avtoliza kvasovk tudi umili toksičnost maščobnih kislin, ki so nastale med AF (Alexandre in sod., 2004; Fleet, 2003; Guilloux-Benatier in Chassagne, 2003; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Poskus s sintetičnim medijem vina, ki je zrelo na drožeh različnih starterskih kultur kvasovk 12 tednov, in kamor je bila inokulirana starterska kultura MKB vrste *O. oeni*, je potrdila stimulatorni učinek na rast populacije MKB, vendar so se med kvasovkami pokazale razlike (Patynowski in sod., 2002). Različni sevi MKB, izolirani iz problematičnih vin, so povzročili zastoj AF, ki so jo vodile kvasovke vrste *S. cerevisiae*, medtem ko na kvasovke vrste *Saccharomyces bayanus* niso imele takega vpliva (Huang in sod., 1996). Rezultati raziskave interakcij med različnimi kvasovkami in MKB v vinu amarone nakazuje, da lahko le-te vplivajo na potek MKF in vsebnosti aromatičnih spojin (Zapparoli in sod., 2003). Študija vpliva sevov kvasovk vrste *S. cerevisiae* in MKB vrste *O. oeni* na uspešen potek MKF je razkrila, katere kvasovke delujejo zelo inhibitorno na rast MKB, vendar je bil njihov vpliv v primerjavi z vplivom sorte in letnika manjši (Arnink in Henick-Kling, 2005). Orodja genskega inženiringa in spoznavanje novih genov MKB so vse bolj vključeni v raziskave MKF (Bartowsky, 2005). Uporaba genskega inženiringa v vinarstvu je bila vključena v raziskavo, kjer so prvič klonirali mlečnokislinski gen *mleD* iz bakterij vrste *Pediococcus damnosus* v kvasovke vrste *S. cerevisiae* in se je izrazil skupaj z genom *malat* permeazo *mael* v kvasovki vrste *Schizosaccharomyces pombe* (Bauer in sod., 2005).

### 2.3.3.2 Bakterije

V vinu in moštu so prisotne MKB in oetnokislinske bakterije (OKB). Do interakcij prihaja tako med MKB in OKB, kot tudi med posameznimi rodovi, vrstami in sevi znotraj MKB. Rast OKB med AF pogosto ugodno vpliva na rast MKB. To je posledica inhibitornega vpliva OKB na kvasovke ter posledično večje dostopnosti hranil, manjših vsebnosti alkohola in maščobnih kislin (Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribereau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang 1997).

Pomembne so tudi interakcije med posameznimi vrstami in sevi MKB. Bolj pomemben je antagonizem med različnimi sevi MKB. Pri pH nižjem od 3,5, pri katerem uspevajo MKB vrste *O. oeni*, je antagonizem redek. Pri pH nad 3,5 pa so bolj uspešne MKB rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus*, ki prevladajo nad MKB vrste *O. oeni*. Najbolj opazen je antagonizem v primeru, ko se populacija MKB vrste *O. oeni* zmanjšuje, hkrati pa se povečuje populacija MKB rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus* (Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribereau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang 1997).

MKB kot ostali mikroorganizmi sintetizirajo in sproščajo v medij spojine s protimikrobnim delovanjem; bakteriocine. Poznamo različne bakteriocine laktobacilov in kokov. Odkritih je bilo že toliko, da lahko rečemo, da vsak sev sintetizira specifičen bakteriocin. Najbolj poznana sta dva: brevicin seva MKB vrste *Lactobacillus brevis* in kazeicin seva vrste *Lactobacillus casei*. Brevicin ima široko območje delovanja in poznana je njegova inhibicija MKB vrst *O. oeni* in *Pediococcus damnosus*. Kazeicin deluje samo na MKB vrste *Lactobacillus casei*. Brevicin je majhna termostabilna beljakovina (3 kDa)

in je stabilna v širokem območju vrednosti pH. Kazeicin je manj stabilen, z veliko večjo molekulsko maso (40-42 kDa) (Ribereau-Gayon in sod., 2000). Študija bakteriocinov pediocin in lukocin ni pokazala inhibitornega učinka na kvasovke in OKB, temveč le na *O. oeni* (du Toit in sod., 2002; Bauer in sod., 2003). Spekter delovanja pediocina PD-1 na MKB v primerjavi z drugimi pediocini je bil zelo podoben, vendar v nasprotju z njimi ni deloval na MKB vrst *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* in *P. parvulus* (Green in sod., 1997). Raziskave učinkov bakteriocinov pediocina, plantaricina in nizina na komercialno startersko kulturo vrste *O. oeni*, ki so jo kultivirali na biofilmu na površini nerjavnih ploščic, je potrdila inhibitorne učinke bakteriocinov, vendar se je za najbolj učinkovitega v odstranitvi tudi neživih celic izkazal pediocin PD-1 (Nel in sod., 2002). Raziskave so v izolatu endogene mikroflore bakterij *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* pokazale sintezo bakteriocinu podobne spojine, ki je učinkovito inhibirala MKB (Yurdugül in Bozoglu, 2002).

### 2.3.3.3 Bakteriofagi

Bakterijski virusi ali bakteriofagi so zelo pomembni za potek MKF, saj jo lahko popolnoma zaustavijo. Različne vrste in sevi MKB so različno odporni na viruse, vendar je med tremi rodovi MKB rod *Oenococcus* najmanj odporen. MKB vrste *O. oeni* so najbolj občutljive na virusno infekcijo med eksponentno fazo rasti. MKB *O. oeni* so lahko nosilci virusne infekcije v neaktivni obliki (faza profag). Ker je ta oblika nestabilna pri višjih pH, se litična faza virusa ponovno sproži s povečanjem pH med MKF. Ta sicer poteka naprej, vendar je manj predvidljiva in jo vodijo MKB nezaželenih rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus* (Fleet, 2002; Ribereau-Gayon in sod., 2000).

Najboljša obramba pred bakteriofagi je močna inokulacija z MKB vrste *O. oeni*. Velika populacija zmanjša delitev celic in tako skrajša čas občutljivosti bakterij na virusno okužbo. Priporoča se tudi uporaba mešane kulture MKB, ki vsebuje različno odporne seve, saj tako zmanjšamo verjetnost, da so vsi sevi občutljivi na fage. Okužba enega seva MKB sicer lahko upočasni MKF, vendar pa je ne zaustavi (Jackson, 2000).

Karakterizacija litične aktivnosti bakteriofagov MKB vrste *O. oeni* je pokazala, da so virusi najbolj aktivni pri nizkih vrednostih pH in inficirajo celico gostitelja v zgodnji fazi rasti. Tako lahko infekcijo fagov zmanjšamo z inokulacijo s kulturo MKB v stacionarni fazi rasti. Tveganje infekcije fagov je zmanjšano tudi z zmanjšanjem števila fagov v okolju vinske kleti z izvajanjem dobre kletarske higijene. MKB vrste *O. oeni* lahko premagajo inhibicijo bakteriofagov v razmerah, ki so ugodne za njihovo rast, t.j. temperatura nad 15 °C, pH nad 3,4 in odsotnost SO<sub>2</sub>. MKB, občutljive na zmerne bakteriofage, so lahko uporabljene kot starterske kulture brez očitnih težav, vendar lahko njihova kontinuirna uporaba povzroči večjo učinkovitost fagov (Fleet, 2002).

## 3 MATERIAL IN METODE

### 3.1 MATERIAL

#### 3.1.1 MOŠTI

V okviru eksperimentalnega dela dvoletnega poskusa v letnikih 2004 in 2005, smo uporabili mošte štirih belih sort iz dveh slovenskih vinorodnih dežel, Primorske in Podravja. Odločili smo se za najbolj razširjeni slovenski sorti v posameznem vinorodnem okolišu, malvazijo in laški rizling ter klasični svetovni sorti chardonnay in sauvignon. Iz vinorodnega okoliša Koper smo v poskus vključili sorti malvazija in chardonnay. Iz vinorodnega okoliša Haloze pa sauvignon in laški rizling. Grozdje vseh kultivarjev je bilo pridelano po sistemu integrirane pridelave grozdja v vinogradih Vinakoper in Ptujске kleti vinarstvo (Pravilnik o IPGV, 2002). Grozdje je bilo namenjeno za predelavo v kakovostni razred vin.

#### Preglednica 4: Datumi trgatve posameznih kultivarjev za letnika 2004 in 2005

Table 4: Cultivators' harvest dates for 2004 and 2005 vintages

Kultivar	cv. Chardonnay	cv. Malvazija	cv. Sauvignon	cv. Laški rizling
Datum trgatve 2004	28.09.2004	01.10.2004	14.10.2004	02.11.2004
Datum trgatve 2005	03.10.2005	05.10.2005	03.10.2005	09.10.2005

#### 3.1.2 STARTERSKE KULTURE KVASOVK IN MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ

Pri poskusu smo uporabili starterske kulture kvasovk in MKB proizvajalca Lallemand. Uporabili smo kvasovke EC 1118 *Saccharomyces bayanus* v priporočeni količini 25 g/hL. Uporabljene MKB Uvaferm alfa (MKB1) in Uvaferm beta (MKB2) v priporočeni količini 1 g/hL so pripadale različnim sevom bakterij vrste *Oenococcus oeni*. MKB1 se po priporočilih proizvajalca odlikujejo po dobri fermentativni aktivnosti ter izboljšanju arome in kompleksnosti vina. Zane so kot zelo zanesljive MKB za izvedbo MKF. Za MKB2 je značilna večja prilagojenost nižjim vrednostim pH (3,2), nižjim temperaturam (14°C) in višji vsebnosti alkohola (do 14,5 vol.%). Ob pravilni izvedbi inokulacije proizvajalec zagotavlja velikost populacije starterskih kultur kvasovk in MKB od 1 do 5x10<sup>8</sup> CFU/mL.

#### 3.1.3 ENOLOŠKA SREDSTVA

Z vidika optimalnega poteka vodenih vinifikacij smo uporabili tri prehranska sredstva za kvasovke proizvajalca Lallemand v priporočenih količinah: Go-ferm 30 g/hL, Fermaid E 25 g/hL in Opti-white 40 g/hL. Prehranski sredstvi Go-ferm in Opti-white smo dodali na začetku vinifikacije, Fermaid E pa po 1/3 alkoholne fermentacije.

#### 3.1.4 KEMIKALIJE

Uporabljene kemikalije, raztopine, pufri in mikrobiološka gojišča so zapisani v nadaljevanju pri posamezni metodi.

### 3.2 ZASNOVA POSKUSA

V poskusu smo glede na dodatek starterskih kultur uporabili različne vinifikacije. V poskusu z letnikom 2004 smo pri sortah chardonnay in malvazija uporabili pet ter pri sortah sauvignon in laški rizling šest različnih postopkov vinifikacije (preglednica 5):

- vinifikacija 1 KON-kontrola; dodatek starterske kulture kvasovk in dveh prehranskih sredstev za kvasovke (Go-ferm, Fermaid E)
- vinifikacija 2 KIN1-koinokulacija 1; koinokulacija kvasovk in mlečnokislinskih bakterij 1 (MKB1) ter dveh prehranskih sredstev za kvasovke (Go-ferm, Fermaid E)
- vinifikacija 3 KIN2-koinokulacija 2; koinokulacija kvasovk in mlečnokislinskih bakterij 2 (MKB2) ter dveh prehranskih sredstev za kvasovke (Go-ferm, Fermaid E)
- vinifikacija 4 IN1-inokulacija 1; inokulacija MKB1 po končani AF ter dveh prehranskih sredstev za kvasovke (Go-ferm, Fermaid E)
- vinifikacija 5 IN2-inokulacija 2; inokulacija MKB2 po končani AF ter dveh prehranskih sredstev za kvasovke (Go-ferm, Fermaid E)
- vinifikacija 6 PS-prehranska sredstva: dodatek starterske kulture kvasovk in treh prehranskih sredstev za kvasovke (Go-ferm, Fermaid E, Opti-white) samo pri sortah sauvignon in laški rizling letnika 2004
- vinifikacija 7 SP-spontana fermentacija: brez dodatka starterskih kultur kvasovk in mlečnokislinskih bakterij ter prehranskih sredstev za kvasovke.

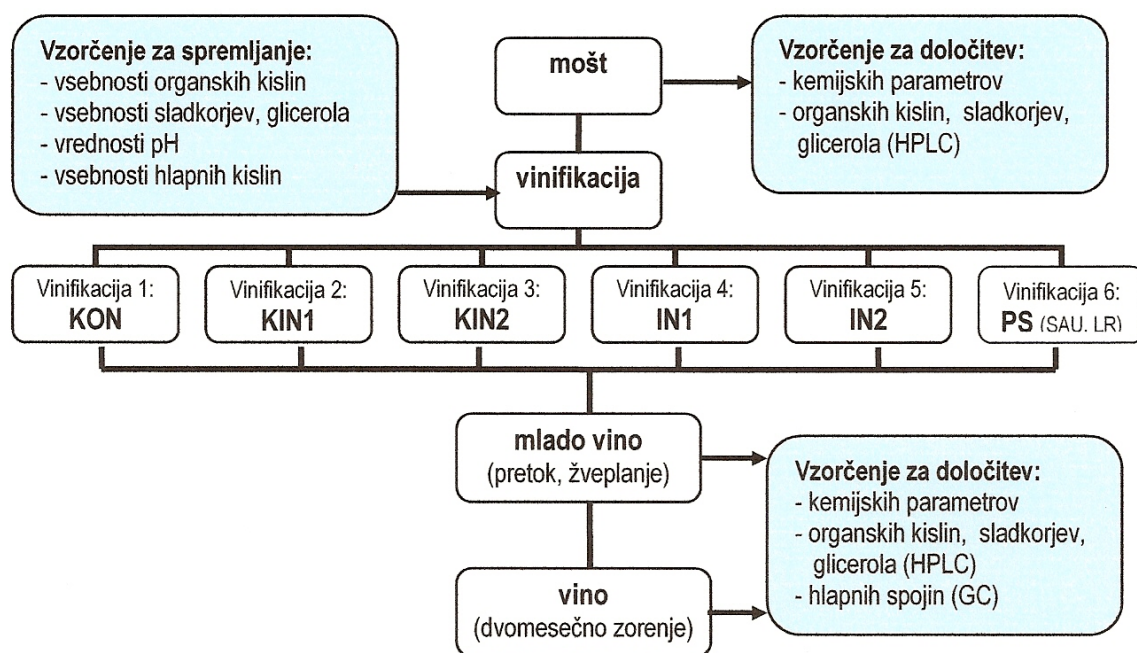
Vinifikacije so potekale v vinskih posodah iz nerjavnega jekla s prostornino 28 L in steklenih 500 mL fermentacijskih stekleničkah pri konstantni temperaturi 18 °C. Med vinifikacijo v 28 L fermentacijski prostornini, ki je trajala z letnikom 2004 50 dni in z letnikom 2005 42 dni (glede na količino jabolčne kisline), smo vzorčenje opravili v zastavljenih časovnih intervalih (preglednice 6, 7, 8, 9). Po zaključeni vinifikaciji smo izvedli pretok in žveplanje s K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na osnovi linije vezave SO<sub>2</sub>, tako da so vina vsebovala 50 mg/L prostega SO<sub>2</sub> (priloga D1, D2). Nato je sledilo dvomesečno zorenje vin iz vinifikacijskega poskusa v 28 L fermentacijski prostornini pri konstantni temperaturi 8 °C. V letniku 2004 smo v 500 mL fermentacijskih stekleničkah izvajali posamezne vinifikacije vseh štirih sort v dveh ponovitvah. Poskus vinifikacije sorte malvazija pri dveh temperaturah 20 in 14 °C v 500 mL fermentacijski prostornini smo izvedli v treh ponovitvah za letnika 2004 in 2005. Zorenja mladih vin v 500 mL fermentacijskih stekleničkah nismo izvajali.

**Preglednica 5: Vinifikacije letnikov 2004 in 2005 v 28 L in 500 mL fermentacijskih prostorninah**

Table 5: Individual vinifications of 2004 and 2005 vintages in 28 L and 500 mL fermentation volume

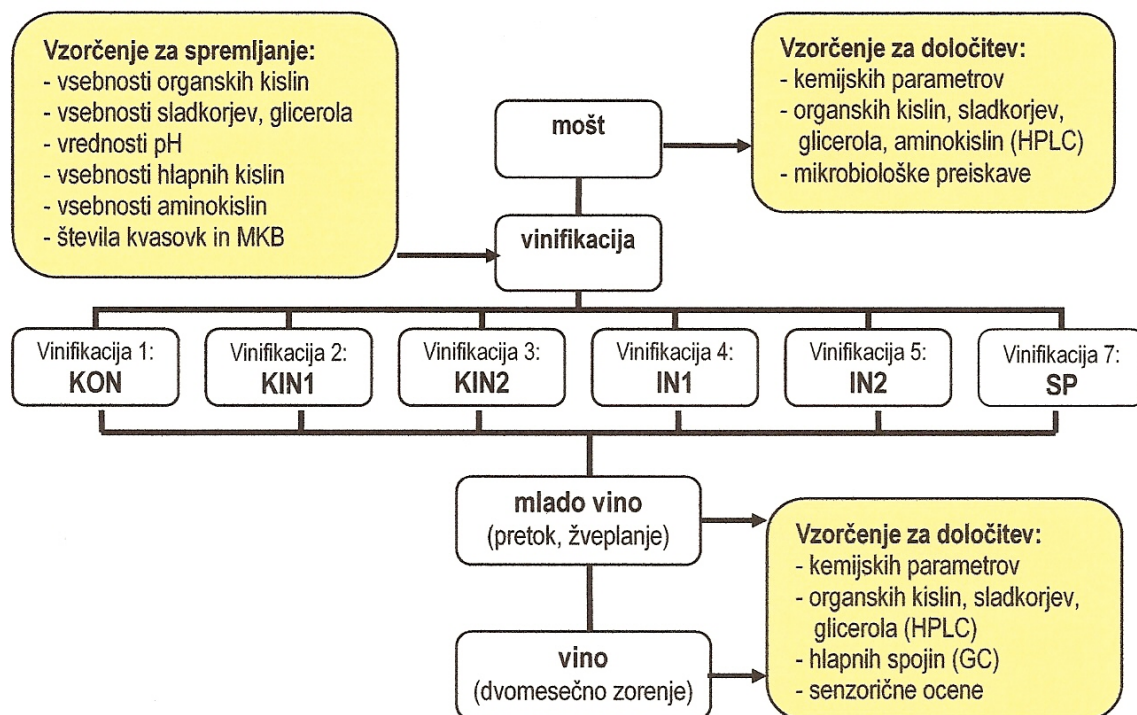
Vinifikacija	Letnik poskusa	Čas dodatka kvasovk (dan)	Čas dodatka MKB (dan)	Čas dodatka prehranskega sredstva (dan)
Vinifikacija 1 KONTROLA <b>KON</b>	2004 2005	1.	/	Go-Ferm 1. Fermaid E 1/3 AF
Vinifikacija 2 KOINOKULACIJA 1 <b>KIN1</b>	2004 2005	1.	1. MKB1	Go-Ferm 1. Fermaid E 1/3 AF
Vinifikacija 3 KOINOKULACIJA 2 <b>KIN2</b>	2004 2005	1.	1. MKB2	Go-Ferm 1. Fermaid E 1/3 AF
Vinifikacija 4 INOKULACIJA 1 <b>IN1</b>	2004 2005	1.	14. MKB1 21. MKB1*	Go-Ferm 1. Fermaid E 1/3 AF
Vinifikacija 5 INOKULACIJA 2 <b>IN2</b>	2004 2005	1.	14. MKB2 21. MKB2*	Go-Ferm 1. Fermaid E 1/3 AF
Vinifikacija 6 PREHRANSKA SREDSTVA <b>PS</b>	2004 (SAU, LR)	1.	/	Go-Ferm 1. Fermaid E 1/3 AF Opti-white 1.
Vinifikacija 7 SPONTANA FERMENTACIJA <b>SP</b>	2005	/	/	/

Legenda: \* 21. dan vinifikacije smo MKB inokulirali le v primeru mikrobioloških preiskav z malvazijo letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini



Slika 8: Potek vinifikacijskega poskusa z letnikom 2004 v 28 L fermentacijski prostornini

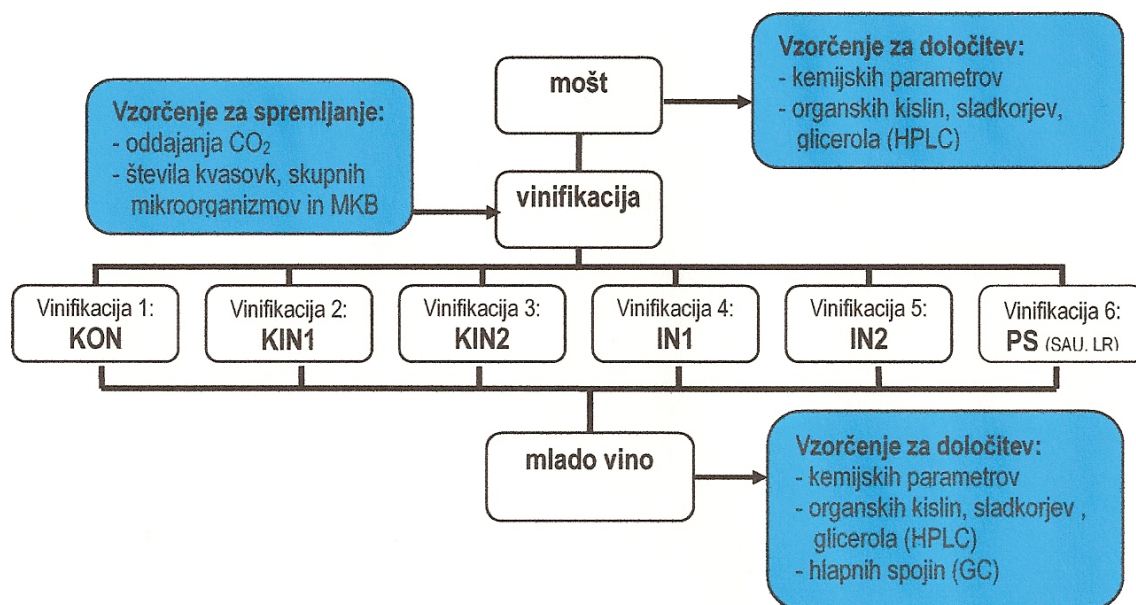
Figure 8: Flow chart of vinification experiment with 2004 vintage in 28 L fermentation volume



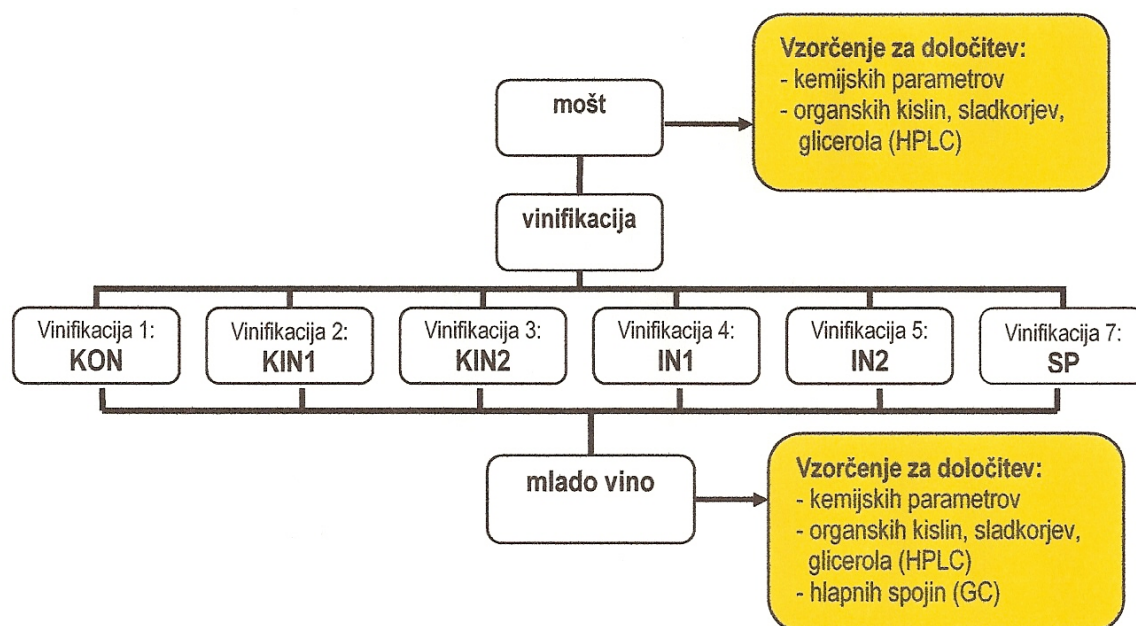
Slika 9: Potek vinifikacijskega poskusa z letnikom 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

Figure 9: Flow chart of vinification experiment with 2005 vintage in 28 L fermentation volume





**Slika 10: Potek vinifikacijskega poskusa z letnikom 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini**  
Figure 10: Flow chart of vinification experiment with 2004 vintage in 500 mL fermentation volume



**Slika 11: Potek vinifikacijskega poskusa z letnikom 2005 v 500 mL fermentacijski prostornini**  
Figure 11: Flow chart of vinification experiment with 2005 vintage in 500 mL fermentation volume

V preglednicah 6, 7 in 8 so predstavljeni časovni plani vzorčenja za določevanje kemijskih parametrov med posameznimi vinifikacijami. Prva številka pomeni dan od začetka spremljanja vinifikacije v primerih KON, KIN1, KIN2 in SP (letnik 2004) ali PS (letnik 2005). V primerih vinifikacij IN1 in IN2 pomeni druga številka dan po dodatku starterske kulture MKB.



**Preglednica 6: Dnevni časovni plan vzorčenja za določevanje kemijskih parametrov, organskih kislin, sladkorjev in glicerola med posamezno vinifikacijo iz 28 L fermentacijske prostornine za letnika 2004 in 2005**

Table 6: Daily sampling plan for analyses of chemical parameters, organic acids, sugars and glycerol during individual vinification in 28 L fermentation volume, 2004 and 2005 vintages

Vinifikacija	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP/PS
	1	1	1	1	1	1
	3	3	3	3	3	3
	5	5	5	5	5	5
	7	7	7	7	7	7
Vzorčenje po dnevih od dodatka starterske kulture kvasovk in MKB	9	9	9	9	9	9
	14	14	14	14/1	14/1	14
	/	/	/	17/3	17/3	/
	/	/	/	19/5	19/5	/
	21	21	21	21/7	21/7	21
	/	/	/	23/9	23/9	/
	28	28	28	28/14	28/14	28
	35	35	35	35/21	35/21	35
	42	42	42	42/28	42/28	42
	49*	49*	49*	49/35*	49/35*	49*

Legenda: prva številka – dnevi po dodatku starterske kulture kvasovk, druga številka – dnevi po dodatku starterske kulture MKB; \* vzorčenje je bilo opravljeno le z letnikom 2004

Preliminarne mikrobiološke preiskave med petimi vinifikacijami sorte malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijskih stekleničkah smo izvajali naknadno in ne sočasno s preostalimi deli poskusa z letnikom 2004. Na osnovi preliminarnih rezultatov smo med poskusom z letnikom 2005 opravili mikrobiološke preiskave med vinifikacijami vseh štirih sort v 28 L fermentacijski prostornini.

**Preglednica 7: Dnevni časovni plan vzorčenja iz 500 mL fermentacijske prostornine z letnikom 2004 za mikrobiološke preiskave med posamezno vinifikacijo sorte malvazija**

Table 7: Daily sampling plan for microbiological analyses during individual vinification from 500 L fermentation volume of Malvasia, vintage 2005

KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS
1	1	1	1	1	1
3	3	3	3	3	3
7	7	7	7	7	7
14	14	14	14	14	14
21	21	21	21/1	21/1	21
23	23	23	23/3	23/3	23
28	28	28	28/7	28/7	28
35	35	35	35/14	35/14	35
42	42	42	42/21	42/21	42

Legenda: prva številka – dnevi po dodatku starterske kulture kvasovk, druga številka – dnevi po dodatku starterske kulture MKB

**Preglednica 8: Dnevni časovni plan vzorčenja iz 28 L fermentacijske prostornine z letnikom 2005 za mikrobiološke preiskave med posamezno vinifikacijo**

Table 8: Daily sampling plan for microbiological analyses during individual vinification from 28 L fermentation volume of 2005 vintage

Vinifikacija	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP
Vzorčenje po dnevih od dodatka starterske kulture kvasovk in MKB	1	1	1	1	1	1
	7	7	7	7	7	7
	14	14	14	14/1	14/1	14
	21	21	21	21/7	21/7	21
	28	28	28	28/14	28/14	28
	35	35	35	35/21	35/21	35
	42	42	42	42/28	42/28	42

Legenda: prva številka – dnevi po dodatku starterske kulture kvasovk, druga številka – dnevi po dodatku starterske kulture MKB

V preglednici 9 niso podani točni dnevi vzorčenja za določevanje aminokislin, ker smo le-to opravili glede na vsebnost reducirajočih sladkorjev med alkoholno fermentacijo. Npr. 1/3 AF pomeni, da smo vzorčili, ko je prefermentirala tretjina začetne vsebnosti reducirajočih sladkorjev. Začetne vsebnosti reducirajočih sladkorjev so se med mošti letnika 2005 razlikovale (priloga C1).

**Preglednica 9: Dnevni časovni plan vzorčenja iz 28 L fermentacijske prostornine za določevanje aminokislin med posamezno vinifikacijo letnika 2005**

Table 9: Daily sampling plan for amino acid analyses during individual vinification in 28 L fermentation volume of 2005 vintage

Vinifikacija	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP
Čas po dodatku starterske kulture kvasovk	začetek vinifikacije po 1/3 AF po 2/3 AF konec MKF	začetek vinifikacije po 1/3 AF po 2/3 AF konec MKF	začetek vinifikacije po 1/3 AF po 2/3 AF konec MKF	začetek vinifikacije po 1/3 AF konec AF konec MKF	začetek vinifikacije po 1/3 AF konec AF konec MKF	začetek vinifikacije po 1/3 AF po 2/3 AF konec MKF

### 3.3 KEMIJSKE METODE

#### 3.3.1 DOLOČANJE ORGANSKIH KISLIN

Vsebnost organskih kislin; vinske, jabolčne, mlečne, citronske, jantarne in šikimske, smo določali z modificirano metodo (Kordiš Krapež in sod., 2001) tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC). Proizvajalec kromatografske kolone HPX-87H zagotavlja na sistemu HPLC z zaporedno vezavo detektorjev UV-VIS in RI sočasno analizo vsebnosti organskih kislin in sladkorjev. V našem primeru se je to izkazalo kot neuporabno zaradi neustrezne ločbe posameznih analitov. Tako smo opravili analize vsebnosti organskih kislin in sladkorjev ločeno, saj smo za ustrezno ločbo ter točne in natančne rezultate uporabili različne kromatografske pogoje, kot si sledijo:

- razplinjevalnik: Jour Research, X-Act,
- črpalka: Knauer, Maxi star K-1000,
- kolona: Bio-Rad, Aminex, HPX-87H, 300 mm x 7,8 mm,
- mobilna faza: 0,0125 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- pretok mobilne faze: 0,5 mL/min,
- temperatura: 65 °C,
- volumen injiciranja: 20 µL,
- detektor: UV-VIS, Knauer,
- avtomatski podajalnik vzorcev: Spark Holland, Marathon-XT,
- zapis signala: programska oprema Eurochrom 2000.

Odvzete vzorce smo do izvajanja analiz shranili pri -20 °C v plastičnih 10 mL epruveh. Vzorce moštov in vin smo predhodno odmrznili, centrifugirali 10 min pri 4000 obratih/min in jih filtrirali skozi celulozno acetatni membranski filter 0,45 µm Sartorius 11106-13-N. Analite smo kvantitativno ovrednotili z umeritveno krivuljo.

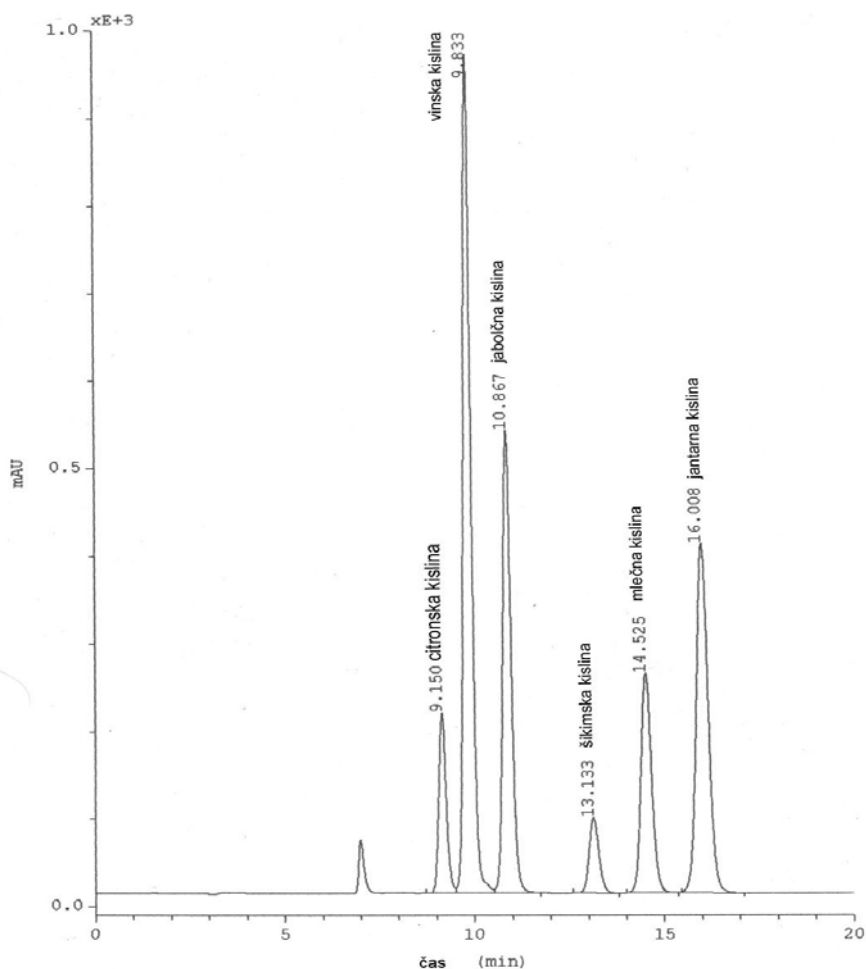
Mejo določitve (MD) v mg/L za posamezen analit smo ugotovili z razredčevanjem z deionizirano vodo standardne raztopine z najmanjšo vsebnostjo analita, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje analitov z umeritveno krivuljo. Standardni odmik (SO) v mg/L smo določili s pomočjo standardne raztopine s srednjo vsebnostjo analita, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje analitov z umeritveno krivuljo. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitvev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti. SO nismo mogli določiti za celoten postopek zaradi biološke narave vzorca, saj se je sestava vzorca med vinifikacijo spreminjala.

Pri delu smo uporabili kemikalije: vinska kislina (Merck 1.00804), jabolčna kislina (Merck 1.00382), mlečna kislina (Sigma 814-80-2), citronska kislina (Merck 1.00244), jantarna kislina (Merck 1.00682), šikimska kislina (Fluka 85091), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck 1.00731).

**Preglednica 10: Meje določitve (MD) in standardni odmiki (SO) določitve organskih kislin**

Table 10: Limits of quantification (MD) and standard deviations (SO) for analyses of organic acids

organska kislina	MD (mg/L)	SO (mg/L)
vinska kislina	100	16
jabolčna kislina	100	12
mlečna kislina	50	14
citronska kislina	20	2
jantarna kislina	30	3
šikimska kislina	2	0,5



Slika 12: Kromatogram standardne raztopine organskih kislin

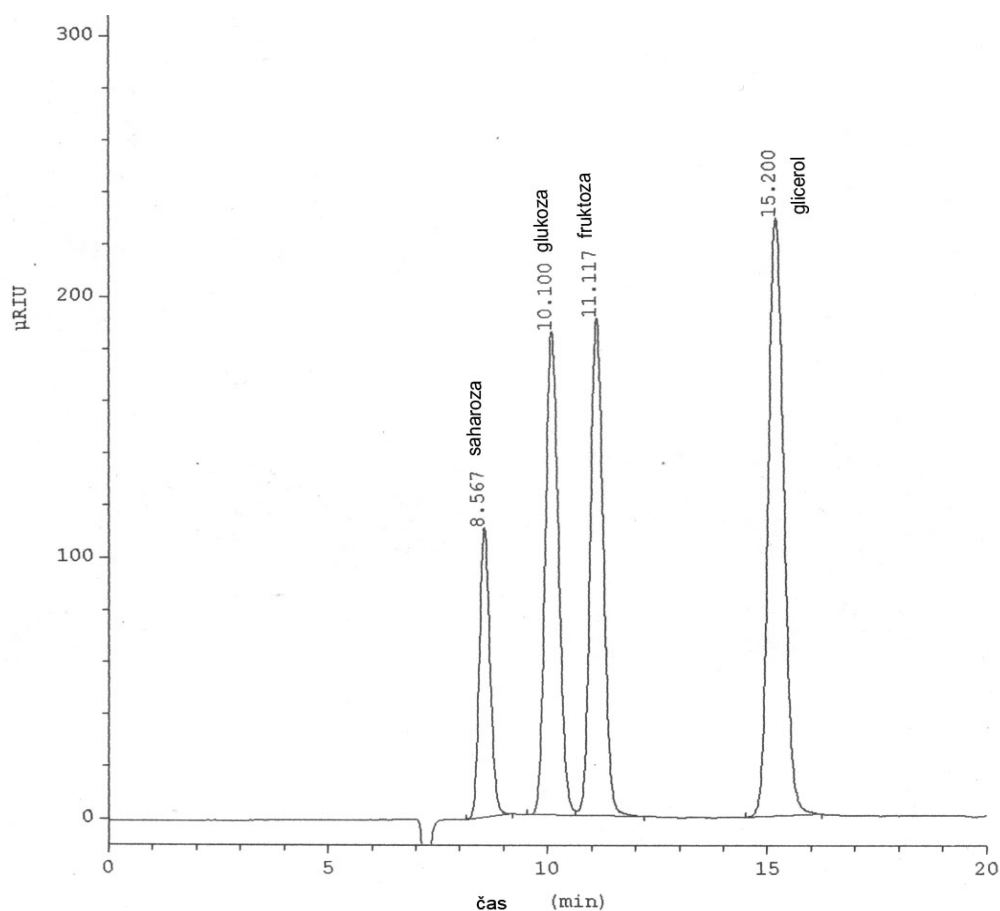
Figure 12: Chromatogram of standard solution for organic acids

### 3.3.2 DOLOČANJE SLADKORJEV IN GLICEROLA

Vsebnost analitov sladkorjev glukoze, fruktoze in saharoze ter poliola glicerola, smo določali z modificirano metodo (Klein in Leubolt, 1993) tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC). Kot je bilo omenjeno pri določevanju vsebnosti organskih kislin, smo analize sladkorjev in organskih kislin opravili ločeno zaradi neustrezne ločbe spojin, čeprav proizvajalec kolone HPX-87H zagotavlja sočasno analizo. Kromatografski pogoji za izvedbo ustrezne ločbe spojin ter izvednotenje točnih in natančnih rezultatov so bili naslednji:

- razplinjevalnik: Jour Research, X-Act,
- črpalka: Knauer, Maxi star K-1000,
- kolona: Bio-Rad, Aminex, HPX-87H, 300 mm x 7,8 mm,
- mobilna faza: 0,0025 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- pretok mobilne faze: 0,5 mL/min,
- temperatura: 25 °C,
- volumen injiciranja: 20 µL,
- detektor: RI, K-2301, Knauer,
- avtomatski podajalnik vzorcev: Spark Holland, Marathon-XT,
- zapis signala: programska oprema Eurochrom 2000.

Odvzete vzorce smo do izvajanja analiz shranili pri temperaturi -20 °C v plastičnih 10 mL epruvetah. Vzorce moštov in vin smo predhodno odmrznili, centrifugirali 10 min pri 4000 obratih/min in jih filtrirali skozi celulozno acetatni membranski filter 0,45 µm Sartorius 11106-13-N. Analite smo kvantitativno ovrednotili z umeritveno krivuljo.



**Slika 13: Kromatogram standardne raztopine sladkorjev in glicerola**

Figure 13: Chromatogram of standard solution for sugars and glycerol

Mejo določitve (MD) v mg/L za posamezen analit smo ugotovili z razredčevanjem z deionizirano vodo standardne raztopine z najmanjšo vsebnostjo analita, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje analitov z umeritveno krivuljo. Standardni odmik (SO) v mg/L smo določili s pomočjo standardne raztopine s srednjo vsebnostjo analita, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje analitov z umeritveno krivuljo. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitvev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti. SO nismo mogli določiti za celoten postopek zaradi biološke narave vzorca, saj se je sestava vzorca med vinifikacijo spreminjala.

Pri delu smo uporabili kemikalije: glukoza (Kemika 200-075-1), fruktoza (Merck 1.04007), saharoza (Merck 1.07687), glicerol (Kemika 56-81-5), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck 1.00731).

**Preglednica 11: Meje določitve (MD) in standardni odmiki (SO) določitev sladkorjev in glicerola**

Table 11: Limits of quantification (MD) and standard deviations (SO) for analyses of sugars and glycerol

spojina	MD (mg/L)	SO (mg/L)
fruktoza	30	17
glukoza	30	19
saharoza	50	28
glicerol	20	37

### 3.3.3 DOLOČANJE HLAPNIH SPOJIN

Vsebnost analitov višjih alkoholov (izoamil alkohol, izobutanol, 1-propanol, 2-fenil etanol) in drugih hlapnih spojin (acetaldehid, metanol, 2-fenil etilacetat, izoamil acetat, etil acetat, etil laktat, metil laktat, diacetil, acetoin) v alkoholnih destilatih vin smo določali z modificirano metodo s plinsko kromatografijo (GC) (Košmerl in Kordiš Krapež, 1996).

Alkoholne destilate vin smo pripravili na destilacijski napravi D.E.E. Gibertini. Vino smo filtrirani skozi grob filter papir. 100 mL merilno bučko, napolnjeno z vinom nad oznako, smo postavili v vodno kopel in termostatirali 20 min pri 20 °C. Vsebino, točno 100 mL, smo nato kvantitativno prenesli v destilacijsko posodo, kamor smo dodali tudi 5 mL 12 % raztopine CaO in 2 – 3 kapljice protipenilca. Vzorec smo destilirali v 100 mL merilno bučko do končne prostornine destilata 75 – 80 mL. Bučko smo dopolnili z deionizirano vodo pod oznako in alkoholni destilat vina ponovno termostatirali v vodni kopeli 20 min pri 20 °C. Merilno bučko smo do oznake dopolnili z deionizarno vodo. Del alkoholnega destilata vina smo prenesli iz merilne bučke v vialo. Tako pripravljene alkoholne destilate vin smo shranili do izvajanja analize pri sobni temperaturi.

Kromatografski pogoji:

- kolona: HP FFAP, dimenzije 50 m x 0,2 mm x 0,3 mm,  
začetna temperatura: 40 °C (6 min),  
temperaturni gradient: 25 °C/min,  
končna temperatura: 220 °C (5 min),
- injektor: razdelitev 1:50, 200 °C,  
volumen injiciranja: 1,0 µL,  
tlak: 2,18 bar,  
pretok N<sub>2</sub>: 45 mL/min,
- detektor: FID, 300 °C,  
pretok H<sub>2</sub>: 40 mL/min  
pretok zraka: 450 mL/min,
- nosilni plin: He, pretok 1mL/min,
- obdelava signala in obdelava podatkov: programska oprema GC Chem Station.

Pred izvajanjem analiz smo vzorce alkoholnih destilatov vin odmrznili. Analite smo kvantitativno ovrednotili z umeritveno krivuljo.

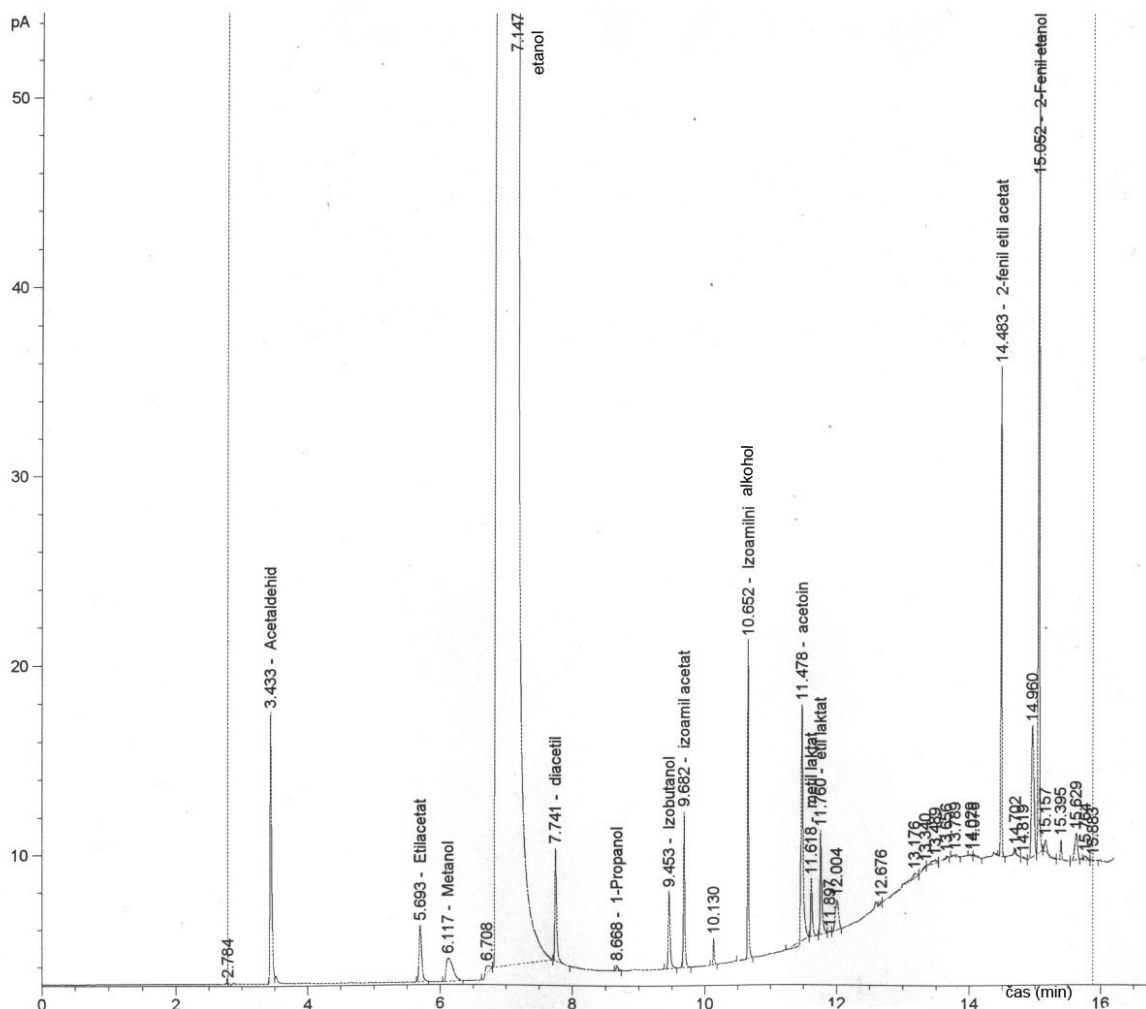
Mejo določitve (MD) v mg/L za posamezen analit smo ugotovili z razredčevanjem z deionizirano vodo standardne raztopine z najmanjšo vsebnostjo analita, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje analitov z umeritveno krivuljo. Standardni odmik (SO) v mg/L smo določili s pomočjo standardne raztopine s srednjo vsebnostjo analita, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje analitov z umeritveno krivuljo. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti. SO nismo mogli določiti za celoten postopek zaradi biološke narave vzorca, saj se je sestava vzorca med vinifikacijo spreminjala.

Pri delu smo uporabili kemikalije: izoamil alkohol (Kemika 920908), izobutanol (Kemika 78-83-1), 1-propanol (Merck 1024), 2-feniletanol (Merck 8.07006), acetaldehid (Merck 8.00004), metanol (Merck 1.06009), 2-fenil etilacetat (Merck 818625), izoamil acetat (Merck 1.01231), etil acetat (Kemika 141-78-6), etil laktat (Merck 8.22100), metil laktat (Sigma 17392-83-5), diacetil (Merck 8.03528), acetoin (Fluka 00540).

**Preglednica 12: Meje določitve (MD) in standardni odmiki (SO) določitve hlapnih spojin**

Table 12: Limits of quantification (MD) and standard deviations (SO) for analyses of volatile compounds

spojina	MD (mg/L)	SO (mg/L)
izoamil alkohol (3-metil-1-butanol)	0,3	0,3
1-propanol	0,4	0,3
izobutanol (2-metil-1-propanol)	0,4	0,4
2-fenil etanol	0,4	0,7
metanol	1,7	0,2
etil laktat	0,7	0,2
metil laktat	0,5	0,4
izoamil acetat	0,6	0,2
etilacetat	0,7	0,1
acetaldehid	6,3	0,8
2-fenil etilacetat	0,6	0,8
diacetil (2,3-butandion)	0,5	0,3
acetoin (3-hidroksi-2-butanon)	0,8	0,5



Slika 14: Kromatogram standardne raztopine hlapnih spojin

Figure 14: Chromatogram of standard solution for volatile compounds

### 3.3.4 DOLOČANJE AMINOKISLIN

Vsebnost 21 prostih AK; Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, Ala, Tyr, Cys, Val, Met, Trp, Phe, Ile, Leu, Lys, Hyp in Pro smo določali z gradientno elucijo na sistemu HPLC (Ilenderson in sod., 2000). Pred-kolonsko derivatizacijo primarnih AK smo izvedli z OPA ( $\alpha$ -ftaldialdehid) in sekundarnih AK z FMOC (9-fluorenilmetilkloromravljijčna kislina) reagentom. Detekcija primarnih AK (OPA derivatov) je potekala pri 338 nm in sekundarnih AK (FMOC derivatov) pri 262 nm. Kromatografski pogoji so bili:

- razplinjevalnik: 1100, Agilent,
- črpalka: kvarterna, 1100, Agilent
- kolona: Zorbax Eclipse AAA, 4,6 mm x 150 mm, 5  $\mu$ m s predkolono,
- mobilna faza: kombinacija štirih mobilnih faz po časovnem programu (preglednica 13),
  - mobilna faza A: dvakrat deionizirana voda,
  - mobilna faza B: acetonitril,
  - mobilna faza C: metanol,
  - mobilna faza D: 40 mmol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> s pH 7,8,
- pretok mobilne faze: 2 mL/min,
- temperatura: 40 °C,
- volumen injiciranja: 0,5  $\mu$ L,
- detektor: DAD,
- avtomatski podajalnik vzorcev: 1100 Agilent,
- obdelava signala: programska oprema Chemstation, Agilent Technologies.

Odvzete vzorce smo do izvajanja analiz shranili pri -20 °C v plastičnih 2 mL epruveh. Vzorce moštov in vin smo predhodno odmrznili, centrifugirali 10 min pri 14000 obratih/min in jih filtrirali skozi celulozno acetatni membranski filter 0,45  $\mu$ m Sartorius 11106-13-N. Analite smo kvantitativno ovrednotili z umeritveno krivuljo in ob uporabi internih standardov (norvalin za primarne AK, sarkozin za sekundarne AK).

#### Preglednica 13: Meje določitve (MD) in standardni odmiki (SO) določitev aminokislin

Table 13: Limits of quantification (MD) and standard deviations (SO) for analyses of amino acids

amino kislina	MD (mg/L)	SO (mg/L)
Asp	7	3,1
Glu	3	2,1
Asn	4	1,6
Gln	2	2,4
Ser	4	2,2
His	5	2,0
Gly	2	1,9
Thr	3	2,3
Arg	4	2,9
Ala	2	1,7
Tyr	7	2,7
Cys	11	6,3
Val	3	7,2
Met	4	2,9
Trp	8	5,7
Phe	5	4,0
Ile	4	2,6
Lev	3	2,2
Lys	3	5,3
Hyp	9	6,8
Pro	5	11,8

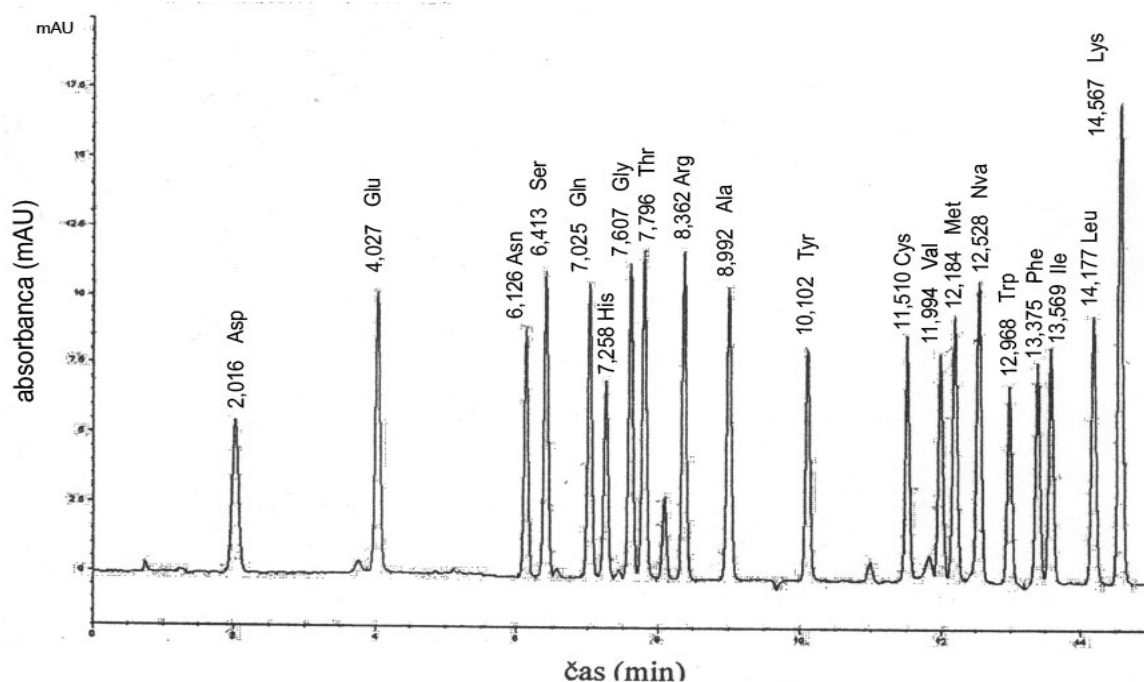
**Preglednica 14: Gradientna sestava mobilne faze za določevanje aminokislin**

Table 14: Gradient composition of mobile phase for analysis of amino acids

t (min)	% A	% B	% C	% D
0	0	0	0	100,0
1,9	0	0	0	100,0
18,1	5,7	25,7	25,7	42,9
18,6	10,0	45,0	45,0	0
22,3	10,0	45,0	45,0	0
23,2	0	0	0	100,0
26,0	0	0	0	100,0

Mejo določitve (MD) v mg/L za posamezen analit smo ugotovili z razredčevanjem z deionizirano vodo standardne raztopine z najmanjšo vsebnostjo analita, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje analitov z umeritveno krivuljo. Standardni odmik (SO) v mg/L smo določili s pomočjo standardne raztopine s srednjo vsebnostjo analita, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje analitov z umeritveno krivuljo. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti. SO nismo mogli določiti za celoten postopek zaradi biološke narave vzorca, saj se je sestava vzorca med vinifikacijo spreminjala.

Pri delu smo uporabili kemikalije: Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, Ala, Tyr, Cys, Val, Met, Trp, Phe, Ile, Lev, Lys, Hyp, Pro (Fluka 09416 21), Nva (Sigma N-7502), Sar (Sigma S-7672), OPA (Sigma-Aldrich P-0657), FMOC (Sigma-Aldrich 160512 9).



Slika 15: Kromatogram standardne raztopine aminokislin

Figure 15: Chromatogram of standard solution for amino acids

### 3.3.5 DOLOČANJE PROSTEGA AMINOKISLINSKEGA DUŠIKA

Določanje masne koncentracije prostega aminokislinskega dušika (FAN) temelji na reakciji AK z ninhidrinom, pri čemer se razvije vijolična barva. Iz določitev absorbance nastale barve v spektru valovnih dolžin 450 do 700 nm in s pomočjo umeritvene krivulje z uporabo treonina smo določili koncentracijo FAN v moštu in vinu. Vzorce moštov smo razredčili z deionizirano vodo 50-krat, medtem ko smo vina razredčili 25-krat. Koncentracija FAN se izraža v mg N/L (Košmerl in Kač, 2004).



Standardni odmik (SO) določitve FAN je bil 0,57 mg N/L. SO smo določili s pomočjo standardne raztopine s srednjo vsebnostjo treonina, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje z umeritveno krivuljo. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti.

### **3.3.6 DOLOČANJE SKUPNIH FENOLOV**

Določanje masne koncentracije skupnih fenolov temelji na reakciji fenolnih spojin z barvnim reagentom Folin-Ciocalteu. Razvije se modra barva. Iz merjenja absorbance nastale barve pri valovni dolžini 765 nm in s pomočjo umeritvene krivulje z uporabo galne kisline smo določili koncentracijo skupnih fenolov v moštu in vinu v mg/L (Košmerl in Kač, 2004).

Standardni odmik (SO) določitve skupnih fenolov je bil 0,51 mg/L. SO smo določili s pomočjo standardne raztopine s srednjo vsebnostjo galne kisline, ki smo jo uporabili za kvantitativno ovrednotenje z umeritveno krivuljo. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti.

### **3.3.7 DOLOČANJE pH**

Vrednost pH smo določali z uporabo pH metra oznake DL50 Graphix s kombinirano stekleno elektrodo oznake DG 114-SC proizvajalca Mettler Toledo. Točnost meritve je bila  $\pm 0,02$  pH enote (Košmerl in Kač, 2004).

### **3.3.8 DOLOČANJE TITRABILNIH IN SKUPNIH KISLIN**

Določanje titrabilnih in skupnih kislin poteka s potenciometrično titracijo z uporabo pH metra oznake DL50 Graphix s kombinirano stekleno elektrodo oznake DG 114-SC proizvajalca Mettler Toledo. Končni točki titracije sta dve. Prva je pri pH 7,00 (TK1-titrabilne kisline) in druga pri pH 8,20 (TK2-skupne kisline). Masno koncentracijo titrabilnih in skupnih kislin smo izrazili v g vinske kisline/L (Košmerl in Kač, 2004).

Standardni odmik (SO) določitve titrabilnih kislin je bil 0,08 g/L, za skupne kisline pa 0,09 g/L. SO smo določili s pomočjo vzorca mladega vina. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti.

### **3.3.9 DOLOČANJE PUFERNE KAPACITETE**

Dejansko pufrno kapaciteto (PK) smo določali s potenciometrično metodo; z pH metrom oznake DL50 Graphix s kombinirano stekleno elektrodo oznake DG 114-SC proizvajalca Mettler Toledo. Pufrna kapaciteta predstavlja množino  $H_3O^+$  ali  $OH^-$  ionov, ki jih moramo dodati 1 L vzorca mošta ali vina, da se pH spremeni za eno enoto. Izražamo jo v mmol/L na pH (Košmerl in Kač, 2004).

Standardni odmik (SO) določitve pufrne kapacitete je bil 0,25 mmol/L na pH. SO smo določili s pomočjo vzorca mladega vina. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti.

### **3.3.10 DOLOČANJE HLAPNIH KISLIN**

Vsebnost hlapnih kislin (HK) smo določili po destilaciji vzorcev z vodno paro. Sledila je titracija destilata z 0,1 M raztopino NaOH. Rezultat izrazimo kot g očetne kisline/L (Košmerl in Kač, 2004). Uporabili smo destilacijsko napravo proizvajalca D.E.E. Gibertini.

Standardni odmik (SO) določitve hlapnih kislin je bil 0,06 g/L. SO smo določili s pomočjo vzorca mladega vina. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti.

### **3.3.11 DOLOČANJE SLADKORNE STOPNJE**

Sladkorno stopnjo svežih vzorcev moštov smo določali z digitalnim refraktometrom znamke REF 520, 4 skale (0-35% Brix, AP 0-22, \*Oe 0-150, \*KMW 0-25), proizvajalca Silverado Trading Company, Kitajska. Točnost meritve aparat je bila najmanj  $\pm 1^\circ\text{Oe}$  (Košmerl in Kač, 2004).

### **3.3.12 DOLOČANJE REDUCIRAJOČIH SLADKORJEV**

Vsebnost reducirajočih sladkorjev smo v vzorcih vin določali s titracijsko metodo po Rebeleinu ob upoštevanju slepega vzorca. V primeru večje vsebnosti reducirajočih sladkorjev, smo vzorce razredčili (Košmerl in Kač, 2004).

Standardni odklon (SO) določitev reducirajočih sladkorjev je bil 0,2 g/L. SO smo določili s pomočjo vzorca mladega vina. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti.

### **3.3.13 DOLOČANJE ALKOHOLA IN SKUPNEGA EKSTRAKTA**

Vsebnosti alkohola, izraženo v vol.%, smo v vzorcih vin določali z uporabo denzimetra posredno, v alkoholnem vinskem destilatorju (Košmerl in Kač, 2004). Uporabili smo destilacijsko napravo proizvajalca D.E.E. Gibertini in denzimeter oznake DE45 proizvajalca Mettler Toledo.

Standardni odmik (SO) določitev alkohola je bil 0,05 vol.%. SO smo določili s pomočjo vzorca mladega vina. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti.

Skupni ekstrakt vina predstavljajo vse komponente vina, ki niso hlapne pri 100 °C. Vsebnosti skupnega ekstrakta smo določali na osnovi merjenja relativne gostote vina in alkoholnega destilata vina. Vrednost skupnega ekstrakta smo izračunali s pomočjo Tabarijevega obrazca (Košmerl in Kač, 2004). Uporabili smo destilacijsko napravo proizvajalca D.E.E. Gibertini in denzimeter oznake DE45 proizvajalca Mettler Toledo.

Standardni odmik (SO) določitev skupnega ekstrakta je bil 0,06 g/L. SO smo določili s pomočjo vzorca mladega vina. Za ugotovitev SO smo naredili deset določitev z neupoštevanjem največje in najmanjše vsebnosti.

Sladkorja prosti ekstrakt predstavlja razliko med skupnim ekstraktom in reducirajočimi sladkorji. Vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta so zakonsko predpisane za posamezne vrste in kakovostne razrede vin (Pravilnik o pogojih, ...; 2004).

### **3.3.14 DOLOČANJE ODDANEGA CO<sub>2</sub>**

V letniku 2004 smo potek fermentacije v 500 mL fermentacijskih stekleničkah spremljali tudi s tehtanjem mase oddanega CO<sub>2</sub> (g/L) in izračunom hitrosti oddanega CO<sub>2</sub> (g/L na h) (Muhar in Košmerl, 2005).

### 3.4 MIKROBIOLOŠKE PREISKAVE

Mikrobiološke preiskave so obsegale določevanja števila kvasovk, števila MKB in skupnega števila mikroorganizmov.

#### **Vzorčenje mošta in vina:**

Iz 28 L posode iz nerjavnega jekla smo vzorčili mošt in vino aseptično iz iztočne odprtine, ki smo jo obrisali z vato, namočeno v etanol in jo ožgali s plamenom. Približno 3 mL vzorca smo natočili v sterilno epruveto, katere vrat in zamašek smo ožgali s plamenom. Iz 500 mL fermentacijske stekleničke smo vzorčili neposredno 1 mL vzorca s sterilno avtomatsko pipeto ob plamenu. Vrat 500 mL fermentacijske stekleničke smo pred vzorčenjem ožgali s plamenom.

#### **Priprava vzorca:**

Vzorci mošta in vina smo desetkrat redčili s fiziološko raztopino. Pripravili smo razredčitve do razredčevalnega faktorja  $10^{-8}$ . Razredčene vzorce treh ustreznih razredčitev smo nato cepili na vnaprej sveže pripravljena in na 45 °C ohlajena trdna gojišča z vmešavanjem (SIST ISO 4833, 2003).

#### **Cepljenje z vmešavanjem:**

Cepljene razredčitve smo izvajali v treh ponovitvah. V sterilne petrijevke smo odpipetirali 1 mL ustrezno razredčenega vzorca in prelili z 10 do 15 mL raztopljenega in na 45 °C ohlajenega sterilnega gojišča. Vzorec smo vmešali v gojišče z rahlimi krožnimi gibi v vse smeri. Ko so se plošče ohladile in strdile, smo jih inkubirali.

#### **Štetje kolonij in ovrednotenje rezultatov:**

Pri določevanju števila mikroorganizmov smo po predpisani inkubaciji prešteli vse zrasle kolonije na gojišču. Na selektivnih gojiščih smo prešteli na isti način le tiste kolonije, ki so značilne za določene mikroorganizme. Na osnovi prešteti kolonij, razredčitve vzorca in treh ponovitev smo izračunali povprečno število mikroorganizmov v mililitru vzorca (CFU/mL).

#### 3.4.1 DOLOČANJE ŠTEVILA KVASOVK

Za določanje števila kvasovk smo uporabili predpisano gojišče OXYTETRACYCLINE GLUCOSE YEAST EXTRACT AGAR (OGY) (Biolife 401838). Gojišče je namenjeno izolaciji kvasovk in plesni. Antibiotik oksitetraciklin (Krka), ki inhibira rast bakterij, v vsebnosti 0,1 g/L smo dodali gojišču tik pred razlivanjem na plošče. Inkubacija je trajala tri dni pri 25 °C v aerobnih razmerah (Compendium of International Methods of Analysis of Wine and Musts, 2006).

#### 3.4.2 DOLOČANJE ŠTEVILA MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ

Za določanje števila MKB smo uporabili prirejeno gojišče za mlečnokislinske bakterije: DE MAN, ROGOSA AND SHARPE AGAR (MRS), (Merck 1.10660.0500) (Compendium of International Methods of Analysis of Wine and Musts, 2006). Pred sterilizacijo gojišča smo mu uravnali pH na 4,9 z očetno kislino (Merck 1.00063.1000) in dodali 0,4 g kalijevega sorbata/L (Esseco, CE 245-376-1), s čemer smo preprečili rast kvasovk. Inkubacija je trajala osem dni pri temperaturi 30 °C v anaerobnih razmerah. Anaerobne razmere smo dosegli s prepihanjem vsebine inkubacijske vreče z N<sub>2</sub>.

#### 3.4.3 DOLOČANJE SKUPNEGA ŠTEVILA MIKROORGANIZMOV

Za določanje skupnega števila mikroorganizmov smo uporabili predpisano gojišče NUTRIENT AGAR (NA) (Merck 1.05450.0500). Gojišče je neselektivno in je namenjeno kultivaciji mikroorganizmov. Inkubacija je trajala tri dni pri 30 °C v aerobnih razmerah (Compendium of International Methods of Analysis of Wine and Musts, 2006).

### 3.5 SENZORIČNA ANALIZA

Senzorična analiza vin je bila opravljena z metodo po Buxbaumu, kjer je vino ocenjeno z največ 20 točkami (Pravilnik o postopku ...; 2000, 2001). Glede na zbrano število točk lahko vino pridobi naslednje oznake:

- vino, ocenjeno z najmanj 12,1 točke: namizno vino z nekontroliranim geografskim poreklom,
- vino, ocenjeno z najmanj 14,1 točke: namizno vino z geografsko oznako oziroma deželno vino (PGO),
- vino, ocenjeno z najmanj 16,1 točke: kakovostno vino z zaščitenim geografskim poreklom oziroma kakovostno vino ZGP ali kakovostno vino;
- vino, ocenjeno z najmanj 18,1 točke: vrhunsko vino ZGP.

Če vino na organoleptični oceni dobi manj kot 12,1 točke, ni primerno za promet.

Senzorična ocena predstavlja povprečno vrednost petih ocenjevalcev, z neupoštevanjem največje in najmanjše ocene.

### 3.6 STATISTIČNE METODE

#### 3.6.1 STATISTIČNA OBDELAVA KEMIJSKIH PARAMETROV IN VSEBNOSTI Hlapnih SPOJIN MED VINIFIKACIJAMI Z LETNIKI 2004 IN 2005 V 28 L FERMENTACIJSKI PROSTORNINI

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke smo statistično obdelali z računalniškim programom SAS (SAS Software. Version 8.01, 1999) z multivariantno analizo variance-proceduro GLM (General Linear Models). Srednje vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa (Duncan procedure; SAS Software. Version 8.01, 1999) in bile primerjane pri 5 % tveganju. Vpliv paralelke je bil statistično neznačilen.

Za analizo statističnih značilnosti med različnimi vinifikacijami ter kemijskimi parametri in hlapnimi spojinami vzorcev mošta, mladega in zorenega vina smo uporabili model 1:

$$y_{ij} = \mu + V_i + P_j + e_{ij} \quad (\text{model 1})$$

$y_{ij}$  =  $i$ jk - ta opazovana vrednost

$\mu$  = povprečna vrednost

$V_i$  - vpliv sheme vinifikacije ( $i=1$  kontrola;  $i=2$  koinokulacija 1;  $i=3$  koinokulacija 2;  $i=4$  inokulacija 1;  $i=5$  inokulacija 2;  $i=6$  prehransko sredstvo;  $i=7$  spontana vinifikacija)

$P_j$  - vpliv paralelke ( $j=1 - 3$ )

$e_{ij}$  = ostanek

Za analizo statističnih značilnosti med različnimi letniki ter kemijskimi parametri in hlapnimi spojinami vzorcev mošta, mladega in zorenega vina znotraj sorte smo uporabili model 2:

$$y_{ij} = \mu + L_i + P_j + e_{ij} \quad (\text{model 2})$$

$y_{ij}$  =  $i$ jk - ta opazovana vrednost

$\mu$  = povprečna vrednost

$L_i$  - vpliv letnika ( $i=1$  letnik 2004;  $i=2$  letnik 2005)

$P_j$  - vpliv paralelke ( $j=1 - 3$ )

$e_{ij}$  = ostanek

Za analizo statističnih značilnosti med različnimi sortami ter kemijskimi parametri vzorcev moštov znotraj sorte smo uporabili model 3:

$$y_{ij} = \mu + S_i + P_j + e_{ij} \quad (\text{model 3})$$

$y_{ij}$  = ijk - ta opazovana vrednost

$\mu$  = povprečna vrednost

$S_i$  - vpliv sorte ( $i=1$  chardonnay;  $i=2$  malvazija;  $i=3$  sauvignon,  $i=4$  laški rizling)

$P_j$  - vpliv paralelke ( $j=1 - 3$ )

$e_{ij}$  = ostanek

Regresijski koeficient ( $r$ ) (ali Pearsonov koeficient) med analiziranimi kemijskimi parametri ter hlapnimi spojinami v mladih in zorenih vinih letnikov 2004 in 2005 je bil izračunan na osnovi linearne regresije z uporabo procedure CORR (SAS Software. Version 8.01, 1999).

### **3.6.2 STATISTIČNA OBDELAVA VSEBNOSTI AMINOKISLIN MED VINIFIKACIJAMI Z LETNIKOM 2005 V 28 L FERMENTACIJSKI PROSTORNINI**

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke o vsebnostih 21 aminokislin smo statistično obdelali z računalniškim programom Statistical data analysis R, metoda Diana (The R Project for Statistical Computing, 2006).

Diana (divisive analysis clustering) sodi med hierarhične metode grupiranja. Cilj grupiranja je razvrstitev objektov v manjše število razredov in se uporablja za ugotavljanje podobnosti med objekti, saj so objekti s podobnimi lastnostmi matematično uvrščeni v isti razred. Algoritem Diana začne z razvrščanjem tako, da najprej upošteva vse objekte in jih nato v naslednjih korakih razdeli v manjše razrede, dokler ne vsebuje vsak razred samo enega objekta. V vsakem koraku je izbrana skupina z največjo razdaljo, torej so te skupine med seboj najbolj različne. Uporabili smo evklidsko razdaljo, pri kateri se kvadrirane razlike seštevajo preko vseh dimenzij. Rezultate grupiranja vzorcev z metodo Diana smo podali v obliki dendrogramov. Višina predstavlja razdaljo med dvema objektoma. Manjša kot je razdalja, bolj sta si objekta podobna.

## 4 REZULTATI Z RAZPRAVO

### 4.1 VINIFIKACIJE Z LETNIKOM 2004

Med mikroviniifikacijskim poskusom z letnikom 2004 v 28 L fermentacijski prostornini smo med 50-dnevnimi vinifikacijami štirih belih sort spremljali vsebnosti organskih kislin, sladkorjev, glicerola, hlapnih kislin in vrednosti pH. V mladih vinih smo tako kot v moštih opravili analize kemijskih parametrov ter hlapnih spojin. Vzorce vin smo ponovno analizirali po dvomesečnem zorenju.

#### 4.1.1 KEMIJSKI PARAMETRI MOŠTOV LETNIKA 2004

**Preglednica 15: Kemijski parametri moštov letnika 2004**

Table 15: Chemical parameters of grape musts for 2004 vintage

Parameter (enota)	CH	MLV	SAU	LR *	Značilnost
pH	3,43 a	3,22 b	3,14 d	3,18 c	***
TK1 (g/L)	6,05 d	7,48 c	8,89 b	9,47 a	***
TK2 (g/L)	6,29 d	7,75 c	9,12 b	9,77 a	***
PK (mmol/L na pH)	47,80 d	49,38 b	48,90 c	58,86 a	***
HK (g/L)	0,30 b	0,08 c	0,11 c	0,36 a	***
VK (g/L)	1,32 c	1,63 b	2,01 a	1,93 a	***
JBK (g/L)	4,38 d	4,72 c	5,75 b	5,89 a	***
MK (g/L)	0,51 b	0,49 b	0,65 a	0,15 c	***
CK (mg/L)	412 c	348 d	445 b	635 a	***
JK (mg/L)	381 b	303 d	354 c	511 a	***
ŠK (mg/L)	50 a	51 a	25 b	20 c	***
sladkor (°Oe)	91 a	84 b	85 b	84 b	***
glukoza (g/L)	98,49 a	94,67 c	95,17 b	92,92 d	***
fruktoza (g/L)	109,14 a	98,84 c	99,63 b	98,68 d	***
saharoza (g/L)	0,53 b	0,43 c	0,39 c	0,81 a	***
SF (mg/L)	126 d	156 c	250 b	368 a	***
FAN (mg N/L)	96 c	66 a	240 b	265 d	***

Legenda: \* mošt je bil dosladkan; \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Rezultati kemijskih analiz moštov štirih sort letnika 2004 so zbrani v preglednici 15. Mošti so se med seboj značilno razlikovali v vseh proučevanih parametrih. V večini parametrov smo opazili podobnost sestave moštov glede na pridelovalno območje. Mošta chardonnay in malvazija iz vinorodne dežele Primorska sta imela v primerjavi s sauvignonom in laškim rizlingom iz vinorodne dežele Podravje večji pH, manj skupnih in titrabilnih kislin, manj vinske, jabolčne, citronske kisline in več šikimske kisline, bistveno manj skupnih fenolov in FAN. Vsebnosti sladkorjev so izstopale pri chardonnayu, medtem ko smo mošt laškega rizlinga dosladkali, zaradi neprimerne dozorelosti, ki je bila posledica vremenskih pogojev v letu 2004. V osnovnem moštu laškega rizlinga smo določili vsebnost sladkorja le 67 °Oe, iz česar bi med AF teoretično nastalo 8,87 vol.% etanola.

Seveda je na razlike med mošti vplivala predvsem sorta. Chardonnay je imel v primerjavi z malvazijo višji pH, manj skupnih in titrabilnih kislin, manjšo pufrno kapaciteto, več hlapnih kislin, manj vinske in jabolčne kisline ter več citronske in jantarne kisline. Ti podatki skupaj s podatki o največji vsebnosti skupnih in posameznih sladkorjev, najmanjšem razmerju med vinsko in jabolčno kislino so potrdili, da je bilo grozdje tega kultivarja potrغانo zelo zrelo. Parametri kislosti, predvsem pH, so bili pri moštu chardonnay na zgornji dopustni meji za izvedbo MKF. V nasprotju je bil pH mošta sauvignon pod spodnjo optimalno vrednostjo za potek vodene MKF. Parametri kislosti so bili navkljub slabši

dozorelosti grozdja laški rizling, bolj primerni za izvedbo MKF v primerjavi s sauvignonom, kar kažejo tudi vsebnosti citronske, jantarne, saharoze in skupnih fenolov. S stališča vsebnosti dušikovih spojin, sta mošta iz toplejšega pridelovalnega območja vsebovala v povprečju štirikrat manj FAN kot mošta iz hladnejšega pridelovalnega območja. Zato smo pri teh dveh sortah, sploh pri malvaziji, pričakovali težave pri izvedbi AF in MKF zaradi slabšega prehranskega statusa, navkljub dodatku prehranskih sredstev, katere smo dodali v vse štiri mošte v enaki količini. Statistična analiza kemijskih parametrov moštov letnika 2004 je ugotovila statistično značilne razlike med vrednostmi vseh kemijskih parametrov. Razlike med štirimi sortami moštov letnika 2004 so vplivale tudi na razlike med mladimi in zorenimi vini posameznih sort.

## 4.1.2 VINIFIKACIJE V 28 L FERMENTACIJSKI PROSTORNINI Z LETNIKOM 2004

### 4.1.2.1 Spremljanje organskih kislin

Med mikroviniifikacijskim poskusom z letnikom 2004 smo v časovnih intervalih med posameznimi viniifikacijami štirih sort spremljali vsebnosti organskih kislin. Primer spremljanja vsebnosti organskih kislin pri viniifikaciji KIN1 sorte malvazija prikazuje slika 16. Zaradi poteka vodene ali spontane MKF so se spreminjale vsebnosti jabolčne, mlečne, citronske in tudi jantarne kisline. Sama izvedba MKF ni vplivala na vsebnost vinske in šikimske kisline. Vsebnost jabolčne kisline se je zmanjšala na račun povečanja mlečne kisline, glavne kemijske reakcije MKF. MKB so popolnoma izkoristile jabolčno kislino v vseh primerih viniifikacije z letnikom 2004, razen pri sorti sauvignon, katere najnižji začetni pH je nakazoval na to. Vsebnosti mlečne kisline pri posameznem mladem vinu znotraj iste sorte so se razlikovale glede na začetno vsebnost jabolčne kisline. V večini primerov so MKB popolnoma porabile tudi citronsko kislino. Med viniifikacijami smo opazili presenetljivo zmanjšanje vsebnosti jantarne kisline, ki je nastopilo z nekaj dnevno prednostjo v primerjavi s citronsko kislino. Sprememba vsebnosti za posamezno organsko kislino je bila odvisna od viniifikacije in dejavnikov MKF mošta posamezne sorte. Ti dejavniki so bili vrednost pH in pufrne kapacitete, vsebnost skupnih kislin, posamezne organske kisline, sladkorjev ter FAN.

Pri sorti chardonnay (priloga A1) smo opazili tako pri koinokulacijah kot inokulacijah MKB nekoliko zapoznelo (nekajdnevno) zmanjševanje jabolčne kisline, kljub dokaj visokemu začetnemu pH (3,43). Hitrejšo porabo jabolčne kisline smo opazili pri koinokulacijah in inokulacijah starterske kulture MKB1 v primerjavi z MKB2. Razgradnja jabolčne kisline se je končala popolnoma istočasno pri obeh uporabljenih starterskih kulturah MKB, tako pri koinokulaciji kot inokulaciji. V primeru kontrolne viniifikacije je potekla spontana MKF, njen začetek smo opazili 12. dan. Poraba jabolčne kisline je bila v enakem časovnem intervalu spremljanja viniifikacije v tem primeru nepopolna. Končne vsebnosti mlečne kisline (preglednica 15) v mladih vinih so se nahajale v intervalu od 4,41 g/L pri kontrolni viniifikaciji (spontana MKF) do 4,95 g/L (IN2). Vsebnosti mlečne kisline so bile večje pri inokulacijah MKB kot koinokulacijah. Mlada vina, pri katerih smo MKB inokulirali po končani AF, so vsebovala v povprečju za 0,23 g/L več mlečne kisline kot pri koinokulacijah MKB.

Pri spremljanju vsebnosti citronske kisline smo opazili velike razlike med koinokulacijo in inokulacijo MKB. V primeru KIN1 je bil trend porabe citronske kisline enakomeren, vendar nepopoln. Mlado vino je vsebovalo še 238 mg/L citronske kisline (preglednica 16). V primeru KIN2 se je začela vsebnost citronske kisline zmanjševati 7. dan in se je do 42. dneva popolnoma porabila. Pri inokulacijah MKB je bila poraba citronske kisline popolna in zelo podobna za obe uporabljeni starterski kulturi MKB. Poraba citronske kisline je bila zaključena osem dni prej pri inokulaciji z MKB1 kot z MKB2.

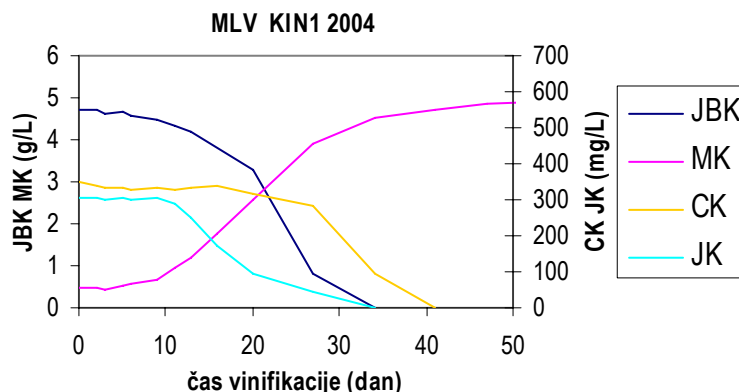
Vsebnost jantarne kisline pri viniifikacijah sorte chardonnay se je začela nepričakovano zmanjševati zelo hitro, že 2. dan po dodatku starterske kulture MKB, tako v primerih koinokulacij kot inokulacij. Pri koinokulacijah se je hitrost porabe proti koncu upočasnila, prav tako pri inokulaciji z MKB1. Pri inokulaciji z MKB2 je nastopila zaustavitev zmanjšanja vsebnosti 4. dan po dodatku starterske

kulture MKB, vendar se je nato trend hitrega zmanjševanja kisline nadaljeval do njene popolne porabe. Med spontano MKF kontrolne vinifikacije se je vsebnost jantarne kisline zmanjševala počasneje kot pri vodenih MKF.

Pri malvaziji (priloga A2, slika 16) nismo opazili velikih razlik med porabo jabolčne kisline in nastankom mlečne kisline tako med koinokulacijo in inokulacijo MKB, razen v začetku MKF. Pri obeh koinokulacijah se je razgradnja jabolčne kisline začela z zamikom glede na čas dodatka MKB. Tako je bila popolna razgradnja jabolčne kisline glede na naš plan vzorčenja končana šele 34. dan od koinokulacije MKB. Pri obeh inokulacijah z MKB nismo opazili zamika začetka MKF in je bila poraba jabolčne kisline popolnoma končana veliko prej kot pri koinokulacijah. Pri kontrolni vinifikaciji malvazije je, kot pri sorti chardonnay, potekla spontana MKF, ki se je zaključila hitreje kot pri sorti chardonnay. Mlečna kislina v mladih vinih malvazija (preglednica 18) je dosegla vsebnosti od 4,73 do 4,98 mg/L. Med posameznimi vodenimi MKF so se vsebnosti mlečne kisline razlikovale za največ 0,09 g/L, torej so bile vrednosti primerljive, enako kot pri sorti chardonnay.

Poraba citronske kisline je bila popolna v vseh vodenih MKF sorte malvazija. Zmanjševanje vsebnosti citronske kisline je sledilo razgradnji jabolčne kisline. Poraba je bila nekoliko hitrejša in zato nekaj dni prej zaključena pri koinokulacijah MKB. V mladem vinu kontrolne vinifikacije, kjer je potekla spontana MKF, je preostalo še 79 mg/L citronske (preglednica 18).

Poraba jantarne kisline je bila popolna v vseh petih primerih vinifikacije sorte malvazija, enako kot pri sorti chardonnay. V primerjavi s porabo citronske kisline je bila poraba jantarne kisline končana hitreje. Pri koinokulacijah MKB je bil trend zmanjševanja nekoliko počasnejši kot pri inokulacijah.



**Slika 16: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijo KIN1 sorte malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Figure 16: Contents of organic acids during vinification KIN1 of Malvasia, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Vinifikacije sorte sauvignon (priloga A3), katere mošt je med vsemi štirimi mošti letnika 2004 imel najmanj primerne vrednosti parametrov kislosti za potek MKF (preglednica 15), so potrdile predvidevanja o motenem poteku MKF, tako pri koinokulaciji kot inokulaciji MKB kot pri uporabi MKB1 in MKB2. Kljub večji odpornosti starterske kulture MKB2 na nižji pH, tega v primeru uporabe pri sorti sauvignon nismo ugotovili. Dodane MKB so se težko prilagodile na obsoječe razmere v mediju. MKF se je pri obeh koinokulacijah MKB začela sicer hitro, vendar je bil njen potek počasen in dolgotrajen. V opazovanem obdobju se MKF ni zaključila. MKF vinifikacije KIN1 je potekala hitreje v primerjavi s KIN2. V obeh inokulacijah MKB se je MKF začela prej in je potekala nekoliko počasneje v primeru IN1 kot IN2. V mladih vinih vodene MKF (preglednica 20) smo tako določili vsebnosti jabolčne kisline v intervalu od 0,98 g/L (KIN1) do 2,92 g/L (IN1). Temu primerne so bile vsebnosti mlečne kisline; od najmanjše 3,21 g/L (IN1) do največje 4,61 g/L (KIN1). Pri kontrolni vinifikaciji je spontana MKF sicer stekla, vendar se je razgradnja jabolčne kisline začela šele 47. dan vinifikacije. V mladem vinu smo določili 4,77 g/L jabolčne kisline in le 1,58 g/L mlečne kisline. Pri dodatni, šesti vinifikaciji sorte sauvignon z uporabo treh prehranskih sredstev, spontana MKF ni potekla. Tako so



bile vsebnosti jabolčne, citronske in jantarne kisline v mladem vinu primerljive z njihovimi vsebnostmi v moštu.

Zaradi motenega poteka vodene MKF pri vinifikacijah sorte sauvignon, je zaostala tudi razgradnja citronske kisline. Poraba citronske kisline ni bila popolna v nobenem primeru vodene MKF. Začetek porabe citronske kisline pri vinifikaciji KIN1 smo opazili 10. dan, medtem ko se je pri vinifikaciji KIN2 začela poraba prej, 8. dan. V nadaljevanju je bilo zmanjševanje hitrejše pri vinifikaciji KIN1 kot pri KIN2, saj smo v vzorcu zadnji dan opazovanja določili za 127 mg/L manj citronske kisline, torej 125 mg/L (preglednica 20). Primerjava inokulacij MKB IN1 in IN2 je ugotovila začetek porabe citronske kisline 14. dan po inokulaciji MKB v obeh primerih. V mladih vinih smo določili 364 mg/L citronske kisline v primeru vinifikacije IN1 in 332 mg/L pri vinifikaciji IN2.

Zmanjšanje vsebnosti jantarne kisline smo opazili pri vinifikacijah, kjer je potekala MKF. Jantarna kislina se je pri koinokulacijah MKB popolnoma porabila 28. (KIN1) oz. 33. dan (KIN2). Pri inokulacijah MKB je bil trend zmanjševanja jantarne kisline hitrejši kot pri koinokulacijah. Pri vinifikaciji IN1 smo opazili popolno porabo jantarne kisline ob koncu opazovanega obdobja, medtem ko smo mlademu vinu vinifikacije IN2 določili 17 mg/L jantarne kisline (preglednica 20). Mlada vina kontrolne vinifikacije in vinifikacije PS so vsebovala 173 oz. 355 mg/L jantarne kisline.

Pri zadnji od štirih obravnavanih sort letnika 2004, laškem rizlingu, je bila sestava mošta glede kislinskih parametrov (preglednica 15) tudi bolj neugodna za izvedbo MKF. Mošt vseboval največ jabolčne kisline, 5,89 g/L ter najmanj skupnih fenolov. In čeprav je bil pH višji od pH mošta sauvignon le za 0,04 enote, vsebnost skupnih kislin in vrednost pufrne kapacitete tudi največja, do večjih pričakovanih motenj pri začetku in poteku MKF v nasprotju s pričakovanji ni prišlo (priloga A4). Večje odpornosti starterske kulture MKB2 na nižji pH nismo ugotovili. Pri koinokulacijah MKB je sledil hiter začetek in potek MKF. Hitrost porabe jabolčne kisline je bila večja pri KIN1. MKF se je v obeh koinokulacijah MKB končala 21. dan. Začetek MKF pri inokulacijah MKB v mlado vino je bil hitrejši pri IN1, kjer smo popolno porabe jabolčne kisline določili 21. dan od inokulacije MKB, pri IN2 pa 35. dan. Spontana MKF je stekla pri kontrolni vinifikaciji sorte laški rizling in je bila zaključena 42. dan opazovanja. Med vinifikacijo PS je stekla spontana MKF z nekajdnevni zamikom v primerjavi s kontrolno vinifikacijo in se v opazovanem obdobju ni popolnoma zaključila. V vzorcu je preostalo 0,58 g/L jabolčne kisline. Glede na začetno vsebnost jabolčne kisline, so mlada vina laški rizling v primerjavi z ostalimi tremi sortami vsebovala največ mlečne kisline (preglednica 22). Največjo vsebnost, 5,31 g/L mlečne kisline, smo določili v mladem vinu, koinokuliranim z MKB2. Vsebnosti v mladih vinih, kjer smo tudi izvedli vodeno MKF, niso veliko zaostajale, od 0,02 do 0,06 g/L. Mlado vino, ki smo ga vinificirali z dodatnim prehranskim sredstvom, je zaradi nepopolne MKF med vsemi laškimi rizlingi vsebovalo najmanj mlečne kisline, 4,71 g/L.

Razgradnja citronske kisline je bila v opazovanem obdobju popolnoma končana pri petih od šestih vinifikacij sorte laški rizling. V mladem vinu z oznako PS smo določili kar 508 mg/L omenjene kisline, kljub temu da je bila poraba jabolčne kisline skoraj zaključena. Hitrost porabe citronske kisline je bila pri posameznih vinifikacijah, tako pri vodeni kot spontani MKF, primerljiva s hitrostjo razgradnje jabolčne kisline za odgovarjajočo vinifikacijo in ji je sledila.

Trend porabe jantarne kisline je bil hitrejši tako od citronske kot od jabolčne v vseh primerih vodene in spontane MKF. Hitrost porabe je bila hitrejša pri koinokulacijah MKB kot inokulacijah ter hitrejša pri dodatku MKB1 kot MKB2.

Pri vseh vinifikacijah štirih sort so se vsebnosti vinske kisline med vinifikacijo zmanjšale, vendar ne zaradi delovanja MKB, temveč predvsem zaradi tvorbe vinskega kamna. Iz začetne vsebnosti v moštu chardonnay 1,32 g/L (preglednica 15) se je vsebnost zmanjšala v odvisnosti od vinifikacije na 0,70-0,81 g/L v mladih vinih (preglednica 16), v povprečju pri vseh petih vinifikacijah za 43 %. Mošt malvazija je vseboval 1,63 g/L vinske kisline, mlada vina pa od 0,85 do 0,97 g/L (preglednica 18), v povprečju torej za 44 % manj. Izmed obravnavanih moštov je vseboval sauvignon največ vinske kisline, 2,01 g/L. Mlada vina te sorte so jo tudi vsebovala največ, v intervalu od 1,58 do 1,89 g/L

(preglednica 20). Pri sauvignonu se je vsebnost vinske kisline v povprečju pri vseh šestih vinifikacijah najmanj zmanjšala, samo za 10 %. Pri laškem rizlingu so se vsebnosti vinske kisline iz začetne vsebnosti 1,93 g/L zmanjšale na 1,11-1,30 g/L (preglednica 22), kar pomeni povprečno skoraj 39 % zmanjšanje.

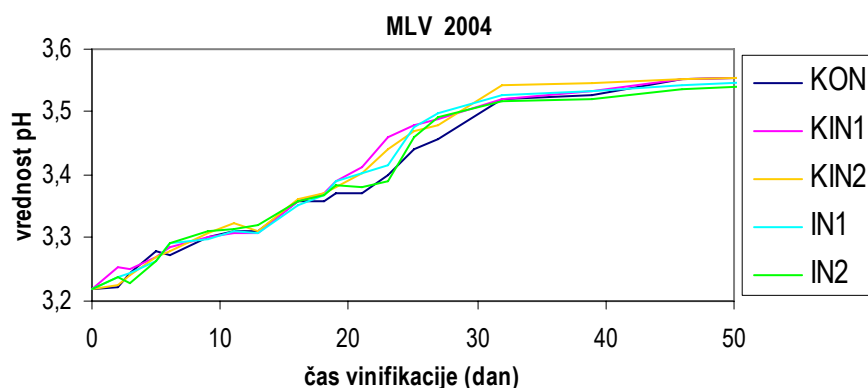
Vsebnosti šikimske kisline so med vinifikacijami pokazale trend enakomernega povečevanja, odvisno od sorte. Pri sorti chardonnay, kjer sta bili vsebnosti v moštih letnika 2004 skupaj z malvazijo največji, se je vsebnost povečala iz 50 mg/L na 60-64 mg/L v mladih vinih (preglednica 16), medtem ko pri malvaziji iz 51 mg/L na 57 do 60 mg/L (preglednica 18). Pri chardonnayu se je vsebnost šikimske kisline povečala v povprečju pri vseh petih vinifikacijah za skoraj 25 %, pri malvaziji za 15 %. Vsebnosti šikimske kisline so bile v moštih iz vinorodne dežele Podravje manjše za polovico v primerjavi z moštoma iz vinorodne dežele Primorska (preglednica 15). V mladih vinih sorte sauvignon se je šikimska kislina nahajala v vsebnostih od 32 do 38 mg/L (preglednica 20) in pri laškem rizlingu od 29 do 31 mg/L (preglednica 22). Povečanje vsebnosti šikimske kisline med vinifikacijo je bilo v primerjavi z moštoma chardonnay in malvazija večje; pri vseh šestih vinifikacijah sorte sauvignon je znašalo 42 % in pri laškem rizling kar 49 %.

#### 4.1.2.2 Spremljanje pH

Spremembe vrednosti pH med posameznimi vinifikacijami sort letnika 2004 (priloga A5), so sledile poteku MKF, torej razgradnji jabolčne kisline. Vrednost pH se je v vseh primerih pričakovano povečala. Delno povečanje pH smo lahko pripisali tudi zmanjševanju vsebnosti vinske kisline med vinifikacijo zaradi tvorbe kalijevega hidrogenatartrata, pa tudi zmanjševanju ostalih organskih kislin (citronska, jantarna kislina).

Pri sorti chardonnay (priloga A5) sta izstopali obe koinokulaciji MKB. Iz začetnega pH mošta 3,43, se je vrednost povečala na 3,63 in 3,62 v sedmih dneh. V tem obdobju se je razgradila približno polovica jabolčne kisline. Do konca 50 dnevne vinifikacije je pH dosegel zelo visoko vrednost, 3,75 pri obeh koinokulacijah MKB. 1. dan spremljanja omenjenega parametra pri inokulacijah MKB je bila sprememba pH zanemarljiva, medtem ko se je v času do inokulacije MKB povečala na 3,52. Od 2. dne inokulacije MKB oz. 17. dne od začetka vinifikacije je pH bolj strmo naraščal pri obeh inokulacijah MKB, sploh med 9. in 14. dnem od dodatka MKB. Končne vrednosti pH so bile primerljive s koinokulacijama MKB, saj so znašale pri IN1 3,76 in pri IN2 3,74 (preglednica 15). V primeru spontane MKF pri kontrolni vinifikaciji je bil trend povečevanja pH podoben trendu gibanja pH pri inokulacijah MKB. Zelo je izstopalo povečanje med 29. in 43. dnem vinifikacije. Končna vrednost pH mladega vina KON vinifikacije je dosegla vrednost 3,76. Med potekom MKF v vseh petih vinifikacijah sorte chardonnay se je pH v povprečju povečal iz 3,43 na 3,75, torej za 0,32 enote. Vrednosti pH v mladih vinih se niso statistično značilno razlikovale. Končne vrednosti pH so bile zelo visoke in nevarne oz. ustrezne za pojav mlečnokislinskega kvara vina, torej delovanje kvarljivcev.

Za vinifikacije sorte malvazija (slika 17, priloga A5) je bilo značilno dokaj konstantno in enakomerno povečevanje vrednosti pH pri vseh petih vinifikacijah. Med koinokulacijo in inokulacijo MKB nismo opazili značilnih razlik, niti v primerjavi s kontrolno vinifikacijo, kjer je potekla spontana MKF. Pri vinifikacijah IN1, IN2 in KON smo opazili nekoliko izrazitejše povečanje pH med 23. in 32. dnem. Vrednosti pH so se med 50-dnevnim spremljanjem povečale iz začetne 3,22 v povprečju na 3,55, torej za 0,3 enote. Končne vrednosti pH v mladih vinih so bile zelo primerljive in so se nahajale v intervalu od 3,54 do 3,56 (preglednica 18). Razlike pH med vinifikacijami so bile statistično neznačilne. Vrednosti pH mladih vinih so bile malo nad spodnjo mejo 3,50, ki bolj ustreza razvoju MKB kvarljivcev kot MKB vrste *O. oeni*.



**Slika 17: Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami vin sorte malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Figure 17: pH values during vinification of Malvasia, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Pri spremljanju vrednosti pH sorte sauvignon (priloga A5) je izstopalo znižanje pH pri vseh vinifikacijah v prvih treh dneh opazovanja. Vrednost se je iz začetne 3,14 znižala na 2,98, torej za 0,16 enote. V naslednjih dveh dneh se je povečala na vrednosti od 3,07 do 3,10. To izrazito znižanje je verjetno prispevalo k večdnevemu zamiku začetka MKF pri koinokulacijah MKB. Večje povišanje pH smo lahko opazili med 10. in 14. dnevom vinifikacije pri vseh primerih. Do konca vinifikacije je pH v posameznih mladih vinih dosegel vrednosti v intervalu, od 3,19 do 3,29, zaradi različne količine razgrajene jabolčne kisline (preglednica 20). Največje vrednosti pH smo izmerili v mladih vinih vinifikacij KIN1 (3,29) in KIN2 (3,27), medtem ko so bile vrednosti pri ostalih vinifikacijah od 3,19 do 3,22. Zanimivo je, da se je pH povečal tudi v primeru kontrolne vinifikacije, kjer je spontana MKF začela potekati zadnje dni vinifikacije in pri vinifikaciji PS, kjer se MKF ni začela.

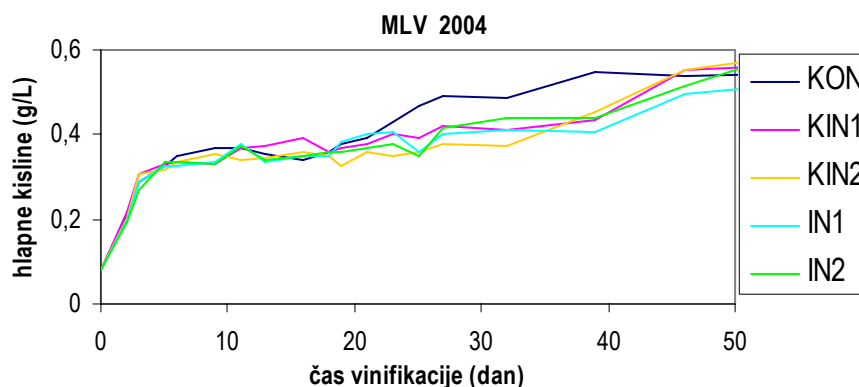
Pri spremljanju pH sorte laški rizling (priloga A5) smo opazili značilne razlike med koinokulacijo in inokulacijo MKB, torej časom dodatka starterskih kultur MKB. V prvih štirih dneh vseh vinifikacij je bilo značilno zmanjšanje vrednosti pH, tako kot pri sorti sauvignon. pH se je v tem času zmanjšal iz 3,18 na vrednosti v intervalu od 3,06 do 3,09. V povprečju torej na 3,07, kar je bilo primerljivo pri sorti sauvignon. Od 5. do 7. dne se je pH pri koinokulacijah MKB strmo povečeval. Od 12. do 18. dne je bil konstanten in je začel ponovno povečevati z 21. dnevom. V nadaljevanju vinifikacije je bila vrednost ponovno konstantna. V obeh primerih inokulacije MKB se je pH od 14. dne, ko smo dodali starterske kulture MKB, zelo počasi povečeval do 28. dne oz. do 14. dne od inokulacije MKB. V nadaljevanju se je zelo povečal in bil nato konstanten do konca vinifikacij. Enake zakonitosti sprememb pH so veljale tudi za vinifikaciji KON in PS, kjer je pri obeh stekla spontana MKF. Končne vrednosti pH mladih vin laškega rizlinga so bile zelo primerljive, nahajale so se v intervalu od 3,43 do 3,45 (preglednica 22). V povprečju se je pH povečal iz 3,18 na 3,44, torej za 0,26 enote.

#### 4.1.2.2 Spremljanje hlapnih kislin

Med vinifikacijami izbranih sort letnika 2004 smo spremljali vsebnosti hlapnih kislin (priloga A6). Ocetna kislina, kot najbolj zastopana med hlapnimi kislinami, je produkt delovanja tudi MKB in ne le kvasovk. V večini primerov vinifikacij poskusa z letnikom 2004 so bile spremembe vsebnosti hlapnih kislin povezane s potekom MKF.

Pri vinifikacijah sorte chardonnay (priloga A6) nismo opazili pričakovanih razlik v dinamiki vsebnosti hlapnih kislin. Začetna vsebnost hlapnih kislin v moštu chardonnay (0,30 g/L), je bila skupaj z vsebnostjo v moštu laški rizling (0,36 g/L) med največjimi v primerjavi s sortama malvazija (0,08 g/L) in sauvignon (0,11 g/L) (preglednica 15). Pri chardonnayu je bila to posledica zelo dozorelega grozdja, ki je bilo verjetno tudi že poškodovano. Pričakovanih razlik med koinokulacijo in inokulacijo

MKB ter uporabljenima starterskima kulturama MKB nismo opazili. Vsebnosti so se med posamezno vinifikacijo spreminjale. V času inokulacije MKB, torej 14. dan vinifikacije so se vsebnosti hlapnih kislin nahajale v intervalu od 0,30 do 0,36 g/L. Vsebnost je bila pri kontrolni vinifikaciji najnižja v primerjavi z vodenimi MKF. Izrazitejše povečanje vsebnosti hlapnih kislin smo opazili od 36. do 50. dne vinifikacije, torej ob koncu. Vsebnosti hlapnih kislin so bile v mladih vinih sorte chardonnay (preglednica 16) razporejene v intervalu od 0,38 do 0,47 g/L. Povprečno so se pri petih obravnavanih vinifikacijah povečale za 0,12 g/L, kar je zelo malo. Primerjava vsebnosti hlapnih kislin v mladih vinih je pokazala statistično značilno razliko.



**Slika 18: Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Figure 18: Contents of volatile acids during vinification of Malvasia, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Pri spremljanju vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami sorte malvazija (slika 18, priloga A5) tudi nismo opazili bistvenih razlik med potekom spontane in posameznih vodenih MKF. Razlike niso bile opazne niti med koinokulacijo in inokulacijo MKB. V prvih petih dneh so se vsebnosti hlapnih kislin zelo povečale, nekoliko bolj pri obeh koinokulacijah MKB. V nadaljevanju je sledila konstantna vsebnost, razen pri obeh inokulacijah MKB, kjer so se vsebnosti še povečevale in dosegle večjo vrednost kot pri ostalih treh vinifikacijah. Manjše spremembe vsebnosti hlapnih kislin pri posameznih vinifikacijah smo opazili do 18. dne, vendar jih lahko pripišemo merski negotovosti. Od tu naprej je izstopalo majhno povečevanje vsebnosti hlapnih kislin pri kontrolni vinifikaciji, ki je doseglo konstantno vsebnost 39. dan vinifikacije. Tako pri obeh koinokulacijah kot inokulacijah MKB so se vsebnosti hlapnih kislin neenakomerno povečevale do konca spremljanja. Končne vsebnosti hlapnih kislin pri posameznih mladih vinih sorte malvazija so se gibale v intervalu od 0,51 do 0,58 g/L (preglednica 18). Povprečno se je vsebnost hlapnih kislin povečala za 0,47 g/L, kar je presegalo pričakovano vsebnost po zaključku MKF. V mladih vinih malvazija smo določili nekoliko več hlapnih kislin v primeru vodene MKF z MKB2 kot z MKB1. Med vsebnostmi hlapnih kislin v mladih vinih smo ugotovili statistično neznačilne razlike.

Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin pri vinifikacijah sorte sauvignon (priloga A6) je pokazalo izrazito povečanje med AF, torej v prvih petih dneh vinifikacije. Iz začetne majhne vsebnosti v moštu (0,11 g/L) se je povečala na vsebnosti v intervalu od 0,25 do 0,34 g/L. Pri tem sta izstopali vinifikaciji vodene MKF z MKB2. V nadaljevanju so se vsebnosti sicer spreminjale, vendar zelo malo. Izrazito povečanje je bilo opazno pri vseh vinifikacijah od 40. dne do konca vinifikacije. Vsebnosti hlapnih kislin v mladih vinih so se nahajale v intervalu od 0,44 do 0,59 g/L v primeru vodenih MKF ter nepričakovanih 0,92 g/L v primeru spontane MKF pri kontrolni vinifikaciji (preglednica 20). Kljub motenemu poteku in nedokončanju štirih vodenih MKF, so se vsebnosti hlapnih kislin v povprečju povečale za 0,40 g/L. Pri sorti sauvignon smo opazili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost hlapnih kislin, saj so jih mlada vina, koinokulirana z MKB, vsebovala manj kot mlada vina, naknadno inokulirana z MKB. Primerjava med uporabljenima starterskima kulturama MKB je

pokazala zanemarljivo večjo vsebnost hlapnih kislin v primeru uporabe MKB2 kot MKB1. V mladem vinu, pridelanem z vinifikacijo PS, smo določili 0,48 g/L hlapnih kislin. To je predstavljalo kar veliko vsebnost, saj se MKF v tem primeru ni niti začela. Med vsebnostimi hlapnih kislin so obstajale statistično zelo visoko značilne razlike.

Začetna vsebnost hlapnih kislin pri vinifikacijah sorte laški rizling (priloga A6), je bila v primerjavi z ostalimi tremi sortami največja, 0,36 g/L (preglednica 15). Vzrok temu je bilo zaradi vremenskih razmer neprimerno dozorelo in s plesnimi vrste *Botrytis cinerea* ter očetnokislinskimi bakterijami okuženo grozdje. V prvih petih dneh spremljanja smo opazili zmanjšanje vsebnosti hlapnih kislin, v povprečju pri vseh šestih vinifikacijah za 0,10 g/L. Nato je bila vsebnost do 14. dne skoraj konstantna. Izjema je bila vinifikacija KIN1, ki je imela podoben trend kot KIN2, samo da je količinsko malo zaostajal. Kljub inokulaciji starterskih kultur MKB, se vsebnost hlapnih kislin ni spremenila do 21. dne oz. 7 dni od inokulacije MKB. Nato smo opazili strmo povečevanje vsebnosti, ki je bilo pri vinifikaciji IN1 izrazitejše kot pri IN2. Končni vsebnosti v mladih vinih pri inokulaciji MKB sta bili primerljivi (0,56 in 0,59 g/L). Primerjava vsebnosti hlapnih kislin v mladih vinih sorte laški rizling (preglednica 22) pri vodenih MKF je pokazala največjo vsebnost pri vinifikaciji KIN1 (0,75 g/L), medtem ko je bila najmanjša vsebnost določena v vzorcu vinifikacije KIN2 (0,52 g/L). Največjo vsebnost hlapnih kislin (2,04 g/L) smo določili v mladem vinu laškega rizlinga, pridelanem s kontrolno vinifikacijo, ki je presegla zakonsko dovoljeno vsebnost hlapnih kislin v belih vinih. V tem primeru, kakor tudi pri vinifikaciji PS (0,81 g/L hlapnih kislin), povečane vsebnosti niso bile le posledica delovanja MKB med spontano MKF, temveč predvsem delovanja očetnokislinskih bakterij, ki so izvirale iz grozdja. Med vsebnostimi hlapnih kislin v mladih vinih so obstajale statistično zelo visoko značilne razlike.

#### 4.1.2.4 Spremljanje sladkorjev in glicerola

Med mikrovinifikacijskim poskusom štirih belih sort letnika 2004 smo spremljali vsebnosti treh sladkorjev: glukoze, fruktoze, saharoze ter poliola glicerola. Največja poraba glukoze in fruktoze, prevladujočih sladkorjev grozdnega mošta, je bila opazna v vseh primerih vinifikacije med AF. Vsa mlada vina so se glede vsebnosti reducirajočih sladkorjev uvrstila v razred suhih vin, saj so bile vsebnosti manjše od 1 g/L. Ker kvasovke med metabolizmom sladkorjev raje porabljajo glukozo, se je njena vsebnost med AF hitreje zmanjševala kot vsebnost fruktoze. MKB nasprotno raje porabljajo fruktozo. Vsebnost saharoze se je med vsemi vinifikacijami posameznih sort zmanjšala, najverjetneje zaradi hidrolize. Vzporedno s porabo heksoz se je tvoril glicerol, ki je poleg etanola, glavni produkt AF. Tvorba glicerola je bila obratno sorazmerna poteku porabe glukoze in fruktoze. Po zaključeni AF je v posameznem vinu preostalo še nekaj sladkorjev, ki so jih med vodeno ali spontano MKF koristile MKB kot vir energije. To je bil razlog za drugo, sicer veliko manjše zmanjšanje vsebnosti sladkorjev v vinu in zato na slikah ni opazno. Med potekom vinifikacij v nobenem primeru tako vodene kot spontane MKF nismo opazili zmanjševanja vsebnosti glicerola v sled nezaželenega delovanja MKB.

Spremembe vsebnosti glukoze in fruktoze med petimi vinifikacijami sorte chardonnay (priloga A7) so pokazale zelo intenziven potek AF v prvih dneh spremljanja. Pri kontrolni vinifikaciji smo opazili v obdobju od 3. do 7. dne upočasnitev AF. To najverjetneje ni bilo povezano z začetkom spontane MKF, saj smo začetek razgradnje jabolčne kisline opazili kasneje. Tudi pri koinokulacijah MKB se je pojavil manjši zaostanek porabe omenjenih heksoz med 5. in 12. dnem. Pri inokulacijah MKB, ki smo ju izvedli 14. dan vinifikacije, smo opazili pri IN1 rahel zaostanek že med 1. in 3. dnevom, medtem ko se je naslednja manjša upočasnitev porabe sladkorjev pojavila pri IN1 in IN2 med 7. in 12. dnem od dodatka MKB. Omenjene zaustavitve AF so se najverjetneje pojavile zaradi nizke vsebnosti FAN v moštu (96 g/L). Kljub dodatku dveh prehranskih sredstev pri vseh vinifikacijah, bi morala biti najverjetneje vsebnost FAN za nemoten potek AF večja. Grozdni mošt

chardonnay je vseboval 91 °Oe sladkorjev. Vsebnost fruktoze je bila v moštu z 52,5 % večji kot glukoze (preglednica 15). 15. dan spremljanja so bile vsebnosti glukoze in fruktoze večje pri inokulacijah kot koinokulacijah MKB. Razmerje med glukozo in fruktozo je bilo ponovno v prid zadnji. Pri obeh primerih inokulacije MKB smo opazili v nadaljevanju intenzivnejše zmanjševanje vsebnosti fruktoze kot glukoze, kar potrjuje delovanje MKB. Mlada vina sorte chardonnay, kjer je potekla MKF, so vsebovala večji delež glukoze kot fruktoze. Večja razlika med heksozama je bila v primeru inokulacije. Vsebnosti glukoze v mladih vinih so bile od 0,41 (IN1) do 0,53 g/L (KON), medtem ko so bile vsebnosti fruktoze od 0,23 g/L (IN1) do 0,43 g/L (KIN1) (preglednica 16). Med vsebnostimi glukoze in fruktoze smo ugotovili statistično zelo visoke razlike.

Pri spremljanju vsebnosti saharoze med vinifikacijami sorte chardonnay nismo opazili razlik. Vsebnost saharoze je bila konstantna prvih 9 do 12 dni, nato se je začela zmanjševati. Iz začetne vsebnosti 0,53 g/L se je zmanjšala v povprečju za 0,29 g/L. Vsebnosti v mladih vinih so bile zelo primerljive, saj so se nahajale v intervalu od 0,23 do 0,26 g/L (preglednica 16). Statistična obdelava med vsebnostmi saharoze v mladih vinih ni ugotovila statistično značilnih razlik.

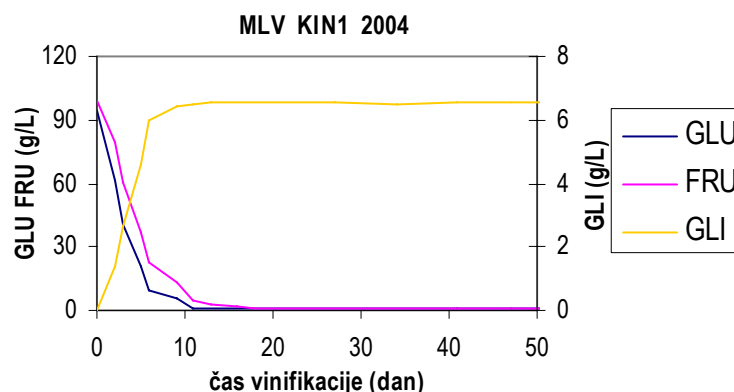
Povečanje vsebnosti glicerola med vinifikacijami sorte chardonnay je sledilo zmanjševanju vsebnosti glukoze in fruktoze. Pri spremljanju vsebnosti glicerola nismo opazili zastojev. Konstantno vsebnost je glicerol dosegel nekaj dni prej v primeru inokulacije MKB kot koinokulacije in kontrolne vinifikacije. To lahko razložimo z antagonizmom med kvasovkami in MKB, ki je nastopil med koinokulacijo MKB. Končne vsebnosti glicerola v petih mladih vinih so dosegle interval od 7,24 do 7,45 g/L (preglednica 16). Pri koinokulaciji MKB1 se je v tvorilo manj glicerola kot v primeru preostalih treh vodenih MKF. Vsebnost je bila primerljiva z vsebnostjo pri kontrolni vinifikaciji, kjer je potekla spontana MKF. Med vsebnostmi glicerola smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike. Glede na vsebnost glicerola, več kot 6 g/L, bi lahko vsa mlada vina sorte chardonnay uvrstili v razred vrhunskih vin.

Spremembe vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami sorte malvazija (priloga A8, slika 19) so bile podobne kot pri sorti chardonnay, le da so bili pri vinifikacijah KON, IN1 in IN2 opazni vmesni zaostanki tako porabe sladkorjev kot tvorbe glicerola, vendar ne zaradi antagonizma med kvasovkami in MKB, saj MKB v omenjenih vzorcih niso bile prisotne. Grozdni mošt malvazija je vseboval manj sladkorjev kot chardonnay, 84 °Oe. Vsebnost fruktoze je bila v moštu s 52,8 % večja kot glukoze (preglednica 15). V prvih dneh vinifikacije je potekala intenzivna AF. V obeh primerih koinokulacije MKB je bila hitrost porabe obeh sladkorjev bolj intenzivna kot pri ostalih treh vinifikacijah, kar je dobro pokazala primerjava vsebnosti posameznih spojin med 6. in 11. dnev. Vsebnosti glukoze in fruktoze so bile večje pri obeh inokulacijah MKB in kontrolni vinifikaciji. Temu je bil vzrok sočasen potek MKF, med katero je prišlo do dodatne porabe omenjenih heksoz. Pri obeh inokulacijah MKB smo opazili zmanjševanje vsebnosti sladkorjev zaradi delovanja MKB že 3. dan po dodatku. V vseh petih primerih vinifikacije je potekla popolna razgradnja jabolčne kisline. V nasprotju s sorto chardonnay niso bile opazne razlike v vsebnostih glukoze in fruktoze (preglednica 18). Vsebnosti glukoze pri vodenih MKF so se gibale v intervalu med 0,51 (IN1) in 0,55 g/L (KIN1), medtem ko je bila vsebnost pri kontrolni vinifikaciji največja, 0,57 g/L. Vsebnosti fruktoze so se v vzorcih z vodeno MKF nahajale v intervalu med 0,49 g/L (IN2) in 0,54 g/L (KIN1, KIN2), medtem ko smo pri kontrolni vinifikaciji (spontana MKF) določili najmanjšo vsebnost, 0,41 g/L. V mladih vinih so bile razlike med vsebnostmi glukoze ugotovili statistično značilne, med vsebnostmi fruktoze pa statistično zelo visoko značilne.

Med potekom vinifikacij sorte malvazija se je vsebnost saharoze skoraj prepolovila. Iz začetne 0,43 g/L se je zmanjšala na vsebnosti med 0,16 (KIN1) in 0,24 g/L (KIN2, KON) (preglednica 18). Začetek zmanjševanja je bil med 9. in 13. dnev različen, odvisno od vinifikacije. Med vsebnostmi saharoze v mladih vinih so obstajale statistično značilne razlike.

Primerjava tvorbe glicerola med posameznimi vinifikacijami sorte malvazije je pri inokulacijah MKB in kontrolni vinifikaciji ugotovila vmesno zmanjšanje intenzitete nastanka. Pri koinokulacijah MKB

zastojev ni bilo in se je pri 9. dnevu vinifikacije v teh primerih tvorilo nekoliko več glicerola kot pri inokulaciji MKB. Po 50 dneh so mlada vina, inokulana z MKB po AF, vsebovala nekoliko manj glicerola v primerjavi z ostalimi. Vsebnosti so se gibale med 6,32 (IN2) in 6,52 g/L (KIN1) (preglednica 18). Te vsebnosti so bile manjše kot v mladih vinih sorte chardonnay. Med vsebnostmi glicerola so obstajale statistično zelo visoko značilne razlike. Glede na vsebnosti glicerola bi lahko vsa mlada vina sorte malvazija uvrstili v vrhunski razred, saj so ga vsebovala več kot 6 g/L.



**Slika 19: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijo KIN1 sorte malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Figure 19: Contents of sugars and glycerol during vinification KIN1 of Malvasia, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Spremembe vsebnosti sladkorjev in glicerola šestih vinifikacij sorte sauvignon letnika 2004 (priloga A9), so pokazale intenzivnejšo AF v primerjavi s predhodnima sortama. Vsebnost sladkorjev v grozdnem moštu sauvignon je bila primerljiva z vsebnostmi pri malvaziji, 85 °Oe. Vsebnost fruktoze je bila tudi v tem moštu nekoliko večja kot glukoze, saj je njen delež predstavljal 51,1 % (preglednica 15). Začetek AF, razen pri kontrolni vinifikaciji, je bil intenzivnejši kot pri vinifikacijah ostalih dveh sort. V vseh vinifikacijah je bila AF končana med 6. in 8. dnem, prej kot pri sortah chardonnay in malvazija. Primerjava vsebnosti sladkorjev 10. dan vinifikacije je pokazala večjo vsebnost fruktoze kot glukoze. Pri inokulacijah MKB po AF so bile vsebnosti fruktoze večje kot pri koinokulacijah, kjer je MKF nastopila z zaostankom. V vseh štirih primerih vodene MKF so bile navkljub zapletom pri začetku MKF opazne značilne razlike med vsebnostjo glukoze in fruktoze v mladih vinih. Zaradi zamika vodene MKF pri obeh koinokulacijah MKB se vsebnosti heksoz niso bistveno razlikovale z inokulacijama MKB (preglednica 20). Vsebnosti glukoze v mladih vinih, kjer je potekla vodena MKF, so se nahajale v intervalu med 1,09 (IN1) in 1,36 g/L (KIN2). Vsebnosti fruktoze so bile manjše, interval se je začel pri 0,64 (KIN1) in končal pri 0,83 g/L (IN1). Vino kontrolne vinifikacije, kjer se je spontana MKF začela zadnje dni opazovanja, je vsebovalo 1,36 g/L glukoze in 1,07 g/L fruktoze. Vsebnosti glukoze in fruktoze v mladih vinih so se statistično zelo visoko značilno razlikovale. Vino pridelano z dodatnim prehranskim sredstvom je vsebovalo največ glukoze (1,69 g/L) in fruktoze (1,58 g/L), saj se MKF v tem primeru ni začela. Večje vsebnosti heksoz v mladih vinih sorte sauvignon v primerjavi z vini chardonnay in malvazija lahko pripišemo visokemu začetnemu pH mošta in zaradi tega olajšanemu delovanju MKB kot tudi kvasovk.

Vsebnosti saharoze so med potekom šestih vinifikacij sorte sauvignon v povprečju zmanjšale za skoraj 44 %, iz 0,39 g/L na povprečno 0,22 g/L. Začetek zmanjševanja je bil značilen za časovno obdobje med 7. in 10. dnem vinifikacije. Mlada vina sauvignon so vsebovala med 0,19 (KIN1) in 0,24 g/L saharoze (KIN2, SP) (preglednica 20). Statistične razlike med vzorci mladih vin v vsebnostih saharoze niso obstajale.

Glede na zelo podobno vsebnost sladkorjev v moštu sauvignona in malvazije se je med vinifikacijami prvega tvorilo v povprečju za 0,41 g/L več glicerola kot pri malvaziji. V začetku je hitrost tvorbe glicerola zaostala le v primeru vinifikacije KIN1. Primerjava vsebnosti glicerola 7. dan vinifikacije ni



pokazala razlik med koinokulacijo in inokulacijo MKB v vzorcih z vodeno MKF, najverjetneje zaradi zamika vodene MKF pri koinokulacijah MKB. Po končani nekajdnevni AF so vsebnosti glicerola v nadaljevanju vinifikacije ostale konstantne. Mlada vina sauvignon bi lahko na osnovi vsebnosti glicerola uvrstili v vrhunski razred, saj so ga vsebovala med 6,74 (PS) in 6,85 g/L (KIN2) (preglednica 20). Med koinokulacijo in inokulacijo MKB posameznega seva ni bilo značilnih razlik v vsebnosti glicerola.

Na osnovi spremljanja vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami sorte laški rizling (priloga A10) smo opazili, da med šestimi vinifikacijami ni bilo večjih razlik v hitrosti porabe oz. tvorbe posamezne spojine. Opazne niso bile upočasnitve ali zastoji tako AF kot MKF. Od vseh obravnavanih sort je AF najhitreje potekla ravno pri vinifikacijah laškega rizlinga. AF je bila končana že v štirih dneh, čeprav smo mošte pred inokulacijo s starterskimi kulturami kvasovk dosladkali na 84 °Oe (preglednica 15). Primerjava vsebnosti heksoz 7. dan vinifikacije je v vseh primerih ugotovila več kot dvakratne vsebnosti fruktoze kot glukoze. Toda med vzorci koinokulacije in inokulacije MKB ni bilo izrazitih razlik, kljub takojšnjemu poteku MKF pri koinokulacijah MKB. Kljub temu se je v mladih vinih pokazal vpliv časa dodatka MKB, ne pa tudi uporabljene starterske kulture MKB. Vsebnosti heksoz so bile večje pri koinokulacijah MKB kot inokulacijah. Razmerje med glukozo in fruktozo je bilo pri koinokulacijah MKB, kontrolne vinifikacije in vinifikacije PS v prid fruktozi, medtem ko je bilo pri inokulacijah MKB v prid glukozni. V primerih vseh vodenih in spontane MKF pri kontrolni vinifikaciji, je bila poraba jabolčne kisline popolnoma končana. Vsebnosti glukoze so se v mladih vinih laški rizling nahajale v intervalu od 0,71 (KIN1) do 1,07 g/L (IN1) (preglednica 22). V intervalu od 0,70 (IN2) do 1,85 g/L (PS) so se nahajale vsebnosti fruktoze. Mlada vina so se statistično zelo visoko značilno razlikovala v vsebnostih glukoze in fruktoze.

Spremljanje vsebnosti saharoze je tudi pri šestih vinifikacijah laškega rizlinga potrdilo zmanjšanje vsebnosti. Iz začetne največje vsebnosti 0,81 g/L med obravnavanimi mošti, se je v povprečju zmanjšala za 23,5 %, na 0,62 g/L. Interval vsebnosti saharoze v mladih vinih je bil med 0,55 in 0,68 g/L (preglednica 22). V nasprotju s preostalimi tremi sortami smo v mladih vinih laškega rizlinga ugotovili statistično visoko značilne razlike v vsebnostih saharoze.

Tvorba glicerola med vinifikacijami laškega rizlinga je sledila hitri porabi heksoz. Vpliv časa dodatka in uporabljenih starterskih kultur MKB smo ugotovili v mladih vinih laški rizling. Vsebnosti glicerola so bile večje pri inokulacijah MKB in z dodatkom MKB2. Najmanjšo vsebnost, 6,20 g/L, smo določili v vzorcu, pridelanem z dodatnim prehranskim sredstvom (preglednica 22). Razlike v vsebnostih glicerola v mladih vinih so bile statistično zelo visoko značilno razliko.

#### 4.1.2.5 Kemijski parametri mladih in zorenih vin

V mladih vinih štirih sort letnika 2004 smo po zaključenem obdobju 50 dni trajanja vinifikacij določili kemijske parametre (preglednice 16, 18, 20, 22). Mlada vina smo v nadaljevanju vinifikacije pretočili iz usedline. Na osnovi opravljene linije vezave SO<sub>2</sub> smo jim dodali ustrezne količine K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, tako da so vsebovala prostega SO<sub>2</sub> 50 mg/L (priloga D1). Po dvomesečnem zorenju pri konstantni temperaturi 8°C smo opravili analize istih parametrov kot v mladih vinih (preglednice 17, 19, 21, 23). Komentarji parametrov pH, hlapnih kislin, organskih kislin, sladkorjev in glicerola so zapisani predhodno, zato je njihov komentar v tem poglavju izpuščen.

Statistična obdelava kemijskih parametrov mladih vin chardonnay (preglednica 16) je za večino obravnavanj med petimi vinifikacijami pokazala statistično zelo visoko značilne razlike. Primerjava vsebnosti titrabilnih kislin, skupnega ekstrakta, skupnih fenolov in FAN med mladimi vini in moštom sorte chardonnay je pokazala zmanjšanje njihove vsebnosti.

Izmed parametrov kislosti, torej pH, skupnih in titrabilnih kislin ter pufrne kapacitete, je obstajala statistično zelo visoko značilno razlika med vinifikacijami le v vrednostih pufrne kapacitete, medtem



ko je bila pri pH razlika statistično neznačilna. V mladem vinu kontrolne vinifikacije, ki je bil edini primer nepopolne razgradnje jabolčne kisline sicer spontane MKF, smo določili največjo purfno kapaciteto, 59,21 mmol/L na pH.

Razlike med posameznimi vinifikacijami so se pokazale v vsebnostih skupnega ekstrakta. Največ skupnega ekstrakta, 24,8 g/L, je vsebovalo mlado vino kontrolne vinifikacije, kjer je bila spontana MKF nepopolna ter vsebnosti vinske kisline, glukoze in skupnih fenolov največje. Vsebnosti skupnega ekstrakta so bile večje pri koinokulacijah kot inokulacijah MKB.

Vsebnosti alkohola so bile med petimi vzorci mladih vin chardonnay zelo primerljive in so bile v intervalu od 12,51 do 12,59 g/L. Med posameznimi vinifikacijami nismo ugotovili vpliva časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost etanola.

Kot je bilo omenjeno, smo v vzorcu kontrolne vinifikacije določili največ skupnih fenolov, 88 mg/L. Ugotovili smo vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost skupnih fenolov. Vsebnosti so bile večje pri koinokulacijah kot inokulacijah MKB, medtem ko vpliva uporabljenih starterskih kultur MKB nismo ugotovili.

Primerjava vsebnosti FAN je pokazala zelo majhne razlike, le nekaj mg N/L, čeprav smo ugotovili statistično značilno razliko.

Na osnovi kemijskih parametrov mladih vin chardonnay letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost mlečne kisline, skupnega ekstrakta, glukoze, fruktoze in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost hlapnih kislin in vinske kisline.

**Preglednica 16: Kemijski parametri mladih vin chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 16: Chemical parameters of young Chardonnay wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	Značilnost
pH	3,76 a	3,75 a, b	3,75 a, b	3,76 a	3,74 b	*
TK1 (g/L)	4,49 b	4,70 a	4,73 a	4,79 a	4,70 a	**
TK2 (g/L)	4,76 b	4,99 a	5,06 a	5,06 a	4,94 a	**
PK (mmol/L na pH)	59,21 a	56,57 b	56,12 c	55,37 d	56,52 b	***
HK (g/L)	0,40 c	0,38 c	0,47 a	0,41 b, c	0,45 a, b	*
VK (g/L)	0,81 a	0,70 c	0,76 b	0,70 c	0,79 a, b	***
JBK (g/L)	0,29 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	***
MK (g/L)	4,41 e	4,60 d	4,75 c	4,86 b	4,95 a	***
CK (mg/L)	61 b	238 a	0 c	0 c	0 c	***
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	60 d	62 c	63 b	64 a	63 b	***
RS (g/L)	0,66 a	0,61 a	0,71 a	0,51 a	0,71 a	nz
SE (g/L)	24,8 a	23,2 b	23,0 b, c	22,7 c, d	22,6 d	***
alkohol (vol.%)	12,51 b	12,59 a	12,57 a	12,56 a,b	12,59 a	*
glukoza (g/L)	0,53 a	0,45 b	0,46 b	0,41 c	0,43 b, c	***
fruktoza (g/L)	0,42 a	0,43 a	0,41 a	0,23 b	0,24 b	***
saharoza (g/L)	0,24 a	0,23 a	0,26 a	0,24 a	0,24 a	nz
glicerol (g/L)	7,24 b	7,26 b	7,44 a	7,45 a	7,44 a	***
SF (mg/L)	88 a	76 b	73 c	67 e	70 d	***
FAN (mg N/L)	8 b	11 a,b	10 a,b	13 a	11 a,b	*

Legenda: \*\*\* P<0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P<0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P<0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

Preglednica 17 prikazuje vrednosti kemijskih parametrov v zorenih vinih chardonnay letnika 2004. Statistična primerjava posameznih parametrov glede na vinifikacijo je pokazala po dvomesečnem zorenju statistično neznačilne razlike v pH, titrabilnih kislinah, jabolčni, citronski in jantarni kislini,

reducirajočih sladkorjih, alkoholu in saharozi. Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne in citronske kisline, reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, alkohola, glukoze, fruktoze in glicerola so se v vseh zmanjšale v vseh zorenih vinih v primerjavi z mladimi vini. Povečanje smo opazili pri pH, pufrni kapaciteti, hlapnih kislinah in mlečni kislini.

**Preglednica 17: Kemijski parametri zorenih vin chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 17: Chemical parameters of aged Chardonnay wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	Značilnost
pH	3,78 a	3,77 a	3,78 a	3,78 a	3,77 a	nz
TK1 (g/L)	4,19 a, b	4,27 a	4,17 a, b	4,19 a, b	4,15 b	nz
TK2 (g/L)	4,46 b	4,65 a	4,67 a	4,70 a	4,42 b	**
PK (mmol/L na pH)	59,54 a	58,70 b	59,56 a	59,52 a	58,67 b	***
HK (g/L)	0,55 c	0,59 c	0,65 b	0,69 a, b	0,72 a	***
VK (g/L)	0,76 a	0,66 b	0,74 a	0,64 b, c	0,62 c	***
JBK (g/L)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	nz
MK (g/L)	4,61 c	4,62 c	4,79 b	4,85 a	4,86 a	***
CK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	62 b	61 d	61 d	63 a	62 b	***
RS (g/L)	0,55 a	0,50 a	0,58 a	0,45 a	0,52 a	nz
SE (g/L)	22,2 a	20,9 b	20,6 b, c	20,3 c, d	20,0 d	***
alkohol (vol.%)	12,53 a	12,56 a	12,54 a	12,51 a	12,55 a	nz
glukoza (g/L)	0,46 a	0,40 b	0,40 b	0,36 c	0,39 b, c	***
fruktoza (g/L)	0,30 b	0,32 a, b	0,34 a	0,20 c	0,20 c	***
saharoza (g/L)	0,22 a	0,22 a	0,25 a	0,26 a	0,21 a	nz
glicerol (g/L)	7,15 b	7,18 b	7,32 a	7,35 a	7,33 a	***
SF (mg/L)	72 a	66 b	64 b	58 c	59 c	***
FAN (mg N/L)	9 b	13 a	12 a	14 a	13 a	*

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

S primerjavo parametrov kislosti smo ugotovili statistične razlike le v skupnih kislinah in pufrni kapaciteti. Toda med posameznimi vinifikacijami nismo mogli ugotoviti vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB, prav tako kot v mladih vinih.

Drugače je bilo z vsebnostjo hlapnih kislin. Vzorec kontrolne vinifikacije, kjer je potekla spontana MKF, je vseboval manj hlapnih kislin kot vzorci, kjer je potekla vodena MKF. Opazen je bil vpliv časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB. Vsebnost hlapnih kislin je bila večja v primeru inokulacije MKB ter uporabe MKB2. Vsebnosti hlapnih kislin po zorenju v vseh petih vzorcih vin chardonnay so bile v mejah pričakovanih vsebnosti glede na zaključeno MKF.

Vsebnosti vinske kisline po dvomesečnem zorenju so se še nekoliko zmanjšale zaradi tvorbe kalijevega hidrogentartrata. Primerjava med vinifikacijami in uporabljenima starterskima kulturama MKB ni pokazala zakonitosti vpliva.

V primeru kontrolne vinifikacije, kjer je mlado vino vsebovalo še nekaj jabolčne kisline, se je ta v času zorenja popolnoma razgradila. Enako velja tudi za vsebnosti citronske kisline v vzorcih KON in KIN1. Nobeno izmed zorenih vin ni vsebovalo citronske kisline, kar pomeni, da so bile MKB kljub pretoku, žveplanju in znižanju temperature med zorenjem aktivne.

V zorenih vinih smo opazili precejšnje zmanjšanje vsebnosti skupnega ekstrakta, saj se je vsebnost v poprečju zmanjšala za 2,5 g/L. Vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta so se nahajala v intervalu med 20,0 in 22,2 g/L, kar pomeni da bi vina chardonnay lahko uvrstili v razred vrhunskih vin.

Vsebnosti so se razlikovale tako med vzorcem spontane kot vzorci vodenih MKF. Za vsebnosti skupnega ekstrakta v zorenih vinih so veljale enake zakonitosti kot za mlada vina.

Vsebnosti alkohola so bile med petimi zorenimi vini chardonnay zelo primerljive in zanje so veljale enake zakonitosti kot za mlada vina.

Primerjava vsebnosti heksoz v posameznih vinih je pokazala večje vsebnosti glukoze kot fruktoze, kar je bilo pričakovano glede na zaključene MKF. Pri inokulacijah MKB so bile vsebnosti tako glukoze kot fruktoze manjše kot pri koinokulacijah MKB.

Vsebnosti glicerola, so se v zorenih vinih nekoliko zmanjšale v primerjavi z mladimi vini. Na njegove vsebnosti MKF in s tem delovanje MKB nista vplivala.

Z določevanjem skupnih fenolov v zorenih vinih smo ugotovili zmanjšanje vsebnosti v primerjavi z mladimi vini. Tudi za zorena vina so veljale enake zakonitosti vsebnosti glede na čas in dodane starterske kulture MKB kot pri mladih vinih.

Vsebnosti FAN so se med zorenjem malo povečale, kar lahko pripišemo avtolizi kvasovk.

Na osnovi kemijskih parametrov zorenih vin chardonnay letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost hlapnih kislin, mlečne kisline, šikimske kisline, skupnega ekstrakta, glukoze, fruktoze in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala le na vsebnost hlapnih kislin.

**Preglednica 18: Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 18: Chemical parameters of young Malvasia wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	Značilnost
pH	3,55 a	3,56 a	3,56 a	3,55 a	3,54 a	nz
TK1 (g/L)	4,77 a, b	4,66 b, c	4,60 c	4,79 a	4,74 a, b	*
TK2 (g/L)	5,01 a, b	4,92 a, b	4,88 b	5,04 a	4,98 a, b	nz
PK (mmol/L na pH)	57,40 d	59,26 b	60,30 a	57,11 d	57,92 c	***
HK (g/L)	0,54 a, b	0,56 a, b	0,58 a	0,51 b	0,58 a	nz
VK (g/L)	0,92 b	0,91 b	0,85 c	0,97 a	0,90 b	***
JBK (g/L)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	nz
MK (g/L)	4,73 d	4,89 c	4,97 a	4,98 a	4,93 b	***
CK (mg/L)	79 a	0 b	0 b	0 b	0 b	***
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	60 a	59 b	58 b	58 b	57 c	***
RS (g/L)	0,41 a	0,51 a	0,46 a	0,66 a	0,58 a	nz
SE (g/L)	18,5 a	18,1 b	18,0 b, c	17,7 c	17,8 b, c	**
alkohol (vol.%)	11,60 a	11,53 b	11,56 a, b	11,54 b	11,51 b	*
glukoza (g/L)	0,57 a	0,55 a, b	0,54 a, b	0,51 b	0,52 b	*
fruktoza (g/L)	0,41 c	0,54 a	0,54 a	0,51 a, b	0,49 b	***
saharoza (g/L)	0,24 a	0,16 b	0,24 a	0,23 a	0,21 a	*
glicerol (g/L)	6,44 b	6,52 a	6,39 b, c	6,35 c, d	6,32 d	***
SF (mg/L)	114 a	102 b	99 c	94 d	92 d	***
FAN (mg N/L)	4 a	5 a	6 a	5 a	5 a	nz

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Vrednosti kemijskih parametrov petih mladih vinih malvazija letnika 2004, vinificiranih v 28 L fermentacijski prostornini, so prikazane v preglednici 18. Statistična obdelava rezultatov je v 10 od 20 analiziranih parametrov ugotovila statistično zelo visoko značilne razlike. Izmed štirih parametrov kislosti je bila statistično zelo visoko značilna razlika med vini ugotovljena le za pufrno kapaciteto. Vrednosti so bile večje pri koinokulacijah MKB kot inokulacijah in tudi v primeru uporabe starterske kulture MKB2 kot MKB1.

Primerjava vsebnosti skupnega ekstrakta v posameznih vinih je pokazala razlike med vinifikacijami in starterskimi kulturami MKB. Vpliv časa dodatka MKB je bil na vsebnost skupnega ekstrakta v mladih vinih malvazija večji kot vpliv uporabljene starterske kulture MKB. Največ skupnega ekstrakta, 18,5 g/L, smo določili v mladem vinu kontrolne vinifikacije, kjer je sicer stekla spontana MKF. Pri koinokulacijah MKB so bile vsebnosti skupnega ekstrakta večje kot pri inokulacijah.

Vsebnosti alkohola v mladih vinih malvazija so bile zelo primerljive in nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na njegovo vsebnost.

Analize vsebnosti skupnih fenolov v mladih vinih so pokazale značilne razlike med vinifikacijami in starterskimi kulturami MKB. Največja vsebnost skupnih fenolov, 114 mg/L, je bila določena v vzorcu kontrolne vinifikacije. V primerjavi z vsebnostjo skupnih fenolov v moštu (156 mg/L), so bile vsebnosti v mladih vinih povprečno manjše za 36 %. Ugotovili smo vpliv časa dodatka in vrste uporabljenih starterskih kultur MKB na vsebnost skupnih fenolov. Vsebnosti so bile večje pri koinokulacijah MKB in uporabi MKB1 kot inokulacijah MKB in uporabi MKB2.

Vsebnost FAN se je prav tako zmanjšala v mladih vinih v primerjavi z moštom, in sicer iz 66 mg N/L na 4-6 mg N/L. Razlike med vini posameznih vinifikacij so bile neznatne.

Na osnovi kemijskih parametrov mladih vin malvazija letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vrednost pufrne kapacitete ter vsebnost vinske kisline, skupnega ekstrakta, glukoze, fruktoze, glicerola in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vrednost pufrne kapacitete ter vsebnost hlapnih kislin, vinske kisline, glicerola in skupnih fenolov.

**Preglednica 19: Kemijski parametri zorenih vin malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 19: Chemical parameters of aged Malvasia wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	Značilnost
pH	3,61 c	3,66 b	3,67 a	3,67 a	3,65 b	***
TK1 (g/L)	4,24 a, b	4,18 b, c	4,10 c	4,30 a	4,21 b, c	*
TK2 (g/L)	4,54 a	4,39 a, b	4,36 b	4,48 a, b	4,42 a, b	nz
PK (mmol/L na pH)	58,37 b	59,18 a	59,34 a	59,30 a	59,03 a	**
HK (g/L)	0,64 c	0,69 b, c	0,72 a, b	0,73 a, b	0,77 a	**
VK (g/L)	0,89 a	0,86 b	0,80 b	0,90 a	0,87 a	***
JBK (g/L)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	nz
MK (g/L)	4,76 d	4,83 c	4,91 b	4,94 a	4,96 a	***
CK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	58 b, c	60 a	59 a, b	58 c	59 b, c	*
RS (g/L)	0,40 a	0,45 a	0,40 a	0,50 a	0,50 a	nz
SE (g/L)	17,6 a	17,1 b	16,9 b, c	16,5 d	16,6 c, d	***
alkohol (vol.%)	11,53 a	11,45 b	11,44 b	11,46 b	11,43 b	*
glukoza (g/L)	0,51 a	0,48 a, b	0,45 b, c	0,43 c	0,44 b, c	**
fruktoza (g/L)	0,38 c	0,45 a	0,40 b, c	0,45 a	0,42 a, b	***
saharoza (g/L)	0,23 a	0,19 a	0,24 a	0,24 a	0,23 a	nz
glicerol (g/L)	6,34 b	6,42 a	6,32 b, c	6,28 b, c	6,26 c	**
SF (mg/L)	94 a	88 b	83 c	79 d	68 e	***
FAN (mg N/L)	4 a	5 a	5 a	5 a	6 a	nz

Legenda: \*\*\* P<0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P<0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P<0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznatna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

Preglednica 19 prikazuje kemijske parametre petih zorenih vin malvazija letnika 2004. Ugotovili smo statistično neznatne razlike v vsebnostih skupnih kislin, jabolčne, citronske in jantarne kisline, reducirajočih sladkorjev, saharoze in FAN. Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne in citronske kisline, reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, alkohola, glukoze, fruktoze in glicerola so se v

zorenih vinih zmanjšale v primerjavi z mladimi. Povečanje smo opazili pri pH, pufni kapaciteti, hlapnih kislinah in mlečni kislini.

V primeru zorenih vin malvazija se je pokazal vpliv spontane ali vodene MKF. Vpliv časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB smo opazili pri titrabilnih in skupnih kislinah, ne pa pri pH in pufni kapaciteti. Vrednosti pH so bile večje v primeru vodene MKF, gibale so se v intervalu od 3,65 do 3,67, medtem ko je bila vrednost v vzorcu kontrolne vinifikacije s spontanim potekom MKF najnižja (3,61). pH v vinih po zaključeni MKF je bil nad zgornjo mejo 3,50, ki onemogoča rast MKB kvarljivcem.

Primerljive vsebnosti alkohola v vinih vodene MKF so bile v intervalu med 11,43 in 11,46 vol.%, medtem ko je vzorec kontrole vinifikacije vseboval največ alkohola (11,53 vol.%).

Primerjava vsebnosti glukoze in fruktoze v vinih je pokazala v večini vzorcev malo večje vsebnosti glukoze kot fruktoze, kar smo pričakovali glede na zaključene MKF. Vsebnosti glukoze so bile v intervalu med 0,43 in 0,51 g/L, medtem ko so vzorci vsebovali med 0,38 in 0,45 g/L fruktoze.

Vsebnosti glicerola so se v primerjavi z mladimi vini nekoliko zmanjšale. Vpliv časa dodatka in uporabljene starterske kulture na vsebnost glicerola ni bil ugotovljen, so pa med vini obstajale razlike.

V povprečju so se vsebnosti skupnih fenolov v primerjavi z mladimi vini v zorenih vinih zmanjšale za 18 mg/L. Zakonitosti vpliva časa in vrste dodanih MKB na vsebnosti skupnih fenolov, ki so bile v intervalu med 68 in 94 mg/L, so bile enake kot pri mladih vinih sorte malvazija letnika 2004.

Razlik v vsebnosti FAN med mladimi in zorenimi vini malvazija nismo ugotovili, kar smo tudi pričakovali zaradi zelo slabega prehranskega statusa mošta malvazija z dušikovimi spojinami.

Na osnovi kemijskih parametrov zorenih vin malvazija letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost titrabilnih in skupnih kislin, hlapnih kislin, vinske, mlečne in šikimske kisline, skupnega ekstrakta in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost titrabilnih in skupnih kislin, hlapnih kislin, fruktoze in skupnih fenolov.

#### Preglednica 20: Kemijski parametri mladih vin sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini

Table 20: Chemical parameters of young Sauvignon wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	Značilnost
pH	3,20 d	3,29 a	3,27 a	3,22 b	3,22 b	3,19 d	***
TK1 (g/L)	8,13 a	6,57 d	7,30 c	7,52 b	7,58 b	8,22 a	***
TK2 (g/L)	8,33 a	6,88 d	7,58 c	7,91 b	7,78 b	8,46 a	***
PK (mmol/L na pH)	53,67 e	61,17 a	59,55 b	57,81 c	57,35 d	52,88 f	***
HK (g/L)	0,92 a	0,57 b	0,59 b	0,44 c	0,45 c	0,48 c	***
VK (g/L)	1,87 a	1,58 d	1,85 b	1,85 b	1,89 a	1,78 c	***
JBK (g/L)	4,77 b	0,98 f	1,97 e	2,92 c	2,76 d	5,41 a	***
MK (g/L)	1,58 e	4,61 f	3,86 a	3,21 d	3,32 c	0,67 f	***
CK (mg/L)	413 b	125 f	252 e	364 c	332 d	445 a	***
JK (mg/L)	173 b	0 d	0 d	0 d	17 c	355 a	***
ŠK (mg/L)	32 c	38 a	35 b	35 b	35 b	38 a	***
RS (g/L)	0,31 a	0,31 a	0,36 a	0,31 a	0,31 a	0,36 a	nz
SE (g/L)	27,7 b	25,4 c	25,2 c, d	25,0 d	24,9 d	28,5 a	***
alkohol (vol.%)	11,64 a	11,59 b	11,61 a	11,57 b	11,59 b	11,63 a	nz
glukoza (g/L)	1,36 b	1,23 c	1,36 b	1,09 d	1,34 b	1,69 a	***
fruktoza (g/L)	1,07 b	0,64 e	0,80 d	0,83 c	0,81 c, d	1,58 a	***
saharoza (g/L)	0,22 a	0,19 a	0,24 a	0,20 a	0,23 a	0,24 a	nz
glicerol (g/L)	6,81 a	6,79 b	6,85 a	6,84 a	6,80 b	6,74 b	*
SF (mg/L)	164 a	150 b	148 b	137 c	133 d	126 e	***
FAN (mg N/L)	19 d	25 c	23 c	27 b	26 b	41 a	***

Legenda: \*\*\* P≤0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P≤0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P≤0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

Preglednica 20 prikazuje primerjavo vrednosti kemijskih parametrov šestih mladih vin sauvignon letnika 2004 vinificiranih v 28 L fermentacijski prostornini. Statistično zelo visoko značilne razlike smo med šestimi vinifikacijami ugotovili v 18 od 20 parametrov. Primerjava parametrov skupnega ekstrakta, skupnih fenolov ter FAN med mladimi vini in moštom sorte sauvignon je pokazala zmanjšanje vsebnosti v vseh šestih vzorcih.

Statistično zelo visoko značilna razlika je bila ugotovljena med vsemi štirimi parametri kislosti predvsem zaradi nedokončane MKF. Za vzorce vodene MKF so bile značilne večje vrednosti pH in pufrne kapacitete v primerjavi z vzorci vinifikacij KON in PS. Zaradi nedokočane MKF smo v vzorcih koinokulacij MKB določili večje vrednosti pH in pufrne kapacitete kot v vzorcih inokulacij MKB po AF. Mlada vina sorte sauvignon so vsebovala več skupnega ekstrakta v primerjavi z mladimi vini iz Kopskega vinorodnega okoliša. Vsebnosti so bile v intervalu med 24,9 in 28,5 g/L. Mlada vina vodene MKF so imela manj skupnega ekstrakta kot vina ostalih dveh vinifikacij. Vpliv dodane starterske kulture MKB je bil skoraj zanemarljiv.

Glede na večje vsebnosti skupnih fenolov v moštu sauvignon v primerjavi s chardonnayem in malvazijo, so tudi mlada vina sauvignon vsebovala več skupnih fenolov, čeprav se je vsebnost v primerjavi z mošči v povprečju skoraj prepopolnila. Ugotovili smo vpliv časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost skupnih fenolov. Vpliv je bil enak kot v mladih vin chardonnay in malvazija.

Mlada vina sorte sauvignon so vsebovala izmed vseh obravnavanih sort največ FAN. Toda pri sauvignonu smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB. Vina, koinokulirana z MKB, so vsebovala manj FAN kot vina, kjer smo MKB inokulirali po končani AF. Vino SP vinifikacije, kjer se spotnana MKF ni začela, je vsebovalo največ FAN. Razlike v vsebnostih FAN v mladih vinih sauvignon lahko pripišemo nedokončanju vodene MKF oz. nepoteku spontane MKF.

Na osnovi kemijskih parametrov mladih vin sauvignon letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vrednost pH in pufrne kapacitete, vsebnost hlapnih kislin, jabolčne, mlečne in citronske kisline, skupnega ekstrakta, fruktoze, skupnih fenolov in FAN. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vrednost pufrne kapacitete, vsebnost vinske kisline, glukoze in skupnih fenolov. Razlog vpliva časa dodatka na več kemijskih parametrov mladih vin sauvignon lahko pripišem nedokončani vodeni MKF tako v primerih koinokulacije MKB kot inokulacije.

V preglednici 21 so prikazane vrednosti kemijskih parametrov šestih zorenih vin sauvignon letnika 2004. Statistična analiza je zorenih vinih pokazala statistično neznailne razlike v štirih parametrih: jantarni kislini, reducirajočih sladkorjih, saharozi in glicerolu. Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne, citronske in jantarne kisline, reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, alkohola, glukoze, fruktoze in glicerola so se zmanjšale pri vseh zorenih vinih sauvignon v primerjavi z mladimi vini. Povečanje vrednosti v vzorcih po zorenju v primerjavi z mladimi vini smo opazili pri vrednostih pH, pufni kapaciteti ter vsebnostih hlapnih kislin in mlečni kisline.

V času dvomesečnega zorenja se je MKF kljub pretoku, žveplanju in znižanju temperature na 8°C nadaljevala. Tako so se v zorenih vinih primerjavi z mladimi spremenile vrednosti kislinskih parametrov in določenih organskih kislin. V primerih vodene MKF je prišlo do popolne razgradnje jabolčne in jantarne kisline ter pri koinokulacijah MKB tudi citronske kisline. Pri ostalih dveh vinifikacijah (KON, PS) sauvignona med zorenjem vina se spontana MKF ni zaključila, vendar je bila v primeru kontrolne vinifikacije v prednosti pred PS vinifikacijo. Seveda se je v vinih po zorenju posledično povečala vsebnost mlečne kisline. Najmanjše vsebnosti mlečne kisline, 2,55 g/L smo določili v vzorcu, kjer smo uporabili dodatno prehransko sredstvo. Seveda smo v tem primeru določili najnižjo vrednost pH in pufrne kapacitete ter največjo vsebnost titrabilnih in skupnih kislin. Primerjava vsebnosti mlečne kisline je pokazala vpliv časa dodatka in uporabe starterske kulture MKB, čeprav je MKF potekala z določenimi motnjami. Vsebnosti omenjene kisline so bile večje pri koinokulaciji MKB in z uporabo MKB2.

**Preglednica 21: Kemijski parametri zorenih vin sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 21: Chemical parameters of aged Sauvignon wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	Značilnost
pH	3,34 b	3,38 a	3,37 a	3,37 a	3,38 a	3,27 c	***
TK1 (g/L)	7,15 a	6,01 d	6,51 c	6,69 b	6,75 b	7,19 a	***
TK2 (g/L)	7,66 a	6,39 d	7,05 c	7,29 b	7,16 b, c	7,76 a	***
PK (mmol/L na pH)	58,12 c	61,81 a	60,75 b	60,69 b	60,78 b	56,67 d	***
HK (g/L)	0,96 a	0,63 d	0,65 c, d	0,69 b, c	0,73 b	0,55 e	***
VK (g/L)	1,73 b	1,63 c	1,72 b	1,80 a	1,81 a	1,73 b	***
JBK (g/L)	2,35 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	2,72 a	***
MK (g/L)	3,29 e	5,09 b	5,13 a	4,92 d	5,03 c	2,55 f	***
CK (mg/L)	179 b	0 e	0 e	51 c	47 d	284 a	***
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	35 c	36 b	35 c	37 a	37 a	36 b	***
RS (g/L)	0,35 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,28 a	0,30 a	nz
SE (g/L)	25,6 b	23,6 c	23,3 c, d	23,1 d	23,1 d	26,5 a	***
alkohol (vol.%)	11,59 <sup>b</sup>	11,55 b	11,68 a	11,54 b	11,56 b	11,59 b	**
glukoza (g/L)	0,74 a	0,62 b	0,60 b, c	0,57 c	0,58 c	0,72 a	***
fruktoza (g/L)	0,47 b	0,41 c	0,45 b	0,39 c	0,39 c	0,52 a	***
saharozna (g/L)	0,19 a	0,19 a	0,22 a	0,22 a	0,22 a	0,20 a	nz
glicerol (g/L)	6,76 a	6,73 a	6,74 a	6,72 a	6,70 a	6,69 a	nz
SF (mg/L)	138 a	126 b	129 c	116 d	110 e	106 f	***
FAN (mg N/L)	23 c	26 b, c	25 b, c	25 b, c	28 b	39 a	***

Legenda: \*\*\* P<0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P<0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P<0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

Vsebnosti hlapnih kislin v zorenih vinih pri zaključenih vodenih MKF so bile pričakovane. Presenetila nas je povečana vsebnost v primeru kontrolne vinifikacije (0,96 g/L), kjer je potekla spontana MKF. Povečano vsebnost v tem vzorcu lahko pripišemo okužbi z oetnokislinskimi bakterijami.

Manjša količina reducirajočih sladkorjev v zorenih vinih sauvignon v primerjavi z vini malvazija je bila verjetno posledica motenega poteka MKF.

Primerjava vsebnosti skupnega ekstrakta v vinih sauvignon po zorenju je pokazala večji vpliv časa dodatka, ne pa tudi uporabljene starterske kulture MKB. Večje vsebnosti skupnega ekstrakta smo določili pri koinokulacijah MKB. Vsebnosti so bile pri ostalih vinifikacijah KON in PS večje v primerjavi z vzorci vodenih MKF. Na osnovi zakonskih omejitev glede vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta bi zorena vina sauvignon lahko uvrstili v vrhunski razred, saj so bile vsebnosti večje od 20 g/L. Vsebnosti so bile veliko večje kot v vinih chardonnay in malvazija.

Vsebnosti alkohola so se v zorenih vinih sauvignon gibale od 11,54 do 11,68 vol.%. Na vsebnost alkohola vinifikacija ni vplivala.

Vsebnosti glukoze in fruktoze v obravnavanih vinih sauvignon so bile odvisne od vinifikacije. Vsebnosti obeh heksoz so bile večje v primerih spontanih MKF (KON in PS). Vsebnosti glukoze, so bile največje v primeru kontrolne vinifikacije, medtem ko smo pri tej vinifikaciji določili najmanjšo vsebnost fruktoze. Vina, kjer smo izvedli koinokulacijo MKB, so vsebovala več glukoze.

Vpliv vinifikacije je bil statistično neznačilen tako za vsebnosti saharoze kot za glicerola. Vina so vsebovala med 6,69 in 6,76 g/L glicerola, kar pomeni, da bi jih lahko uvrstili v razred vrhunskih vin.

Primerjava mladih in zorenih vin sauvignon je pokazala zmanjšanje vsebnosti skupnih fenolov v povprečju za 39 mg/L. Njihove vsebnosti, ki so bile v intervalu od 106 do 138 mg/L, so bile odvisne od časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB, enako kot pri vinih chardonnay in malvazija.

Vsebnosti FAN so se malo spremenile v zorenih vinih v primerjavi z mladimi. Vsebnosti v primerih vodenih MKF niso odražale vpliva časa dodatka ali uporabljenih starterskih kultur MKB.

Na osnovi kemijskih parametrov zorenih vin sauvignon letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost titrabilnih in skupnih kislin, hlapnih kislin, mlečne kisline, skupnega ekstrakta, glukoze in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost hlapnih kislin in skupnih fenolov.

**Preglednica 22: Kemijski parametri mladih vin laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 22: Chemical parameters of young Welsh Riesling wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	Značilnost
pH	3,43 a	3,44 a	3,45 a	3,44 a	3,44 a	3,45 a	nz
TK1 (g/L)	6,26 b	6,24 b	6,31 b	6,23 b	6,29 b	6,66 a	***
TK2 (g/L)	6,54 b	6,58 b	6,57 b	6,48 b	6,57 b	7,12 a	***
PK (mmol/L na pH)	49,04 b	49,33 a, b	48,34 c	49,47 a	48,62 c	43,69 d	***
HK (g/L)	2,04 a	0,75 c	0,52 e	0,56 d, e	0,59 d	0,81 b	***
VK (g/L)	1,30 a	1,18 c	1,15 d	1,11 e	1,24 b	1,14 d, e	***
JBK (g/L)	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,58 a	***
MK (g/L)	5,18 d	5,29 a, b	5,31 a	5,28 b, c	5,25 c	4,71 e	***
CK (mg/L)	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	508 a	***
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	30 b, c	29 c	31 a	29 c	29 c	31 a	***
RS (g/L)	0,26 a	0,41 a	0,28 a	0,28 a	0,26 a	0,31 a	nz
SE (g/L)	19,3 b	18,7 c	18,5 c	18,1 d	18,0 d	19,9 a	***
alkohol (vol.%)	11,63 a	11,56 b, c	11,57 b, c	11,55 c	11,56 b, c	11,61 a, b	*
glukoza (g/L)	0,74 d	0,71 d	0,74 d	1,07 a	0,98 b	0,89 c	***
fruktoza (g/L)	0,78 c	0,79 c	0,85 b	0,74 d	0,70 e	1,85 a	***
saharoza (g/L)	0,63 a	0,57 b	0,68 a	0,64 a	0,65 a	0,55 b	***
glicerol (g/L)	6,55 c	6,47 d	6,58 b, c	6,63 a, b	6,69 a	6,20 e	***
SF (mg/L)	214 a	195 c	189 d	179 e	174 f	203 b	***
FAN (mg N/L)	14 d	20 b, c	18 c	21 b	22 b	38 a	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Preglednica 22 prikazuje rezultate kemijskih analiz šestih mladih vin laški rizling letnika 2004 iz vinifikacijskega poskusa v 28 L fermentacijski prostornini. Statistično zelo visoko značilne so bile ugotovljene v 18 od 20 parametrov. Jabolčna kislina se ni popolnoma porabila v opazovanem obdobju le v vzorcu vinificiranim z dodatnim prehranskih sredstvom.

Izmed štirih parametrov kislosti je bila neznačilna razlika med šestimi mladimi vini ugotovljena le za vrednosti pH, ki so se nahajala v intervalu med 3,43 in 3,45 enote. Statistično zelo visoko značilne razlike v vsebnostih titrabilnih in skupnih kislin ter vrednostih pufrne kapacitete niso odražale vpliva časa dodatka in uporabljenih starterskih kultur MKB. Vrednosti pufrne kapacitete mladih vin laškega rizlinga so bile v primerjavi z mladimi vini preostalih treh sort najmanjše.

V mladih vinih laškega rizlinga smo določili najnižje vsebnosti reducirajočih sladkorjev izmed vseh obravnavanih mladih vin letnika 2004 iz vinifikacijskega poskusa v 28 L fermentacijski prostornini. Vsebnosti, ki so zajemale interval od 0,26 do 0,41 g/L, niso odražale vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB.

Vpliv nezorelosti in zdravstveno ne najbolj primerne stanja grozdja se je pokazal tudi na vsebnostih skupnega ekstrakta. Vsebnosti so se nahajale med 18,0 in 19,9 g/L. Opazili smo vpliv časa dodatka MKB, saj so bile vsebnosti večje pri koinokulacijah MKB. Največje vsebnosti skupnega ekstrakta smo določili pri kontrolni vinifikaciji in vinifikaciji PS, kjer je potekla spontana MKF.

Vsebnosti skupnih fenolov so se v primerjavi z moštom zmanjšale tako kot pri ostalih treh sortah vin. Prav tako kot pri ostalih treh sortah smo tudi pri laškem rizlingu ugotovili vpliv časa in uporabljene



starterske kulture MKB na vsebnost skupnih fenolov. Vsebnosti so bile večje v primeru spontanih kot vodenih MKF, koinokulacijah MKB in uporabi MKB1.

Primerjava vsebnosti FAN v mladih vinih laškega rizlinga je pokazala vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB in vpliv vodene oz. spontane MKF. Vsebnosti FAN v mladih vinih so se v primerjavi z mošči seveda pričakovano zmanjšale.

Na osnovi kemijskih parametrov mladih vin laški rizling letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost mlečne kisline, skupnega ekstrakta, glukoze, fruktoze, skupnih fenolov in FAN. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vrednost pufrne kapacitete in vsebnost skupnih fenolov.

**Preglednica 23: Kemijski parametri zorenih vin laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 23: Chemical parameters of aged Welsh Riesling wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	Značilnost
pH	3,45 a	3,46 a	3,45 a	3,46 a	3,46 a	3,46 a	nz
TK1 (g/L)	5,73 b	5,68 b	5,77 b	5,72 b	5,70 b	6,12 a	***
TK2 (g/L)	6,13 b	6,19 b	6,14 b	6,17 b	6,19 b	6,63 a	***
PK (mmol/L na pH)	49,35 a	49,47 a	49,31 a	49,49 a	49,45 a	49,48 a	nz
HK (g/L)	2,24 a	0,80 c	0,60 e	0,62 e	0,66 d	0,90 b	***
VK (g/L)	1,23 a	1,20 b	1,12 d, e	1,16 c	1,14 c, d	1,10 e	***
JBK (g/L)	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	nz
MK (g/L)	5,25 c	5,31 a	5,21 d	5,27 b, c	5,29 b	5,17 e	***
CK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	29 c	31 a	30 b	29 c	30 b	31a	**
RS (g/L)	0,30 a	0,35 a	0,30 a	0,25 a	0,25 a	0,25 a	nz
SE (g/L)	18,1 b	17,6 c	17,5 c	17,0 d	16,8 d	18,6 a	***
alkohol (vol.%)	11,55 a	11,50 c	11,52 b, c	11,51 c	11,53 b	11,56 a	*
glukoza (g/L)	0,57 c	0,51 d	0,47 e	0,53 d	0,60 b	0,65 a	***
fruktoza (g/L)	0,43 a	0,42 a	0,42 a	0,41 b	0,39 c	0,36 d	**
saharoza (g/L)	0,60 a, b	0,57 b	0,63 a	0,62 a, b	0,61 a, b	0,65 a	nz
glicerol (g/L)	6,43 b	6,40 b	6,54 a	6,55 a	6,58 a	6,13 c	***
SF (mg/L)	183 a	166 c	161 d	154 e	152 e	175 b	***
FAN (mg N/L)	15 d	19 c	20 c	23 b	21 b, c	35 a	***

Legenda: \*\*\* P<0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P<0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P<0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

Vrednosti kemijskih parametrov šestih zorenih vin laški rizling letnika 2004 prikazuje preglednica 23. Statistično neznačilne razlike smo ugotovili v sedmih parametrih: vrednostih pH in pufrne kapacitete ter vsebnostih jabolčne, citronske in jantarne kisline, reducirajočih sladkorjev in saharoze. V primerjavi z mladimi vini je statistično zelo visoko značilna razlika med šestimi vinifikacijami obstajala v 12 od 20 analiziranih parametrov, manj kot pri mladih vinih.

Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne, citronske in jantarne kisline, reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, alkohola, glukoze, fruktoze in glicerola so se v zorenih vinih zmanjšale v primerjavi z mladimi. Po dvomesečnem zorenju smo opazili povečanje vrednosti pH in pufrne kapacitete ter vsebnosti hlapnih kislin in mlečne kisline.

Vodena ali spontana MKF je popolnoma potekla v vseh šestih vinifikacijah v opazovanem obdobju 50 dni, zato primerjava vrednosti pH in pufrne kapacitete ni pokazala razlik. Vrednosti pH v vinih laški rizling po dvomesečnem zorenju so bile od 3,45 do 3,46. Primerjava vrednosti pufrne kapacitete med vini vseh obravnavanih sort je pokazala najmanjše vrednosti pri sorti laški rizling. Vrednosti so zajemale ozek interval med 49,31 in 49,49 mmol/L na pH, vendar so bile kljub temu velike. Vsebnosti

hlapnih kislin so se v vzorcih vodene in spontane MKF povečale. Vsebnosti v vzorcu kontrolne vinifikacije so bile zelo povečana iz razlogov, ki smo jih navedli že v poglavju 4.1.2.3. V primerih vodene MKF so se vsebnosti gibale med 0,60 in 0,80 g/L, kar smo pričakovali glede na stanje grozdja laškega rizlinga. V primerih vodenih MKF nismo opazili vpliva časa dodatka ali uporabljenih starterskih kultur MKB na vsebnost hlapnih kislin zaradi prisotnosti oacetnokislinskih bakterij.

Vodene MKF in spontana MKF v kontrolnem vzorcu so bile zaključene že v mladih vinih. V primeru vinifikacije PS je spontana MKF potekla do konca v času zorenja, zato so se spremenile vsebnosti jabolčne, mlečne in citronske kisline. Od vseh obravnavanih sort smo v vinih laškega rizlinga letnika 2004 po zorenju določili največje vsebnosti mlečne kisline, saj je tudi mošt vseboval največ jabolčne kisline (preglednica 15). Vsebnosti mlečne kisline v vzorcih so bile od 5,17 do 5,31 g/L. Zaradi zaključenih vodenih MKF nismo opazili vpliva časa dodatka ali uporabljene vrste starterske kulture MKB na vsebnost mlečne kisline. V primerjavi s spontano MKF so vzorci vodenih MKF vsebovali več mlečne kisline.

Vsebnosti reducirajočih sladkorjev, ki so zajemale interval od 0,25 do 0,35 g/L, so bile kakor v primerih vin sauvignon med najnižjimi izmed obravnavanih štirih sort. Tudi v tem primeru nismo ugotovili vpliva časa ali uporabljene starterske kulture MKB na njihovo vsebnost.

Pričakovano so se vsebnosti skupnega ekstrakta v vseh primerih vinifikacij med dvomesečnim zorenjem vin zmanjšale, v povprečju za 1,2 g/L. Utemeljitev vsebnosti, ki so se nahajale v dokaj širokem intervalu med 16,8 in 18,6 g/L, je enaka kot pri mladih vinih sorte laški rizling. Ugotovili smo vpliv časa dodatka starterske kulture MKB. Pri koinokulacijah MKB so bile vsebnosti skupnega ekstrakta večje kot pri inokulacijah MKB. Še vedno pa so bile manjše kot v vinifikacij, kjer je potekla spontana MKF (KON, PS).

Vpliv časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB vsebnost heksoz v vinih laškega rizlinga nismo ugotovili. To lahko pripišemo tudi zelo intezivni in kratkotrajni AF, kar smo dokazali s spremljanjem vsebnosti sladkorjev (priloga A10) in količine oddanega CO<sub>2</sub> (priloga A11, A12). Ugotovili smo vpliv MKF, razmerje med glukozo in fruktozo je bilo v vseh vzorcih v prid prvi, saj so bile tako vodene kot spontane MKF zaključene že v mladih vinih.

Vsebnosti saharoze so bile v vinih laškega rizlinga največje med vsemi štirimi sortami letnika 2004, saj jo je že mošt te sorte vseboval največ. Vsebnosti so se gibale od 0,57 do 0,65 g/L in vinifikacija nanje ni imela vpliva.

Vsebnosti glicerola v posameznih vzorcih so se statistično razlikovale, vendar vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB nismo ugotovili. Najmanjšo vsebnost glicerola smo ugotovili pri vinifikaciji PS. Glede na zahteve zakonodaje o vsebnosti glicerola bi lahko zorena vina laškega rizlinga uvrstili v vrhunski razred, saj so ga vsebovala med 6,13 in 6,58 g/L.

Vsebnosti skupnih fenolov, ki smo jih določili v posameznih vzorcih vin laški rizling po zorenju so bile med največjimi izmed vseh štirih obravnavanih sort letnika 2004. Obsegale so interval od 152 do 183 g/L. Kot pri ostalih treh sortah smo tudi pri laškem rizlingu ugotovili vpliv vinifikacije na vsebnost skupnih fenolov, torej vpliv vodene oz. spontane MKF ter vpliv časa dodatka MKB. Vsebnosti so bile večje pri spontani kot vodenih MKF ter koinokulacijah kot inokulacijah MKB.

Iz vsebnosti FAN, ki so se gibale v intervalu med 15 in 35 mg N/L smo ugotovili vpliv vinifikacije. Največjo vsebnost FAN smo določili v vzorcu, ki je bil vinificiran z dodatnim prehranskim sredstvom, najmanjšo pa v kontrolnem vzorcu. V primerih vodenih MKF so bile vsebnosti večje pri inokulacijah MKB kot koinokulacijah.

Na osnovi kemijskih parametrov zorenih vin laški rizling letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost skupnega ekstrakta, skupnih fenolov in FAN. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala le na vsebnost vinske kisline.

#### 4.1.2.6 Hlapne spojine v mladih in zorenih vinih

V alkoholnih destilatih vzorcev mladih in zorenih vin iz vinifikacijskega poskusa letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini smo določili vsebnosti hlapnih spojin (preglednice 24-31). V vinih po zorenju smo glede na sorto določili naslednje povprečne vsebnosti posameznih spojin:

- izoamil alkohol; največ pri chardonnayu (211 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (179 mg/L),
- 1-propanol; največ pri laškem rizlingu (41 mg/L) in najmanj pri malvaziji (25 mg/L),
- izobutanol; največ pri laškem rizlingu (51 mg/L) in najmanj pri malvaziji (18 mg/L),
- 2-fenil etanol; največ pri chardonnayu (29 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (20 mg/L),
- metanol; največ pri malvaziji (66 mg/L) in najmanj pri sauvignonu (30 mg/L),
- etil laktat; največ pri chardonnayu (17 mg/L) in najmanj pri malvaziji (5 mg/L),
- izoamil acetat; največ pri sauvignonu (1,0 mg/L) in najmanj pri chardonnayu (0,8 mg/L),
- etil acetat; največ pri sauvignonu (36 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (18 mg/L),
- acetaldehid; največ pri chardonnayu (84 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (63 mg/L),
- diacetil; največ pri malvaziji (2,1 mg/L) in najmanj pri chardonnayu (1,1 mg/L),
- acetoin; največ pri chardonnayu (7,2 mg/L) in najmanj pri malvaziji (6,7 mg/L).

Vsebnosti metil laktata in 2-fenil etilacetata smo glede na sorto določili le izjemoma v vzorcih posameznih vinifikacij. Zanimivo je, da so zorena vina sort chardonnay in malvazija v povprečju vsebovala zelo primerljive vsebnosti izoamil alkohola, 2-fenil etanola in metanola, po drugi strani pa so bile vsebnosti izoamil alkohola in 2-fenil etanola primerljive pri sortah sauvignon in laški rizling. Na razlike v vsebnostih višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin v vinih ni vplivala le vinifikacija, temveč tudi inokulum MKB, sorta in pridelovalno območje, saj se je razlikovala že kemijska sestava moštov.

Preglednici 24 in 25 prikazujeta vsebnosti hlapnih spojin v petih mladih in zorenih vinih chardonnay letnika 2004. Vse vodene MKF so bile zaključene v mladih vinih. Statistično zelo visoko značilne razlike smo v mladih in zorenih vinih ugotovili v 11 od 13 parametrov. Med zorenjem vin so se v vseh primerih vinifikacij zmanjšale vsebnosti treh višjih alkoholov (izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola) in izoamil acetata. Opazili smo povečanje vsebnosti 2-fenil etanola, metil laktata, in acetaldehida. Vsebnosti metanola, etil laktata, etil acetata, diacetila in acetoina so se povečale ali zmanjšale odvisno od vinifikacije. Spremembe vsebnosti posameznih parametrov so bile posledica poteka kemijskih reakcij povezanih z MKF in zorenjem vina.

V vzorcu chardonnay kontrolne vinifikacije po zorenju smo v primerjavi z vzorci vodenih vinifikacij določili največje vsebnosti metil laktata, izoamil acetata in etil acetata. Med opazovanjem vpliva vodene MKF smo v vinih chardonnay po zorenju ugotovili vpliv časa dodatka MKB ne pa tudi vrste MKB na vsebnosti izoamil alkohola, 1-propanola, 2-fenil etanola, etil laktata, metanola, izoamil acetat, diacetila in acetoina. V primerih inokulacije MKB smo določili večje vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola, 2-fenil etanola in metanola kot pri koinokulacijah MKB. Pri inokulacijah kot koinokulacijah MKB smo ugotovili manjše vsebnosti 1-propanola, etil laktata in izoamil acetata. Samo pri vsebnosti etil acetata in acetaldehida, senzorično pomembnih produktih MKF, smo ugotovili vpliv uporabljenih starterskih kultur MKB. Večje vsebnosti etil acetata so bile značilne za uporabo MKB1, medtem ko so bile vsebnosti acetaldehida večje v primerih uporabe MKB2. Glede vsebnosti je med vsemi spojinami v vinih pred in po zorenju prevladoval izoamil alkohol. Vsebnosti diacetila, najpomembnejše aromatične spojine MKF, so bile v vinih po zorenju v intervalu od 0,4 do 2,1 mg/L. Vsebnosti etil laktata, značilnega estra MKF, so se nahajale med 10,1 in 25,7 mg/L.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v mladih vinih chardonnay letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola, 2-fenil etanola, metanola in etil laktata. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost etil laktata, acetaldehida in diacetila.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v zorenih vinih chardonnay letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola, 2-fenil

etanola, metanola, etil laktata, izoamil acetata, acetaldehida in diacetila. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost izoamil alkohola, etil acetata in acetaldehida.

Vsebnosti hlapnih spojin v petih vinih malvazija letnika 2004 pred in po zorenju so prikazane v preglednicah 26 in 27. Tako vodene MKF kot spontana MKF so bile zaključene že v mladih vinih. Statistično zelo visoko značilno razliko smo v mladih vinih določili v 9 od 13 parametrov ter v zorenih vinih v 10. Večje vsebnosti 2-fenil etanola, etil acetata, acetaldehida in diacetila smo določili v vinih po zorenju kot v mladih vinih. Vsebnosti izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola, metanola, etil laktata, izoamil acetata in acetoina so se v zorenih vinih povečale ali zmanjšale, odvisno od vinifikacije. Spremembe vsebnosti hlapnih spojin so bile posledica kemijskih reakcij povezanih tako z MKF kot zorenjem vina. Primerjava posameznih spojin v zorenih vinih sort malvazija in chardonnay je pokazala v malvazijah manjše vsebnosti 1-propanola, izobutanola in etil laktata, medtem ko so bile vsebnosti diacetila večje, čeprav je mošt malvazija vseboval manj citronske kisline v primerjavi z moštom chardonnay.

Vzorec malvazije kontrolne vinifikacije po zorenju je izstopal v primerjavi z ostalimi vzorci vodenih MKF po največjih vsebnostih metil laktata, izoamil in etil acetata. Statistična primerjava vsebnosti hlapnih spojin je v primerih vodenih MKF pokazala vpliv časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB v večini parametrov. Tako smo določili večje vsebnosti izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola, etil laktata in etil acetata v primerih dodatka MKB1 kot MKB2. Večje vsebnosti acetaldehida smo določili pri koinokulacijah MKB, medtem ko so bile vsebnosti diacetila v teh primerih manjše. Vzorci vin malvazija so po zorenju vsebovali od 1,5 do 2,8 mg/L diacetila in od 2,2, do 8,7 mg/L etil laktata.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v mladih vinih malvazija letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost etil laktata, diacetila in acetoina. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost izoamil alkohola, etil acetata in acetaldehida.

Na osnovi hlapnih spojin v zorenih vinih malvazija letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost 2-fenil etanola, acetaldehida in diacetila. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola in etil laktata.

Preglednici 28 in 29 prikazujeta vsebnosti hlapnih spojin v šestih vinih sauvignon letnika 2004 pred in po zorenju. Pri poteku vodenih in spontanih MKF v vinih sauvignon je prišlo do manjših motenj zaradi zelo nekoliko neugodnih razmer MKF (nizek pH mošta). V mladih vinih smo ugotovili statistično zelo visoko značilno razliko v 12 od 13 parametrov, v zorenih vinih pa v 11 parametrih. Vzorec vina po zorenju kontrolne vinifikacije je izstopal po največji vsebnosti 1-propanola in etil acetata, medtem ko smo v vzorcu vinifikacije PS določili največje vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola, 2-fenil etanola, metanola in metil laktata.

V zorenih vinih sauvignon, kjer so potekle vodene MKF, smo ugotovili vpliv časa dodatka MKB na vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola, 2-fenil etanola, etil laktata, etil acetata, acetaldehida in diacetila. Vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola, 2-fenil etanola, etil laktata, diacetila in acetoina so bile večje pri koinokulacijah MKB kot inokulacijah. Vsebnosti etil acetata in acetaldehida so bile večje pri inokulacijah MKB, medtem ko smo pri uporabi MKB2 določili več acetaldehida kot pri MKB1. Na osnovi vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola, 2-fenil etanola, acetaldehida, diacetila in acetoina smo ugotovili vpliv uporabljene starterske kulture MKB. Tako smo določili večje vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola, 2-fenil etanola in diacetila v primerih uporabe MKB1, medtem ko so bile vsebnosti acetaldehida in acetoina večje pri dodatku MKB2. Ponovno je med analiziranimi spojinami prevladoval izoamil alkohol. Vsebnosti diacetila v zorenih vinih so bile v intervalu med 0,3 in 3,4 mg/L, medtem ko so vzorci vsebovali med 2,3 in 23,2 mg/L etil laktata. Vsebnosti etil laktata so bile pri koinokulacijah MKB veliko večje kot v preostalih vinih sauvignon.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v mladih vinih sauvignon letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost izoamil alkohola, etil laktata, acetaldehida in diacetila.

Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola, metanola, etil laktata, acetaldehida in diacetila.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v zorenih vinih sauvignon letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost izoamil alkohola, etil laktata, diacetila in acetoina. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost izoamil alkohola, izobutanola, izoamil acetata in acetaldehida.

**Preglednica 24: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 24: Content of volatile compounds in young Chardonnay wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	Značilnost
izoamil alkohol	202,0 c	182,9 e	189,4 d	233,6 a	229,3 b	***
1-propanol	34,4 a	31,0 c	33,6 b	30,2 d	29,7 d	***
izobutanol	23,0 c	19,8 e	22,2 d	26,9 a	25,8 b	***
2-fenil etanol	21,1 c	18,9 d	20,0 c, d	28,7 a	26,8 b	***
metanol	65,0 a	57,4 d	60,8 c	65,3 a	63,6 b	***
etil laktat	7,2 c	6,6 d	2,7 e	9,3 a	8,0 b	***
metil laktat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
izoamil acetat	1,6 a	0,6 b	1,3 a	0,6 b	0,1 c	***
etil acetat	24,8 b	12,3 e	30,0 a	20,1 c	13,2 d	***
acetaldehid	18,1 d	28,5 b, c	34,2 a	27,6 c	29,9 b	***
2-fenil etilacetat	0,5 a	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	***
diacetil	3,4 a	1,2 c	0,4 d	2,0 b	0,5 d	***
acetoin	7,4 a	6,5 b	6,9 a, b	6,0 b	6,3 b	*

Legenda: \*\*\* P≤0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P≤0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P≤0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

**Preglednica 25: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 25: Content of volatile compounds in aged Chardonnay wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	Značilnost
izoamil alkohol	196,9 c	197,2 c	191,3 d	236,9 a	231,1 b	***
1-propanol	33,0 b	33,3 a, b	33,8 a	31,3 c	31,7 c	***
izobutanol	22,3 c	21,7 c	22,3 c	27,1 a	26,2 b	***
2-fenil etanol	22,1 d	25,9 c	24,7 c	33,5 b	38,7 a	***
metanol	63,6 c	62,8 d	61,7 e	65,9 b	66,7 a	***
etil laktat	13,0 b	24,0 a	25,7 a	10,1 d	10,8 c	***
metil laktat	6,3 a	5,8 b	0,0 c	0,0 c	0,0 c	***
izoamil acetat	1,3 a	1,0 a	1,1 a	0,4 b	0,2 c	***
etil acetat	35,4 a	32,6 c	22,9 e	35,2 b	25,6 d	***
acetaldehid	76,0 e	79,7 d	85,3 c	87,2 b	89,3 a	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
diacetil	0,5 b	0,4 b	0,6 b	1,9 a	2,1 a	***
acetoin	6,9 a, b	6,2 b	7,3 a	7,8 a	7,5 a	*

Legenda: \*\*\* P≤0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P≤0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P≤0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

**Preglednica 26: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 26: Content of volatile compounds in young Malvasia wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	Značilnost
izoamil alkohol	207,7 b	227,0 a	205,1 d	206,9 c	204,6 d	***
1-propanol	25,0 b	25,9 a	24,1 c	24,1 c	24,5 b, c	***
izobutanol	17,6 b	19,7 a	17,0 b	17,1 b	17,2 b	***
2-fenil etanol	19,5 c	22,8 a, b	23,7 a	22,4 a, b	22,1 b	***
metanol	64,7 c	66,3 a, b	62,8 d	66,0 b	66,5 a	***
etil laktat	6,2 c	6,8 b	6,5 b	7,0 a, b	7,3 a	***
metil laktat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
izoamil acetat	0,6 b	1,1 a	0,7 b	0,9 a, b	0,8 a, b	nz
etil acetat	16,0 d	26,9 a	15,6 e	24,1 b	21,0 c	***
acetaldehid	41,5 d	49,1 c	53,2 b	48,8 c	55,1 a	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
diacetil	1,7 a	0,5 b	0,6 b	1,9 a	1,8 a	***
acetoin	6,2 b	6,0 b	6,2 b	7,3 a	7,0 a, b	nz

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 27: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 27: Content of volatile compounds in aged Malvasia wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	Značilnost
izoamil alkohol	214,6 b	223,1 a	208,9 c	209,3 c	192,4 d	***
1-propanol	25,7 a	25,5 a, b	25,1 b	25,4 a, b	23,3 b	***
izobutanol	18,1 b	19,6 a	17,7 b	17,8 b	16,2 c	***
2-fenil etanol	26,0 c	28,5 a, b	29,5 a	27,7 b	23,3 d	***
metanol	65,0 c	65,8 b	65,9 b	68,0 a	63,3 d	***
etil laktat	2,2 d	4,7 c	2,5 d	8,7 a	6,5 b	***
metil laktat	8,6 a	0,0 c	6,9 b	0,0 c	0,0 c	***
izoamil acetat	1,1 a	1,0 a	0,9 a	0,8 a	0,8 a	*
etil acetat	31,0 a	26,4 c	27,1 b	30,8 a	22,2 d	***
acetaldehid	77,6 b	83,9 a	85,3 a	75,0 c	78,7 b	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
diacetil	1,8 b	1,6 b	1,5 b	2,6 a	2,8 a	***
acetoin	6,0 b	7,3 a	6,2 b	7,0 a, b	6,8 a, b	nz

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 28: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 28: Content of volatile compounds in young Sauvignon wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	Značilnost
izoamil alkohol	199,1 c	249,1 a	172,0 e	194,3 d	170,5 f	242,4 b	***
1-propanol	37,2 a	36,4 b	32,4 d	36,6 b	32,3 d	33,9 c	***
izobutanol	26,3 c	33,8 a	22,4 d	25,9 c	22,1 d	30,3 b	***
2-fenil etanol	15,2 b, c	24,8 a	14,8 b, c	13,9 c	15,6 b	25,3 a	***
metanol	32,5 a	31,8 b	29,0 e	30,1 d	29,2 e	31,4 c	***
etil laktat	2,9 f	25,3 a	9,7 c	16,5 b	6,3 d	3,3 e	***
metil laktat	4,5 b	0,0 c	4,8 a	0,0 c	0,0 c	0,0 c	***
izoamil acetat	2,7 a	1,6 c	2,5 a	2,1 b	0,1 d	1,4 c	***
etil acetat	38,3 a	29,4 d	32,9 c	35,8 b	19,4 f	24,4 e	***
acetaldehid	44,3 d	51,6 a	49,2 b	46,5 c	43,8 d	49,4 b	***
2-fenil etilacetat	0,0 b	0,0 b	0,0 b	1,8 a	0,0 b	0,0 b	***
diacetil	2,4 b	3,5 a	2,1 b	1,7 c	1,3 c	0,7 d	***
acetoin	5,5 c	6,2 b	6,9 a,b	7,5 a	6,5 b	4,2 d	**

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 29: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 29: Content of volatile compounds in aged Sauvignon wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	Značilnost
izoamil alkohol	187,1 c	192,5 b	183,1 d	179,2 e	172,1 f	232,0 a	***
1-propanol	37,5 a	27,6 e	33,3 c	36,0 b	32,0 d	32,2 d	***
izobutanol	25,3 b	25,4 b	23,9 c	23,7 c	22,7 d	28,8 a	***
2-fenil etanol	21,1 b	21,2 b	17,7 c	18,2 c	17,2 c	24,4 a	***
metanol	30,1 c	25,6 e	30,8 b	31,0 b	29,6 d	31,9 a	***
etil laktat	3,9 c	23,2 a	22,5 a	2,3 d	3,6 c	9,0 b	***
metil laktat	5,4 b	0,0 d	0,0 d	5,1 c	0,0 d	5,8 a	***
izoamil acetat	1,6 b	0,1 d	2,7 a	0,2 d	0,8 c	0,8 c	***
etil acetat	48,9 a	18,8 f	38,7 c	41,3 b	35,9 d	29,1 e	***
acetaldehid	71,7 d	73,5 c	82,2 a	79,2 b	83,6 a	68,5 e	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
diacetil	2,6 b	3,4 a	2,5 b	1,4 c	1,1 c	0,3 d	***
acetoin	6,8 a, b	7,2 a	7,6 a	5,9 b	6,1 b	7,5 a	*

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 30: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 30: Content of volatile compounds in young Welsh Riesling wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	Značilnost
izoamil alkohol	192,7 b	189,3 c	177,5 e	127,3 f	186,0 d	207,1 a	***
1-propanol	45,9 a	36,0 c	46,2 a	30,5 d	43,8 b	43,3 b	***
izobutanol	56,4 b	58,6 a	47,7 e	32,8 f	54,7 c	50,4 d	***
2-fenil etanol	17,1 c	18,5 b	15,0 d	15,3 d	11,8 e	19,8 a	***
metanol	45,6 a	42,5 b	42,0 c	31,7 d	42,4 b	45,7 a	***
etil laktat	5,3 c	20,8 a	2,0 e	4,0 d	3,9 d	7,2 b	***
metil laktat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
izoamil acetat	0,6 a	0,7 a	0,8 a	0,1 b	0,9 a	0,6 a	**
etil acetat	13,6 c	15,0 b	13,5 c	2,5 e	15,4 a	13,2 d	***
acetaldehid	19,3 e	25,6 c	35,1 a	32,8 c	38,6 a	20,1 e	***
2-fenil etilacetat	0,0 b	0,0 b	0,0 b	1,6 a	0,0 b	0,0 b	***
diacetil	1,7 a	1,5 a	1,4 a	1,6 a	1,4 a	0,9 b	***
acetoin	7,2 b	7,8 a	6,7 b, c	6,9 b	7,1 b	6,3 c	**

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 31: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 31: Content of volatile compounds in aged Welsh Riesling wines, vintage 2004, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	Značilnost
izoamil alkohol	183,8 a	178,2 c	175,8 e	176,9 d	176,5 d	180,6 b	***
1-propanol	43,7 b	33,8 e	45,7 a	41,6 c	42,0 c	38,1 d	***
izobutanol	53,7 b	55,1 a	47,0 d	51,9 c	52,0 c	43,9 e	***
2-fenil etanol	22,5 a	19,0 d	21,4 a, b	19,3 c, d	16,9 e	20,3 b, c	***
metanol	45,2 a	41,0 d	42,5 b	42,8 b	41,8 c	41,6 c	***
etil laktat	2,9 f	31,5 a	26,5 b	12,8 d	17,8 c	7,0 e	***
metil laktat	6,2 a	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	***
izoamil acetat	0,7 b	0,9 a, b	0,6 b	0,9 a, b	1,1 a	1,1 a	nz
etil acetat	16,7 d	15,8 e	11,7 f	17,4 c	24,6 a	20,1 b	***
acetaldehid	52,3 d	66,3 c	67,4 c	74,0 a	69,6 b	51,0 d	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
diacetil	2,6 a	1,1 b	0,6 c	2,2 a	0,5 c	0,6 c	***
acetoin	7,6 b	8,0 a	7,3 b	6,5 d	6,8 c, d	6,6 d	**

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Rezultati GC analiz hlapnih spojin v šestih mladih in zorenih vinih laškega rizlinga letnika 2004 so prikazani v preglednicah 30 in 31. Vse vodene MKF so bile zaključene že v mladih vinih, kot tudi spontana MKF v kontrolni vinifikaciji, ne pa v PS. Statistično zelo visoko značilne razlike v mladih in zorenih vinih smo ugotovili v 10 od 13 parametrov. Vzorec kontrolne vinifikacije je izstopal pred ostalimi petimi po največjih vsebnostih izoamil alkohola, 2-fenil etanola, metanola, metil laktata in diacetila. Primerjava vsebnosti posameznih spojin v vzorcih pred in po zorenju je pokazala razlike, vendar smo ugotovili zakonitosti vpliva časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB le v majhnem številu spojin. V mladih vinih smo ugotovili pri vsebnostih 1-propanola, 2-fenil etanola in acetaldehida vpliv uporabljene starterske kulture MKB. V primeru dodatka MKB1 smo določili manjše vsebnosti 1-propanola ter večje vsebnosti 2-fenil etanola in acetaldehida. V zorenih vinih so bile vsebnosti diacetila večje z uporabo MKB1 kot MKB2. Večje vsebnosti etil laktata, etil acetata,



acetaldehida in acetoina smo določili pri koinokulacijah MKB kot inokulacijah MKB po AF. V nobenem vzorcu laškega rizlinga nismo določili metil laktata. Kot že pri predhodnih treh obravnavanih sortah, je med analiziranimi spojinami prevladoval izoamil alkohol. V vinih po zorenju smo določili vsebnosti diacetila v intervalu med 0,5 in 2,6 mg/L. Na osnovi največje vsebnosti citronske kisline v moštu laškega rizlinga (preglednica 15) smo pričakovali nekoliko večje vsebnosti diacetila v primerjavi z ostalimi sortami. Etil laktat je bil v zorenih vinih prisoten v širokem intervalu od 2,9 do 31,5 mg/L. Vsebnosti v vzorcih z vodeno MKF so bile večje kot v vzorcih spontane MKF.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v mladih vinih laški rizling letnika 2004 smo ugotovili le vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost 1-propanola, 2-fenil etanola in acetaldehida. Vpliva uporabljene starterske kulture MKB nismo opazili v nobeni analizirani hlapni spojini.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v zorenih vinih laški rizling letnika 2004 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost etil laktata, etil acetata, acetaldehida in diacetila. Uporabljena starterška kultura MKB je vplivala le na vsebnost diacetila.

#### 4.1.3 VINIFIKACIJE V 500 mL FERMENTACIJSKI PROSTORNINI Z LETNIKOM 2004

##### 4.1.3.1 Spremljanje oddajanja CO<sub>2</sub>

Vzporedno z vinifikacijskim poskusom v 28 L fermentacijski prostornini smo izvedli poskus posameznih vinifikacij štirih sort tudi v 500 mL fermentacijskih stekleničkah. V njih smo spremljali oddajanje CO<sub>2</sub> (g/L na h) med posameznimi vinifikacijami. Za 30-dnevne vinifikacije smo se odločili na osnovi spremljanja količine oddanega CO<sub>2</sub>, saj so bile razlike zelo majhne.

Primerjava oddane količine CO<sub>2</sub> med štirimi sortami je pokazala zelo veliko razliko (preglednica 32), medtem ko so bile razlike med vinifikacijami znotraj iste sorte zelo majhne. K temu je največ pripomogla različna sladkorna stopnja in prehranski status moštov z dušikovimi spojinami oz. dozorelost in zdravstveno stanje grozdja. Vendar pa je bil potek oddajanja CO<sub>2</sub> (g/L na h) podoben pri moštih iz istega pridelovalnega območja, torej chardonnaya in malvazije ter sauvignona in laškega rizlinga (priloga A11). Razlike so bile opazne v času najintenzivnejše AF, torej med 2. in 6. dnem. Ker so nas bolj zanimala razlike znotraj sorte med posameznimi vinifikacijami zaradi vpliva časa dodatka in inokulirane starterske kulture MKB, ki jih pri poskusu z letnikom 2004 nismo ugotovili, pri poskusu z letnikom 2005 spremljanja oddajanja CO<sub>2</sub> nismo izvajali.

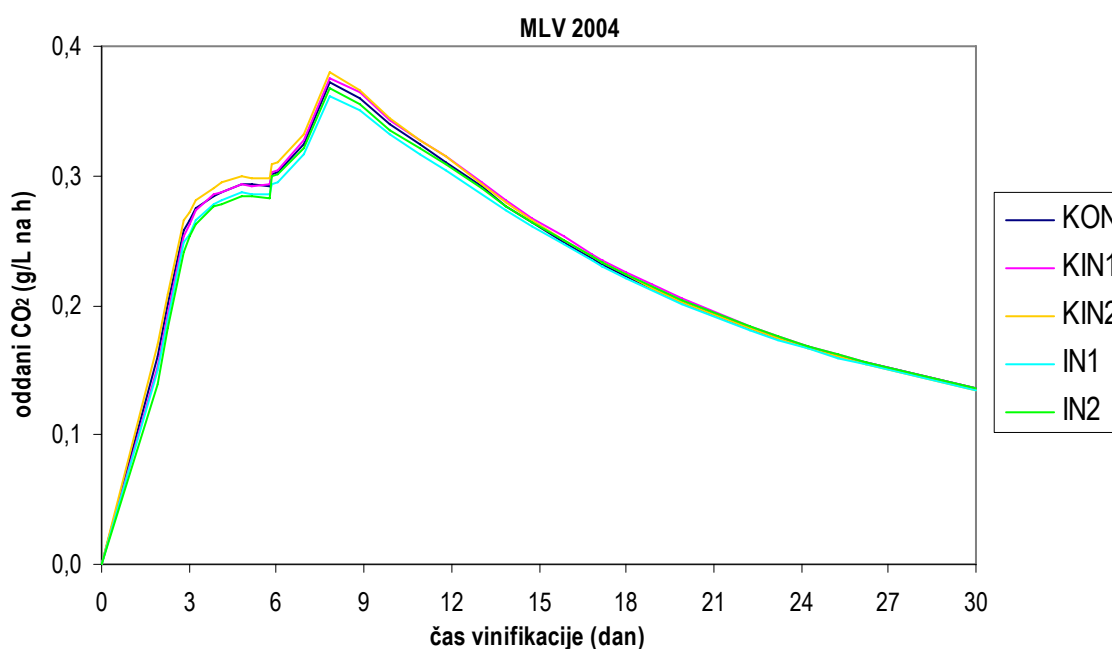
##### Preglednica 32: Skupna količina oddanega CO<sub>2</sub> (g/L) po 30 dneh vinifikacij letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini

Table 32: Total amount of CO<sub>2</sub> (g/L) released after 30 days of vinifications of 2004 vintage in 500 mL fermentation volume

sorta/ vinifikacija	CO <sub>2</sub> (g/L)						povprečje vinifikacij
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS	
chardonnay	54,24±0,88	54,19±0,32	54,08±0,43	53,48±0,29	53,15±0,03	/	53,83
malvazija	48,97±0,06	49,34±0,13	48,73±0,51	48,67±0,17	49,19±0,81	/	48,98
sauvignon	47,87±0,41	49,19±0,94	48,42±0,13	49,61±0,54	48,74±0,59	48,80±0,50	48,70
laški rizling	45,64±0,56	46,20±0,40	45,59±0,73	45,50±0,71	46,25±1,22	45,63±0,77	45,67

Primerjava poteka oddajanja CO<sub>2</sub> med petimi vinifikacijami sorte chardonnay (priloga A11, A12) je pokazala zelo majhne razlike. Do 5. dne vinifikacije se je količina oddanega CO<sub>2</sub> zelo povečevala v vseh primerih.. V času med 2. in 5. dnem vinifikacije, torej v času najbolj intenzivne AF, je bila količina oddanega CO<sub>2</sub> vseskozi najmanjša pri vinifikaciji KIN1, medtem ko je bila pri ostalih štirih vinifikacijah skoraj enaka (priloga A12). Med 5. in 10. dnem je nastopila dokaj konstantna količina oddanega CO<sub>2</sub>, saj se je v tem času poraba sladkorjev malo zmanjšala. Do povečanja količine oddanega CO<sub>2</sub> je prišlo 11. dan, ko je dosegla tudi največjo vrednost 0,37 g oddanega CO<sub>2</sub>/L na h

pri vinifikaciji koinokulacije z MKB2. V vseh vinifikacijah sorte chardonnay se je AF zaključila 11. dan (priloga A7). V nadaljevanju se je količina CO<sub>2</sub> zmanjševala. 7. dan opazovanja smo dodali drugo prehransko sredstvo, kar je bilo vzrok za stopničast dvig količine sproščenega CO<sub>2</sub> in najverjetneje za nadaljnje povečanje količine CO<sub>2</sub>. To pomeni, da smo z dodatkom prehranskega sredstva med AF spodbudili delovanje kvasovk in v primeru koinokulacije tudi MKB. Od 1. do 17. dne trajanja je bila oddana količina CO<sub>2</sub> najmanjša pri vinifikaciji koinokulacije z MKB1, medtem ko je bila največja od 5. dne dalje pri vinifikaciji koinokulacije z MKB2. Krivulje dinamike oddajanja CO<sub>2</sub> ostalih vinifikacij so se skoraj prekrivale. Po 30 dneh spremljanja količine oddanega CO<sub>2</sub> smo med petimi vinifikacijami sorte chardonnay ugotovili največjo povprečno količino oddanega CO<sub>2</sub>, saj je mošt te sorte vseboval tudi največ sladkorja. Največ CO<sub>2</sub>, 54,24 g/L, je bilo oddanega med kontrolno vinifikacijo. Opazili smo tudi večjo količino oddanega CO<sub>2</sub> v primeru koinokulacije kot inokulacije ter uporabe MKB1. Med obravnavanimi petimi vinifikacijami sorte chardonnay so se vsebnosti oddanega CO<sub>2</sub> razlikovale za največ 1,09 g/L. Med vinifikacijami sorte chardonnay smo opazili vpliv časa dodatka in manjši vpliv uporabljene starterske kulture MKB na količino oddanega CO<sub>2</sub>.



**Slika 20: Spremljanje oddajanja CO<sub>2</sub> med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini**

Figure 20: CO<sub>2</sub> released during vinifications of Malvasia wines, vintage 2004, in 500 mL fermentation volume

Spremljanje poteka oddajanja CO<sub>2</sub> med petimi vinifikacijami malvazije (slika 20, priloga A11, A12) tudi ni pokazalo pričakovanih večjih razlik. Do 4. dne se je oddana količina CO<sub>2</sub> zelo večala povečevala, kar je sovpadalo z najbolj intenzivnim potekom AF (priloga A8). V času najbolj intenzivne AF (priloga A12) smo ugotovili največjo količino oddanega CO<sub>2</sub> pri vinifikaciji KIN2, sledilo so KON, KIN1, IN1, pri IN2 smo ugotovili najmanjšo količino. Vendar so bile količine oddanega CO<sub>2</sub> v g/L na h razvrščene znotraj ozkega intervala. Do 6. dne smo opazili konstantno količino CO<sub>2</sub>, ki se je prekinila zaradi dodatka drugega prehranskega sredstva. To je bil vzrok za povečano količino CO<sub>2</sub>, saj smo spodbudili delovanje tako kvasovk kot tudi MKB v primeru koinokulacije MKB. Količina oddanega CO<sub>2</sub> je dosegla z 0,38 g CO<sub>2</sub>/L na h največjo količino 8. dan. V nadaljevanju se je zmanjševala v vseh primerih vinifikacije do konca opazovanja. Pri malvaziji smo med 1. in 12. dnem opazili največjo količino oddanega CO<sub>2</sub> pri koinokulaciji z MKB2, medtem ko je bila med 6. in 16. dnem najmanjša pri vinifikaciji inokulacije z MKB1. Vendar so bile te razlike zelo majhne. Po 30 dneh spremljanja oddajanja CO<sub>2</sub> smo med petimi vinifikacijami sorte malvazija določili povprečno količino oddanega CO<sub>2</sub> 48,98 g/L. Največ CO<sub>2</sub>, 49,34 g/L, je bilo oddanega med vinifikacijo KIN1.

Med časom inokulacije in uporabljeno startersko kulturo MKB nismo ugotovili vpliva na količino oddanega CO<sub>2</sub>, v nasprotju kot pri sorti chardonnay. Med obravnavanimi petimi vinifikacijami sorte malvazija so se celokupne vsebnosti oddanega CO<sub>2</sub> razlikovale za največ 0,67 g/L.

Dinamika oddajanja CO<sub>2</sub> med šestimi vinifikacijami sorte sauvignon se je bil razlikovala od dinamike pri sortah iz vinorodnega okoliša Koper (priloga A11). V začetku, med 1. in 2. dnem vinifikacije, je bila opazna manjša intenziteta povečevanja količine CO<sub>2</sub>, ki je bila najbolj izrazita pri vinifikaciji IN2. V nadaljevanju se je količina oddanega CO<sub>2</sub> zelo povečala. Že 3. dan smo zaradi zelo intenzivne AF dodali drugo prehransko sredstvo. To je še spodbudilo AF, ne pa tudi MKF v primerih koinokulacije, saj je ta potekala zelo počasi in je bila dolgotrajna. Zelo intenzivno naraščanje količine oddanega CO<sub>2</sub> je potekalo do 4. dne, kar je sovpadalo z zelo intenzivno porabo heksoz. Temu je bil najverjetneje vzrok boljši prehranski status mošta sauvignon z dušikovimi spojinami v primerjavi z moštoma chardonnay in malvazija. Konstantna količina oddanega CO<sub>2</sub> je trajala le dober dan. V času najbolj intenzivne AF je bila tudi hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> največja, in sicer 0,70 g/L na h pri vinifikaciji PS. To je predstavljalo skoraj dvakratno hitrost kot pri prejšnjih dveh sortah. V času od 2. do 5. dne vinifikacije sorte sauvignon smo si vinifikacije glede količine oddanega CO<sub>2</sub> sledile od največje do najmanjše v naslednjem redu: PS, KIN1, KIN2, KON, IN1 in IN2. Iz tega smo opazili vpliv poteka vodene, sicer počasne MKF, v primeru koinokulacij MKB. V nadaljevanju se je hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> zmanjševala. Med 3. in 7. dnem spremljanja so si sledile vinifikacije z majhnimi razlikami v količini oddanega CO<sub>2</sub> od največje do najmanjše količine v naslednjem vrstnem redu: PS, KIN1, KIN2, KON, IN1, IN2. Po 28 dneh spremljanja oddajanja CO<sub>2</sub> smo med šestimi vinifikacijami sorte sauvignon določili povprečno količino oddanega CO<sub>2</sub> 48,70 g/L. Količina je bila zelo primerljiva s sorto malvazija, katere mošt je vseboval zelo primerljivo vsebnost sladkorjev kot sauvignon. Med obravnavanimi šestimi vinifikacijami so bile razlike v vsebnostih oddanega CO<sub>2</sub> po 30 dneh največje v primerjavi s preostalimi sortami, kar 1,74 g/L. Največ CO<sub>2</sub>, 49,61 g/L, je bilo oddanega med vinifikacijo IN1. Med vinifikacijami sorte sauvignon smo v skupni količini oddanega CO<sub>2</sub> ugotovili vpliv uporabljene starterske kulture MKB, ne pa tudi časa njihovega dodatka. Količine so bile večje pri uporabi MKB1 kot MKB2. Vpliv časa smo opazili v času najbolj intenzivne AF, med 2. in 5. dnem. Vzrok temu je bil najverjetneje moten potek MKF zaradi neugodnih razmer mošta sorte sauvignon.

Potek oddajanja CO<sub>2</sub> med šestimi vinifikacijami sorte laški rizling (priloga A11) je bila bolj primerljiva s potekom pri sauvignonu kot pri chardonnayu in malvaziji. Do 3. dne se je količina CO<sub>2</sub> zelo strmo dvigovala, kar je sovpadalo z najbolj intenzivnim potekom AF. Dosegla je največjo hitrost, 0,95 g/L na h oddanega CO<sub>2</sub> pri vinifikaciji PS, kar je bilo največ med vsemi sortami. Med 2. in 5. dnem vinifikacije so si vinifikacije glede na količino oddanega CO<sub>2</sub> sledile od največje do najmanjše, kot sledi: PS, KIN1, IN2, IN1, KIN2 in KON. Vpliva časa dodatka MKB na količino oddanega CO<sub>2</sub> nismo mogli ugotoviti, saj se je razgradnja jabolčne kisline v primeru koinokulacij začela 3. dan. Konstantne količine oddanega CO<sub>2</sub> pri vinifikacijah sorte laški rizling ni bilo. Zelo intenzivno oddajanje CO<sub>2</sub> je bilo posledica zelo intenzivne porabe sladkorjev. V nadaljevanju je sledilo zelo hitro zmanjševanje količine CO<sub>2</sub>, ki ga je nekoliko zaustavil dodatek drugega prehranskega sredstva 4. dan, kar je bilo verjetno že prepozno. Po 30 dneh spremljanja količine oddanega CO<sub>2</sub> smo med šestimi vinifikacijami sorte laški rizling določili najmanjšo povprečno količino oddanega CO<sub>2</sub> 45,67 g/L. Količina ni bila primerljiva s sortama malvazija in sauvignon, katerih mošta sta vsebovala primerljivo vsebnost sladkorjev. Ne smemo prezreti dejstva, da smo mošt laški rizling zaradi neustrezne zrelosti dosladkali. Med obravnavanimi šestimi vinifikacijami so razlike v količini oddanega CO<sub>2</sub> znašale 0,75 g/L. Največ CO<sub>2</sub>, 46,25 g/L, je bilo oddanega med vinifikacijo IN2. Tako kot pri sorti malvazija, tudi pri sorti laški rizling nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na količino oddanega CO<sub>2</sub>.

#### 4.1.3.2 Spremljanje rasti kvasovk, mlečnokislinskih bakterij in skupnih mikroorganizmov

V 500 mL fermentacijski prostornini smo pri sorti malvazija letnika 2004 med petimi 42 dnevnimi vinifikacijami poskusno spremljali rast kvasovk, MKB in skupnih mikroorganizmov. Inokulaciji MKB smo le v tem primeru izvedli 21. in ne 14. dan od začetka vinifikacij. Vrednosti skupnega števila mikroorganizmov so bile nekoliko manjše od števila kvasovk (preglednica 33, priloga A14), saj je gojišče NA neselektivno. Z nadaljevanjem poskusa z letnikom 2005 smo se na osnovi preliminarnih rezultatov iz poskusa z letnikom 2004 odločili za spremljanje rasti kvasovk in MKB med vinifikacijami v 28 L fermentacijski prostornini.

**Preglednica 33: Rast kvasovk, skupnih mikroorganizmov in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini**

Table 33: Growth of yeasts, total microorganisms and lactic acid bacteria during vinifications of Malvasia, vintage 2004, in 500 mL fermentation volume

vinifikacija	Mikro-organizem	Število mikroorganizmov (CFU/mL) med vinifikacijami (dan)								
		1	3	7	14	21/1	23/3	28/7	35/14	42/21
KON	kvasovke	3,1x10 <sup>6</sup>	4,1x10 <sup>7</sup>	2,3x10 <sup>8</sup>	9,0x10 <sup>7</sup>	4,4x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>7</sup>	1,5x10 <sup>7</sup>	4,1x10 <sup>6</sup>	3,4x10 <sup>5</sup>
	MO	2,9x10 <sup>6</sup>	3,9x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>	8,5x10 <sup>7</sup>	3,9x10 <sup>7</sup>	2,6x10 <sup>7</sup>	1,1x10 <sup>7</sup>	3,6x10 <sup>6</sup>	3,1x10 <sup>5</sup>
	MKB	<10	<10	<10	9,5x10 <sup>4</sup>	2,0x10 <sup>7</sup>	4,6x10 <sup>7</sup>	8,3x10 <sup>7</sup>	7,1x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>7</sup>
KIN1	kvasovke	2,8x10 <sup>6</sup>	3,4x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>	8,1x10 <sup>7</sup>	3,9x10 <sup>7</sup>	2,9x10 <sup>7</sup>	1,1x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>6</sup>	2,6x10 <sup>5</sup>
	MO	2,6x10 <sup>6</sup>	3,1x10 <sup>7</sup>	1,9x10 <sup>8</sup>	7,9x10 <sup>7</sup>	3,6x10 <sup>7</sup>	2,3x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	2,7x10 <sup>6</sup>	3,2x10 <sup>5</sup>
	MKB	4,0x10 <sup>5</sup>	2,6x10 <sup>6</sup>	9,9x10 <sup>6</sup>	1,1x10 <sup>7</sup>	5,1x10 <sup>7</sup>	2,3x10 <sup>7</sup>	5,0x10 <sup>6</sup>	6,6x10 <sup>5</sup>	2,5x10 <sup>4</sup>
KIN2	kvasovke	2,9x10 <sup>6</sup>	3,1x10 <sup>7</sup>	2,2x10 <sup>8</sup>	8,4x10 <sup>7</sup>	4,3x10 <sup>7</sup>	2,8x10 <sup>7</sup>	1,2x10 <sup>7</sup>	2,6x10 <sup>6</sup>	2,4x10 <sup>5</sup>
	MO	2,6x10 <sup>6</sup>	3,0x10 <sup>7</sup>	2,0x10 <sup>8</sup>	7,4x10 <sup>7</sup>	3,7x10 <sup>7</sup>	2,3x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	2,2x10 <sup>6</sup>	1,8x10 <sup>5</sup>
	MKB	3,4x10 <sup>5</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>	9,0x10 <sup>6</sup>	1,0x10 <sup>7</sup>	5,9x10 <sup>7</sup>	3,4x10 <sup>7</sup>	8,0x10 <sup>6</sup>	8,5x10 <sup>5</sup>	4,0x10 <sup>4</sup>
IN1	kvasovke	3,1x10 <sup>6</sup>	4,2x10 <sup>7</sup>	2,3x10 <sup>8</sup>	8,7x10 <sup>7</sup>	4,7x10 <sup>7</sup>	3,3x10 <sup>7</sup>	1,5x10 <sup>7</sup>	3,7x10 <sup>6</sup>	3,1x10 <sup>5</sup>
	MO	2,8x10 <sup>6</sup>	4,0x10 <sup>7</sup>	2,2x10 <sup>8</sup>	7,9x10 <sup>7</sup>	4,1x10 <sup>7</sup>	2,8x10 <sup>7</sup>	1,0x10 <sup>7</sup>	3,4x10 <sup>6</sup>	2,9x10 <sup>5</sup>
	MKB	<10	<10	<10	<10	5,8x10 <sup>5</sup>	4,0x10 <sup>7</sup>	8,8x10 <sup>7</sup>	6,9x10 <sup>7</sup>	1,2x10 <sup>7</sup>
IN2	kvasovke	3,0x10 <sup>6</sup>	4,1x10 <sup>7</sup>	2,4x10 <sup>8</sup>	8,8x10 <sup>7</sup>	4,4x10 <sup>7</sup>	3,5x10 <sup>7</sup>	1,4x10 <sup>7</sup>	3,4x10 <sup>6</sup>	3,1x10 <sup>5</sup>
	MO	2,9x10 <sup>6</sup>	3,8x10 <sup>7</sup>	2,1x10 <sup>8</sup>	7,6x10 <sup>7</sup>	4,0x10 <sup>7</sup>	2,9x10 <sup>7</sup>	9,0x10 <sup>6</sup>	2,7x10 <sup>6</sup>	2,5x10 <sup>5</sup>
	MKB	<10	<10	<10	<10	4,3x10 <sup>+5</sup>	3,3x10 <sup>7</sup>	8,3x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	1,2x10 <sup>7</sup>

V dinamiki rasti kvasovk (priloga A13, preglednica 33) med vinifikacijami ni bilo opaznih razlik. Rastne krivulje kvasovk pri posameznih vinifikacijah so bile skoraj enake. Največje število živih kvasovk smo določili 7. dan spremljanja. Vrednosti so se gibale od 2,1 do 2,4x10<sup>8</sup> CFU/mL. Pri posameznih vinifikacijah smo določili vrednosti: KON 2,3x10<sup>8</sup> CFU/mL, KIN1 2,1x10<sup>8</sup> CFU/mL, KIN2 2,2x10<sup>8</sup> CFU/mL, IN1 2,3x10<sup>8</sup> CFU/mL in IN2 2,4x10<sup>8</sup> CFU/mL. V nadaljevanju so se populacije zmanjševale. Od 21. dne dalje smo opazili večje zmanjševanje števila kvasovk pri posameznih vinifikacijah kot predhodno. Zadnji dan spremljanja smo določili naslednje velikosti populacij pri posameznih vinifikacijah: KON 3,4x10<sup>5</sup> CFU/mL, KIN1 2,6x10<sup>5</sup> CFU/mL, KIN2 2,4x10<sup>5</sup> CFU/mL, IN1 in IN2 3,1x10<sup>5</sup> CFU/mL. Vrednosti so se nahajale v intervalu od 2,4 do 3,4x10<sup>5</sup> CFU/mL. Iz spremljanja rasti kvasovk nismo ugotovili vpliva časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB.

V preglednici 33 in prilogi A15 so predstavljene rasti MKB med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2004. Ugotovili smo razlike med vinifikacijami koinokulacije in inokulacije MKB. V obeh primerih koinokulacije MKB so bakterije potrebovale daljši čas, da so dosegle največje število populacije, kar lahko pripišemo antagonizmu kvasovk. Začetni populaciji MKB sta bili pri koinokulaciji 1. dan veliki 4,0x10<sup>5</sup> CFU/mL (KIN1) in 3,4x10<sup>5</sup> CFU/mL (KIN2). V primeru koinokulacije smo določili največje

število celic 14. dan po inokulaciji MKB, in sicer pri KIN1  $1,1 \times 10^8$  CFU/mL ter pri KIN2  $1,0 \times 10^8$  CFU/mL. V nadaljevanju smo opazili večje zmanjševanje populacije MKB1 kot MKB2. V primeru inokulacije MKB po končani AF sta bili začetni populaciji MKB 1. dan po dodatku starterskih kultur MKB veliki  $5,8 \times 10^5$  CFU/mL (IN1) in  $4,3 \times 10^5$  CFU/mL (IN2). Največji populaciji MKB smo določili že 7. dan po inokulaciji MKB: IN1  $8,8 \times 10^7$  CFU/mL ter pri IN2  $8,3 \times 10^7$  CFU/mL. V nadaljevanju sta se populaciji pri inokulaciji MKB počasneje zmanjševali kot v primerih koinokulacij. Pri kontrolni vinifikaciji je stekla spontana MKF. Največje število MKB smo določili 28. dan vinifikacije ( $8,3 \times 10^7$  CFU/mL) in v nadaljevanju se je populacija zmanjševala. Ob koncu spremljanja dinamike rasti MKB so bile populacije MKB pri posameznih vinifikacijah velike: KON  $3,3 \times 10^7$  CFU/mL, KIN1  $3,0 \times 10^4$  CFU/mL, KIN2  $4,0 \times 10^4$  CFU/mL, IN1 in IN2  $1,2 \times 10^7$  CFU/mL. Vrednosti so se nahajale v intervalu od  $3,0 \times 10^4$  do  $3,3 \times 10^7$  CFU/mL. Iz spremljanja rasti MKB smo ugotovili vpliv časa dodatka ne pa tudi inokulirane starterske kulture MKB. Glede na intervale vzorčenja so populacije MKB pri koinokulacijah MKB potrebovale daljši čas, da so dosegle največje število celic.

#### 4.1.3.3 Kemijski parametri mladih vin

Po končanem 30-dnevnem spremljanju oddajanja  $\text{CO}_2$  pri posameznih vinifikacijah v 500 mL fermentacijski prostornini smo opravili analize enakih kemijskih parametrov kot v vzorcih iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini. Potrdili smo vpliv velikosti fermentacijske prostornine na potek MKF, vendar je tako vodena kot spontana MKF potekala hitreje v manjši kot večji prostornini.

**Preglednica 34: Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini**

Table 34: Chemical parameters of young Malvasia wines, vintage 2004, in 500 mL fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2
pH	3,53±0,00	3,50±0,00	3,51±0,00	3,52±0,00	3,52±0,00
TK1 (g/L)	5,98±0,03	5,95±0,05	6,05±0,03	5,41±0,04	5,23±0,05
TK2 (g/L)	6,43±0,08	6,19±0,07	6,27±0,07	5,71±0,09	5,52±0,07
PK (mmol/L na pH)	57,08±0,05	56,61±0,07	56,76±0,06	56,92±0,05	56,97±0,04
HK (g/L)	0,50±0,03	0,52±0,02	0,53±0,02	0,55±0,03	0,57±0,04
VK (g/L)	0,96±0,04	0,99±0,02	0,90±0,02	0,95±0,03	0,84±0,02
JBK (g/L)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MK (g/L)	4,76±0,02	4,83±0,03	4,91±0,02	4,85±0,04	4,87±0,03
CK (mg/L)	0	0	0	0	0
JK (mg/L)	0	0	0	0	0
ŠK (mg/L)	59±0	60±1	59±0	58±0	58±1
RS (g/L)	1,28±0,12	1,42±0,10	1,53±0,14	0,95±0,10	0,93±0,10
SE (g/L)	20,6±0,1	19,8±0,1	20,0±0,1	19,5±0,1	19,7±0,1
alkohol (vol.%)	11,82±0,03	11,75±0,02	11,80±0,02	11,88±0,02	11,75±0,01
glukoza (g/L)	0,70±0,04	0,62±0,06	0,62±0,04	0,61±0,04	0,65±0,05
fruktoza (g/L)	0,46±0,06	0,59±0,06	0,57±0,05	0,55±0,07	0,57±0,05
saharozna (g/L)	0,22±0,03	0,21±0,02	0,24±0,03	0,24±0,03	0,23±0,02
glicerol (g/L)	6,30±0,05	6,24±0,03	6,18±0,02	6,25±0,02	6,22±0,03
SF (mg/L)	117±3	104±2	98±2	95±4	91±4
FAN (mg N/L)	5±1	5±1	6±1	6±1	5±1

Preglednica 32 prikazuje vrednosti 20 kemijskih parametrov v petih mladih vinih malvazija. S primerjavo kemijskih parametrov organskih kislin (jabolčne, mlečne, citronske in jantarne kisline), vrednosti pH, hlapnih kislin, glukoze in fruktoze po 30 dneh vinifikacije sorte malvazija v manjši in večji fermentacijski prostornini smo ugotovili naslednje. Vrednosti pH so bile višje v vseh petih mladih vinih malvazija v manjši prostornini, saj so se vrednosti po 30 dneh vinifikacije v večji prostornini

nahajale v intervalu od 3,46 do 3,50. Vsebnosti hlapnih kislin so bile manjše v vzorcih iz poskusa v večji prostornini, od 0,35 do 0,47 g/L. V 30 dneh je bila razgradnja jabolčne kisline popolnoma končana v vzorcih iz manjše prostornine, medtem ko smo jo v vzorcih iz večje prostornine določili v intervalu od 0,80 do 1,26 g/L. Nasprotno so bile vsebnosti mlečne kisline večje v vzorcih iz manjše prostornine, saj smo jo v vzorcih iz 28 L prostornine določili v intervalu od 3,53 do 4,44 g/L. Popolnoma zaključena je bila tudi pretvorba citronske in jantarne kisline v vinih in zmanjše prostornine. Nasprotno smo v vinih iz večje prostornine določili citronsko kislino v intervalu od 252 do 284 mg/L in jantarno kislino v intervalu od 0 do 43 mg/L. V vzorcih iz večje prostornine smo določili več glukoze, od 0,52 do 0,66 g/L ter več fruktoze, od 0,62 do 0,82 g/L. Vsebnosti glicerola so bile večje v vinih iz večje prostornine, saj so bile od 6,20 do 6,52 g/L. Iz teh rezultatov lahko zaključimo, da je velikost prostornine vplivala na potek tako vodene kot spontane MKF v vinih malvazija. Nismo potrdili hipoteze o hitrejšem poteku MKF v večji prostornini, ampak smo v vinih malvazija ugotovili hitrejši potek tako vodene kot spontane MKF v manjši prostornini.

**Preglednica 35: Kemijski parametri mladih vin sauvignon letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini**  
Table 35: Chemical parameters of young Sauvignon wines, vintage 2004, in 500 mL fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS
pH	3,20±0,00	3,28±0,00	3,28±0,01	3,27±0,01	3,29±0,01	3,21±0,00
TK1 (g/L)	8,80±0,04	7,18±0,03	7,23±0,03	7,32±0,03	7,28±0,02	8,74±0,04
TK2 (g/L)	9,06±0,09	9,11±0,07	9,10±0,06	9,08±0,07	8,93±0,07	9,00±0,08
PK (mmol/L na pH)	53,74±0,04	55,08±0,05	55,10±0,05	54,90±0,04	55,05±0,05	53,90±0,04
HK (g/L)	0,52±0,03	0,60±0,03	0,58±0,05	0,62±0,04	0,66±0,05	0,49±0,04
VK (g/L)	1,73±0,03	1,68±0,03	1,62±0,02	1,70±0,02	1,69±0,02	1,73±0,03
JBK (g/L)	4,64±0,05	0,76±0,04	0,70±0,07	0,97±0,05	0,91±0,07	4,76±0,06
MK (g/L)	1,63±0,03	4,75±0,05	4,83±0,06	4,59±0,05	4,53±0,06	1,37±0,06
CK (mg/L)	390±9	107±6	112±5	148±6	132±7	406±6
JK (mg/L)	153±5	0	0	0	0	203±8
ŠK (mg/L)	35±1	36±1	35±0	37±1	36±0	35±1
RS (g/L)	0,97±0,18	0,53±0,17	0,70±0,19	0,81±0,21	0,46±0,16	1,03±0,25
SE (g/L)	27,1±0,1	25,2±0,1	24,9±0,1	24,8±0,1	24,6±0,1	27,9±0,2
alkohol (vol.%)	11,88±0,02	11,79±0,02	11,88±0,03	11,92±0,03	11,88±0,02	11,90±0,03
glukoza (g/L)	1,39±0,05	0,88±0,07	0,92±0,04	0,96±0,07	1,02±0,06	1,48±0,09
fruktoza (g/L)	1,20±0,07	0,70±0,06	0,75±0,06	0,75±0,07	0,69±0,05	1,32±0,10
saharoza (g/L)	0,26±0,04	0,25±0,05	0,27±0,04	0,24±0,05	0,20±0,04	0,22±0,04
glicerol (g/L)	6,58±0,05	6,60±0,04	6,55±0,06	6,54±0,06	6,50±0,04	6,56±0,04
SF (mg/L)	166±4	153±5	152±5	139±3	137±5	132±5
FAN (mg N/L)	18±1	23±1	26±1	29±1	25±2	45±2

Preglednica 35 prikazuje vrednosti kemijskih parametrov v šestih mladih vinih sauvignon iz poskusa v 500 mL-manjši fermentacijski prostornini. S primerjavo kemijskih parametrov organskih kislin (jabolčne, mlečne, citronske in jantarne kisline), vrednosti pH, hlapnih kislin, glukoze in fruktoze po 30 dneh vinifikacije sorte sauvignon v manjši in večji fermentacijski prostornini smo ugotovili naslednje. Vrednosti pH so bile višje v vseh šestih mladih vinih v manjši prostornini, saj so bile vrednosti pH po 30 dneh vinifikacije v večji prostornini od 3,18 do 3,25. Vsebnosti hlapnih kislin so bile manjše v vzorcih iz poskusa v večji prostornini, od 0,32 do 0,38 g/L. Po 30 dneh razgradnja jabolčne kisline ni bila končana v vzorcih iz manjše prostornine, vendar smo v vzorcih iz večje prostornine določili več jabolčne kisline, od 2,24 do 5,60 g/L. V nasprotju z vinifikacijo PS iz večje prostornine, kjer se po 30 dneh spontana MKF ni še začela, smo opazili njen začetek v manjši prostornini. Vsebnosti mlečne kisline so bile večje v vzorcih iz manjše prostornine, kajti v vzorcih iz

28 L prostornine smo jo določili od 0,56 do 3,73 g/L. Več citronske kisline (od 252 do 448 mg/L) in več jantarne kisline (od 0 do 356 mg/L) smo določili v vinih iz večje fermentacijske prostornine. V vzorcih iz večje prostornine smo določili več glukoze, od 1,31 do 1,54 g/L ter več fruktoze, od 1,03 do 2,00 g/L. Vsebnosti glicerola so bile tudi večje v vzorcih iz večje prostornine, od 6,74 do 6,86 g/L. Na osnovi rezultatov lahko zaključimo, da je velikost prostornine vplivala na potek tako vodene kot spontane MKF v vinih sauvignon. Ponovno nismo potrdili hipoteze o hitrejšem poteku MKF v večji prostornini, ampak smo v vinih sauvignon ugotovili hitrejši potek tako vodene kot spontane MKF v manjši prostornini.

**Preglednica 36: Kemijski parametri mladih vin laški rizling letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini**  
Table 36: Chemical parameters of young Welsh Riesling wines, vintage 2004, in 500 mL fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS
pH	3,38±0,00	3,42±0,00	3,44±0,00	3,45±0,00	3,44±0,00	3,44±0,00
TK1 (g/L)	6,88±0,03	6,52±0,03	6,45±0,02	6,48±0,02	6,33±0,02	6,49±0,03
TK2 (g/L)	7,31±0,07	6,92±0,07	6,88±0,08	6,95±0,07	6,73±0,09	6,89±0,07
PK (mmol/L na pH)	48,33±0,03	48,91±0,05	49,19±0,04	49,34±0,04	49,21±0,03	49,18±0,04
HK (g/L)	0,87±0,04	0,56±0,03	0,47±0,03	0,46±0,04	0,47±0,03	0,60±0,05
VK (g/L)	1,23±0,02	1,22±0,03	1,20±0,03	1,18±0,02	1,25±0,03	1,20±0,04
JBK (g/L)	0,87±0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MK (g/L)	4,43±0,04	4,92±0,05	4,85±0,05	4,82±0,05	4,80±0,04	4,76±0,06
CK (mg/L)	217±9	0	0	0	0	109±7
JK (mg/L)	0	0	0	0	0	0
ŠK (mg/L)	30±1	30±1	29±1	30±0	29±1	31±0
RS (g/L)	0,30±0,12	0,41±0,18	0,48±0,15	0,36±0,12	0,30±0,13	0,26±0,10
SE (g/L)	19,4±0,2	18,6±0,1	18,7±0,1	18,2±0,1	18,1±0,1	19,7±0,2
alkohol (vol.%)	11,69±0,03	11,64±0,02	11,71±0,03	11,71±0,03	11,64±0,02	11,53±0,02
glukoza (g/L)	0,66±0,04	0,64±0,04	0,68±0,03	0,67±0,05	0,60±0,03	0,65±0,04
fruktoza (g/L)	0,79±0,05	0,59±0,05	0,55±0,07	0,57±0,06	0,53±0,04	0,52±0,07
saharoza (g/L)	0,64±0,04	0,58±0,04	0,63±0,05	0,60±0,04	0,64±0,04	0,59±0,05
glicerol (g/L)	6,31±0,07	6,27±0,04	6,39±0,06	6,33±0,03	6,41±0,06	6,30±0,05
SF (mg/L)	216±4	196±4	201±3	183±1	189±3	209±4
FAN (mg N/L)	17±1	22±1	19±1	24±2	24±2	43±4

Preglednica 36 prikazuje vrednosti 20 kemijskih parametrov v šestih mladih vinih laški rizling. S primerjavo kemijskih parametrov organskih kislin (jabolčne, mlečne, citronske in jantarne kisline), vrednosti pH, hlapnih kislin, glukoze in fruktoze po 30 dneh vinifikacije sorte malvazija v manjši in večji fermentacijski prostornini smo ugotovili naslednje. Vrednosti pH so bile nekoliko višje v vseh mladih vinih v manjši prostornini, saj so se vrednosti v vinih iz večje prostornine nahajale v intervalu od 3,28 do 3,44. Vsebnosti hlapnih kislin po 30 dneh vinifikacije so bile manjše v vzorcih iz poskusa v večji prostornini, od 0,35 do 0,46 g/L. Razgradnja jabolčne kisline je bila popolnoma končana v vzorcih iz manjše prostornine, razen pri vinifikaciji KON. V vzorcih iz večje prostornine smo določili od 0 (koinokulacija) do 5,60 g/L jabolčne kisline. Nasprotno so bile vsebnosti mlečne kisline večje v vzorcih iz manjše prostornine, saj smo jo v vzorcih iz 28 L prostornine določili v intervalu od 0,19 do 4,65 g/L. Popolnoma zaključena je bila tudi pretvorba citronske in jantarne kisline v vinih iz manjše prostornine, kjer je potekla vodena MKF. Nasprotno smo v vinih iz večje prostornine določili več citronske kisline, od 0 (koinokulacija) do 629 mg/L in več jantarne kisline, od 0 (koinokulacija) do 513 mg/L. V vzorcih iz večje prostornine smo v primerjavi z vzorci iz manjše prostornine določili več glukoze, od 0,80 do 1,30 g/L ter tudi več fruktoze, od 0,88 do 3,55 g/L. Vina iz večje prostornine so vsebovala več glicerola, od 6,47 do 6,77 g/L. Iz teh rezultatov lahko zaključimo, da je velikost

prostornine vplivala na potek tako vodene kot spontane MKF v vinih laški rizling. Nismo potrdili hipoteze o hitrejšem poteku MKF v večji prostornini, ampak smo v vinih laški rizling ugotovili hitrejši potek tako vodene kot spontane MKF v manjši prostornini.

#### 4.1.3.4 Hlapne spojine v mladih vinih

Po končanem 30-dnevem spremljanju oddajanja CO<sub>2</sub> pri posameznih vinifikacijah v 500 mL fermentacijski prostornini smo v mladih vinih opravili tudi GC analize hlapnih. Vsebnosti hlapnih spojin v manjši prostornini smo analizirali po 30 dneh vinifikacije, medtem ko smo hlapne spojine v vinih iz večje prostornine določali po 50 dneh. Zato ne moremo zagotovo potrditi ugotovitev, vendar pa se lahko pa se opremo na primerjave kemijskih parametrov (organske kisline, pH, hlapne kisline, sladkorji), ki so bili primerjani po 30 dneh vinifikacij tako v manjši kot večji prostornini. Glede na sorto smo v povprečju v mladih vinih iz manjše prostornine določili naslednje vsebnosti:

- izoamil alkohol; največ pri sauvignonu (209 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (196 mg/L),
- 1-propanol; največ pri laškem rizlingu (38 mg/L) in najmanj pri malvaziji (22 mg/L),
- izobutanol; največ pri laškem rizlingu (46 mg/L) in najmanj pri malvaziji (19 mg/L),
- 2-fenil etanol; največ pri malvaziji (23 mg/L) in najmanj pri sauvignonu (17 mg/L),
- metanol; največ pri malvaziji (62 mg/L) in najmanj pri sauvignonu (33 mg/L),
- etil laktat; največ pri sauvignonu (14 mg/L) in najmanj pri malvaziji (8 mg/L),
- izoamil acetat; največ pri sauvignonu (2,1 mg/L) in najmanj pri malvaziji (0,9 mg/L),
- etil acetat; največ pri laškem rizlingu (35 mg/L) in najmanj pri sauvignonu (27 mg/L),
- acetaldehid; največ pri malvaziji (52 mg/L) in najmanj pri sauvignonu (21 mg/L),
- diacetil; največ pri sauvignonu (2,0 mg/L) in najmanj pri malvaziji (1,6 mg/L),
- acetoin; največ pri malvaziji (6,4 mg/L) in najmanj pri sauvignonu (4,9 mg/L).

#### Preglednica 37: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini

Table 37: Content of volatile compounds in young Malvasia wines, vintage 2004, in 500 mL fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2
izoamil alkohol	204,5±3,3	223,8±3,7	199,7±3,5	202,6±3,3	200,2±3,6
1-propanol	22,3±2,5	23,2±2,6	21,3±2,2	22,0±2,5	21,5±2,5
izobutanol	19,9±2,8	19,0±2,6	19,2±2,5	18,3±2,6	18,7±2,3
2-fenil etanol	21,4±2,0	23,2±1,7	24,1±1,9	23,1±1,7	22,6±1,8
metanol	61,8±2,8	62,6±2,2	60,0±2,5	63,4±2,4	62,4±2,3
etil laktat	7,4±1,1	8,9±1,4	8,6±1,6	8,0±1,3	7,3±1,0
metil laktat	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
izoamil acetat	1,3±0,6	0,5±0,2	0,8±0,4	0,8±0,3	0,7±0,3
etil acetat	24,0±1,4	31,1±1,8	27,2±1,6	29,9±1,6	26,6±1,3
acetaldehid	53,5±2,8	47,1±2,6	50,6±3,1	52,1±2,9	56,3±2,7
2-fenil etilacetat	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9±0,4
diacetil	1,2±0,2	0,7±0,1	0,9±0,1	2,4±0,2	2,8±0,2
acetoin	5,4±0,3	6,8±0,4	6,2±0,4	7,0±0,3	6,5±0,3

Preglednica 37 prikazuje vsebnosti višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin v petih mladih vinih malvazija. Vsebnosti posameznih spojin so se sicer razlikovale od vsebnosti poskusa iste sorte v večji prostornini, vendar so bile v posameznih vinifikacijah primerljive. Vsebnosti izoamil alkohola, 1-propanola in metanola so bile v vseh petih vzorcih iz poskusa v 500 mL prostornini nekoliko manjše od vsebnosti iz poskusa v večji prostornini. Nasprotno smo pri izobutanolu, 2-fenil etanolu, etil laktatu in etil acetatu ugotovili nekoliko večje vsebnosti v vseh vinifikacijah poskusa v manjši prostornini. Vzorci so vsebovali diacetil v intervalu med 0,7 in 2,8 mg/L ter etil laktata od 7,3 do



8,9 mg/L. Vsebnosti so bile odvisne od poteka MKF pri posamezni vinifikaciji. Primerjava vsebnosti posameznih spojin v vzorcih vodenih MKF je pokazala vpliv časa inokulacije MKB pri izobutanolu, metanolu, etil laktatu, acetaldehidu, diacetilu in acetoinu. Vpliv dodane starterske kulture MKB smo opazili pri vsebnostih izoamil alkohola, 1-propanola, etil laktata, etil acetata in acetoina. Te ugotovitve so primerljive kot za vsebnosti hlapnih spojin v vzorcih iz poskusa v večji prostornini. V vzorcu kontrolne vinifikacije, kjer je potekla spontana MKF, smo v primerjavi z vzorci z vodenimi MKF, določili največje vsebnosti izobutanola, izoamil acetata in acetoina ter najmanj 2-fenil etanola in etil acetata.

**Preglednica 38: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih sauvignon letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini**

Table 38: Content of volatile compounds in young Sauvignon wines, vintage 2004, in 500 mL fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS
izoamil alkohol	223,6±3,8	209,1±4,0	191,5±4,2	202,4±3,8	184,0±3,6	242,2±3,2
1-propanol	36,0±2,3	33,9±2,5	31,5±2,1	34,5±2,6	30,7±2,3	31,0±2,4
izobutanol	27,2±2,9	34,0±2,4	26,3±2,6	29,1±2,3	25,2±2,4	31,6±2,7
2-fenil etanol	16,8±2,0	15,6±1,8	15,5±2,0	14,3±1,7	15,8±1,8	22,7±2,1
metanol	34,3±2,5	34,0±2,1	33,0±2,3	33,5±2,3	32,0±2,0	33,2±2,4
etil laktat	3,2±0,7	23,3±1,5	19,5±1,3	19,3±1,5	16,3±1,6	2,8±0,5
metil laktat	0,0	4,6±	0,0	0,0	0,0	0,0
izoamil acetat	2,3±0,6	1,7±0,4	2,0±0,6	2,1±0,5	1,2±0,4	3,5±0,4
etil acetat	27,5±1,4	23,3±1,2	22,5±1,5	26,9±1,6	29,7±1,6	32,7±1,8
acetaldehid	24,9±1,8	19,8±2,0	20,0±2,1	21,6±1,8	23,1±2,0	19,2±2,2
2-fenil etilacetat	3,3±0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	3,9±0,4
diacetil	0,4±0,1	3,7±0,3	3,5±0,3	1,9±0,1	1,8±0,2	0,3±0,1
acetoin	3,4±0,2	7,8±0,4	7,0±0,3	4,4±0,2	4,3±0,1	2,4±0,2

**Preglednica 39: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih laški rizling letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini**

Table 39: Content of volatile compounds in young Welsh Riesling wines, vintage 2004, in 500 mL fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	PS
izoamil alkohol	218,3±4,0	194,9±3,6	187,8±3,9	176,9±3,3	184,8±4,0	210,9±3,6
1-propanol	42,2±2,5	35,7±2,3	38,1±2,5	33,4±2,0	37,9±2,6	42,9±2,3
izobutanol	49,1±2,8	44,3±2,6	45,8±2,9	39,9±2,4	40,4±2,7	54,0±2,3
2-fenil etanol	21,3±2,1	18,1±2,2	16,3±1,8	17,5±1,9	15,3±2,0	22,0±2,2
metanol	44,2±2,2	40,9±2,4	41,0±2,3	39,2±2,5	41,2±2,2	45,1±2,6
etil laktat	4,7±1,0	19,2±1,4	20,6±1,5	17,2±1,3	16,5±1,5	4,1±0,8
metil laktat	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
izoamil acetat	2,6±0,4	1,5±0,5	1,3±0,3	1,4±0,3	1,5±0,4	4,0±0,6
etil acetat	29,5±1,2	38,7±1,6	37,4±1,4	36,7±1,6	35,3±1,5	33,9±1,4
acetaldehid	24,8±2,4	22,4±2,2	23,8±1,9	24,2±2,3	23,7±2,2	20,7±2,5
2-fenil etilacetat	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
diacetil	0,6±0,1	2,7±0,3	2,4±0,3	1,9±0,2	1,7±0,2	0,4±0,2
acetoin	4,3±0,3	7,3±0,4	6,8±0,3	6,4±0,3	6,2±0,2	3,2±0,1

Rezultati vsebnosti hlapnih spojin v šestih mladih vinih sauvignon iz poskusa letnika 2004 v manjši fermentacijski prostornini so zbrani v preglednici 38. Tudi v vinih sorte sauvignon smo pri določenih parametrih ugotovili vpliv ali časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB. Vsebnosti izoamil alkohola, etil laktata, diacetila in acetoina so bile večje pri koinokulacijah MKB, medtem ko so bile vsebnosti etil acetata in acetaldehida manjše v primerjavi z inokulacijo. Vpliv dodane starterske

kulture MKB smo opazili pri vsebnostih izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola, metanola, etil laktata, acetaldehida, diacetila in acetoina. Vzrok za to je bil tudi količina razgrajenje jabolčne kisline med posamezno vinifikacijo. V vinu kontrolne vinifikacije smo določili največje vsebnosti 1-propanola, metanola, acetaldehida ter najmanj etil laktata v primerjavi z ostalimi petimi vini. V vinu, pridelanem z vinifikacijo PS, smo ugotovili največje vsebnosti izoamil alkohola, 2-fenil etanola, izoamil acetata, etil acetata, 2-fenil etil acetata, ter najmanj etil laktata, acetaldehida, diacetila in acetoina. Vsebnosti posameznih spojin iz poskusov v manjši in večji prostornini niso bile tako primerljive kot pri sorti malvazija, kar lahko pripišemo hitrejšemu poteku MKF v vzorcih sauvignon, vinificiranih v manjši prostornini. V poskusu v manjši prostornini smo določili manjše vsebnosti 1-propanola in acetaldehida ter večje vsebnosti izobutanola in metanola kot v vinih iz poskusa v večji prostornini.

V preglednici 39 so prikazani rezultati analiz višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin v šestih mladih vinih laški rizling iz poskusa v manjši fermentacijski prostornini. Vsebnosti so bile bolj ali manj primerljive z vsebnostmi iz poskusa v večji prostornini. Ugotovili smo večje vsebnosti izoamil alkohola, izoamil acetata in etil acetata ter manjše vsebnosti 1-propanola kot v vinifikacijah v veliki prostornini. Pri posameznih spojinah, kjer je potekla vodena MKF, smo ugotovili vpliv časa dodatka in ali uporabljene starterske kulture MKB. V primerih koinokulacije MKB smo ugotovili večje vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola, etil laktata, etil acetata, diacetila in acetoina. Vpliv dodane starterske kulture MKB je bil značilen za vsebnosti 1-propanola, 2-fenil etanola, metanola, etil laktata, etil acetata, diacetila in acetoina. Vsebnosti diacetila so se gibale v intervalu med 0,4 in 2,7 mg/L, medtem ko so bile vsebnosti etil laktata v intervalu od 4,1 do 20,6 mg/L.

#### **4.1.4 VINIFIKACIJE PRI DVEH TEMPERATURAH V 500 mL FERMENTACIJSKI PROSTORNINI Z LETNIKOM 2004**

V poskusu letnika 2004 smo opravili tudi vinifikacije sorte malvazija v 500 mL fermentacijski prostornini pri dveh temperaturah, 20 in 14°C. Poskus smo ponovili tudi z letnikom 2005.

##### **4.1.4.1 Kemijski parametri mladih vin**

Vrednosti kemijskih parametrov mladih vin malvazija so pokazali in potrdili vpliv temperature na potek MKF tako pri vodenih kot spontani MKF. MKF je potekala hitreje pri višji temperaturi, kot smo pričakovali. Zaradi različne hitrosti razgradnje jabolčne kisline, na katero je vplivala temperatura, so bile posledično prisotne razlike v drugih parametrih pri enakih vinifikacijah. Razlike so se najbolj odražale v vrednostih vseh štirih kislinskih parametrov (pH, titrabilne in skupne kisline, pufrna kapaciteta), vsebnostih jabolčne, mlečne in citronske kisline, reducirajočih sladkorjih in heksozah. Glede na večjo prilagodljivost starterske kulture MKB2 na nižje temperature smo pričakovali razlike pri 14°C vinifikacije med uporabo MKB1 in MKB2. Razlike smo ugotovili le pri inokulacijah MKB po končani AF. Pri inokulaciji MKB2 po AF smo določili večje vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, hlapnih kislin, mlečne in citronske kisline ter skupnega ekstrakta.

Rezultati analiz vzorcev vinificiranih pri temperaturah 20 in 14°C so prikazani v preglednici 40. Pri višji temperaturi je MKF, tako spontana kot vodena, potekala hitreje, zato smo določili večje vrednosti naslednjih parametrov: pH, titrabilnih in skupnih kislin, pufrne kapacitete in mlečne kisline. Iz istega razloga so bile vsebnosti jabolčne in citronske kisline, reducirajočih sladkorjev ter posameznih heksoz manjše kot v vzorcih vinificiranih pri nižji temperaturi. Pri 20°C smo določili v vzorcih večje vsebnosti glicerola medtem ko so bile vsebnosti skupnih fenolov manjše v primerjavi z vzorci, vinificiranimi pri 14°C. Zakonitosti vpliva časa in vrste inokuliranih starterskih kultur MKB v vzorcih znotraj posamezne temperature so bile primerljive kot v predhodnih poskusih.

**Preglednica 40: Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2004 pri temperaturi 20 in 14°C vinifikacije v 500 mL fermentacijski prostornini**

Table 40: Chemical parameters of young Malvasia wines, vintage 2004, at temperatures 20 and 14°C of vinification in 500 mL fermentation volume

Parameter (enota)	20°C				
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2
pH	3,34±0,00	3,55±0,00	3,54±0,00	3,47±0,00	3,47±0,00
TK1 (g/L)	7,13±0,09	5,40±0,14	5,39±0,14	5,79±0,14	5,55±0,06
TK2 (g/L)	7,50±0,13	5,85±0,19	5,81±0,20	6,15±0,19	5,89±0,09
PK (mmol/L na pH)	54,00±0,09	57,40±0,14	57,24±0,15	56,11±0,14	56,08±0,08
HK (g/L)	0,53±0,05	0,77±0,03	0,69±0,04	0,73±0,09	0,67±0,08
VK (g/L)	0,98±0,04	0,96±0,06	0,90±0,04	0,95±0,07	0,94±0,05
JBK (g/L)	0,87±0,08	0,00	0,00	0,33±0,14	0,37±0,17
MK (g/L)	4,73±0,09	4,98±0,13	4,93±0,15	4,89±0,11	4,91±0,09
CK (mg/L)	79±9	0	0	0	0
JK (mg/L)	0	0	0	0	0
ŠK (mg/L)	60±1	59±1	58±1	58±1	57±2
RS (g/L)	0,58±0,15	0,43±0,13	0,55±0,18	0,87±0,30	0,75±0,33
SE (g/L)	18,0±0,3	19,7±0,3	19,5±0,2	16,4±0,1	16,0±0,2
alkohol (vol.%)	11,69±0,09	11,58±0,04	11,62±0,05	11,44±0,03	11,43±0,01
glukoza (g/L)	0,74±0,10	0,65±0,08	0,64±0,11	0,61±0,07	0,62±0,08
fruktoza (g/L)	0,58±0,13	0,39±0,09	0,40±0,11	0,45±0,13	0,46±0,11
saharozna (g/L)	0,29±0,04	0,26±0,05	0,23±0,05	0,24±0,04	0,23±0,05
glicerol (g/L)	6,47±0,06	6,50±0,08	6,43±0,05	6,37±0,09	6,39±0,08
SF (mg/L)	108±3	99±5	96±4	90±3	93±4
FAN (mg N/L)	6±1	5±1	5±1	6±1	5±1
Parameter (enota)	14°C				
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2
pH	3,31±0,01	3,45±0,00	3,43±0,02	3,39±0,03	3,38±0,01
TK1 (g/L)	7,01±0,04	5,26±0,14	5,26±0,08	6,03±0,16	6,40±0,05
TK2 (g/L)	7,40±0,06	5,66±0,22	5,59±0,14	6,48±0,31	6,75±0,06
PK (mmol/L na pH)	53,52±0,08	55,79±0,16	55,46±0,11	54,82±0,29	54,65±0,12
HK (g/L)	0,62±0,08	0,74±0,04	0,68±0,05	0,68±0,02	0,73±0,05
VK (g/L)	0,96±0,07	0,92±0,05	0,91±0,09	0,96±0,04	0,93±0,04
JBK (g/L)	0,96±0,11	0,38±0,08	0,40±0,18	0,86±0,22	0,84±0,12
MK (g/L)	4,59±0,14	4,80±0,10	4,75±0,15	4,66±0,21	4,73±0,12
CK (mg/L)	103±13	0	36±15	62±18	40±9
JK (mg/L)	0	0	0	0	0
ŠK (mg/L)	59±1	59±1	60±1	59±1	58±1
RS (g/L)	0,82±0,20	0,71±0,17	0,67±0,14	0,83±0,15	0,78±0,18
SE (g/L)	18,1±0,2	20,0±0,1	20,3±0,1	15,3±0,2	15,8±0,2
alkohol (vol.%)	11,64±0,04	11,53±0,06	11,53±0,11	11,33±0,15	11,35±0,19
glukoza (g/L)	0,77±0,11	0,72±0,09	0,74±0,14	0,72±0,17	0,74±0,12
fruktoza (g/L)	0,76±0,14	0,58±0,11	0,63±0,15	0,72±0,18	0,73±0,12
saharozna (g/L)	0,26±0,05	0,24±0,05	0,21±0,07	0,23±0,08	0,22±0,04
glicerol (g/L)	6,38±0,06	6,42±0,04	6,32±0,03	6,30±0,04	6,32±0,07
SF (mg/L)	116±4	105±4	107±3	104±3	107±4
FAN (mg N/L)	6±1	5±1	5±1	6±1	5±1

#### 4.1.4.2 Hlapne spojine v mladih vinih

Potek vinifikacij sorte malvazija letnika 2004 pri različnih temperaturah je posledično vplival tudi na vsebnosti višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin, ki so prikazane v preglednici 41. Vpliv temperature na vsebnosti spojin je bil posreden, saj je temperatura vplivala na potek metabolizma kvasovk in MKB ter hitrost kemijskih reakcij. Zakonitosti vpliva časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB znotraj posamezne temperature so bile primerljive z ugotovitvami v predhodnih poskusih.

Primerjava povprečnih vsebnosti hlapnih spojin vseh petih vinifikacij pri temperaturi 20°C je pokazala v primerjavi z vinifikacijami pri 14°C večje vsebnosti 1-propanola (48>32 mg/L), metanola (81>75 mg/L), etil laktata (5,5>3,4 mg/L), metil laktata (1,2>0,0 mg/L), izoamil acetata (1,1>0,7 mg/L), etil acetata (22>15 mg/L) in acetaldehida (65>35 mg/L). Nasprotno smo pri temperaturi 14°C določili večje vsebnosti izoamil alkohola (188>179 mg/L), izobutanola (23>18 mg/L), 2-fenil etanola (16>11 mg/L), 2-fenil etilacetata (0,8>0,2 mg/L), diacetila (1,8>1,4 mg/L) in acetoina (3,2>3,0 mg/L).

#### Preglednica 41: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2004 pri temperaturah 20 in 14°C vinifikacije v 500 mL fermentacijski prostornini

Table 41: Content of volatile compounds in young Malvasia wines, vintage 2004, at temperatures 20 and 14°C of vinification in 500 mL fermentation volume

spojina (mg/L)	20°C				
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2
izoamil alkohol	182,2±3,4	190,6±3,9	150,9±2,9	169,2±3,6	201,3±4,1
1-propanol	46,1±2,1	44,0±2,5	50,1±1,9	46,2±2,3	52,6±2,8
izobutanol	21,4±2,4	19,2±2,1	13,6±2,8	16,2±2,3	19,5±2,5
2-fenil etanol	11,9±1,9	9,7±2,2	9,5±2,4	7,5±1,8	14,5±1,9
metanol	85,9±2,7	86,2±2,3	68,7±3,4	78,8±2,2	86,5±3,2
etil laktat	7,6±0,8	2,7±0,6	5,8±0,8	3,4±0,9	8,1±1,0
metil laktat	0,0	2,5±0,8	0,0	3,4±0,5	0,0
izoamil acetat	0,7±0,5	1,4±0,4	1,2±0,4	1,3±0,2	0,8±0,4
etil acetat	16,7±0,9	30,1±1,4	19,4±1,1	24,5±0,8	19,4±0,9
acetaldehid	65,2±2,6	68,1±2,9	74,7±2,2	54,3±2,5	63,6±1,9
2-fenil etilacetat	0,9±0,4	0,0	0,0	0,0	0,0
diacetil	1,2±0,2	0,4±0,2	0,7±0,1	2,1±0,2	2,6±0,2
acetoin	2,9±0,3	2,5±0,3	2,1±0,2	3,9±0,3	3,4±0,3
spojina (mg/L)	14°C				
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2
izoamil alkohol	206,1±2,9	221,9±3,1	161,0±3,6	163,3±2,4	186,1±2,8
1-propanol	37,3±1,9	26,3±1,5	33,3±2,1	25,9±1,7	37,2±2,1
izobutanol	24,1±2,1	42,7±2,8	16,2±1,8	12,5±2,1	19,1±2,3
2-fenil etanol	18,7±2,1	26,6±1,9	15,4±1,7	7,6±3,5	11,4±1,8
metanol	95,3±1,8	52,9±2,0	79,7±1,7	61,2±2,2	86,6±1,9
etil laktat	4,6±0,5	1,1±0,5	3,7±0,4	2,2±0,7	5,6±0,4
metil laktat	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
izoamil acetat	0,4±0,2	0,7±0,2	0,8±0,2	0,7±0,3	0,7±0,1
etil acetat	11,5±0,7	15,0±0,9	14,2±0,6	14,0±0,6	18,4±1,0
acetaldehid	42,4±1,9	34,6±1,6	37,0±2,0	29,7±1,5	30,1±1,7
2-fenil etilacetat	3,8±0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
diacetil	1,3±0,1	0,6±0,1	0,8±0,1	2,9±0,2	3,2±0,2
acetoin	3,6±0,3	2,9±0,1	2,7±0,2	3,5±0,2	3,2±0,1

## 4.2 VINIFIKACIJE Z LETNIKOM 2005

V letniku 2005 smo ponovili mikrovinifikacijski poskus štirih sort v 28 L fermentacijski prostornini. Za vsako sorto smo uporabili šest načinov vinifikacije. V primerjavi s poskusom z letnikom 2004 smo pri letniku 2005 dodatno izvedli spontano vinifikacijo, torej brez dodatka starterskih kultur kvasovk in MKB ter prehranskih sredstev. Za dodatno vinifikacijo smo se odločili zaradi spremljanja rasti kvasovk in MKB. Med 42-dnevnimi vinifikacijami smo spremljali vsebnosti organskih kislin, sladkorjev, glicerola, hlapnih kislin in vrednost pH. V mladih vinih smo, kot v moštih, opravili analize kemijskih parametrov ter hlapnih spojin. Vzorce vin smo ponovno analizirali po dvomesečnem zorenju. V poskusu z letnikom 2005 smo med vinifikacijami dodatno spremljali vsebnosti prostih 21 AK ter rast kvasovk in MKB.

### 4.2.1 KEMIJSKI PARAMETRI MOŠTOV LETNIKA 2005

**Preglednica 42: Kemijski parametri moštov letnika 2005**

Table 42: Chemical parameters of grape musts for 2005 vintage

Parameter (enota)	CH	MLV	SAU	LR +	Značilnost
pH	3,37 b	3,42 a	3,22 c	3,13 d	***
TK1 (g/L)	6,48 b	5,79 c	6,55 b	7,04 a	***
TK2 (g/L)	6,76 b	6,05 c	6,77 b	7,28 a	***
PK (mmol/L na pH)	46,48 b	47,52 a	38,99 c	32,39 d	***
HK (g/L)	0,16 a,b	0,12 b	0,14 b	0,20 a	nz
VK (g/L)	1,11 b	1,12 b	1,10 b	1,19 a	**
JBK (g/L)	2,13 c	1,95 d	2,29 a	2,23 b	***
MK (g/L)	0,28 c	0,53 a	0,31 b	0,24 d	***
CK (mg/L)	419 c	479 a	457 b	368 d	***
JK (mg/L)	123 c	123 c	301 a	175 b	***
ŠK (mg/L)	30 b	32 a	25 c	12 d	***
sladkor (°Oe)	84 a	82 b	77 c	84 a	***
glukoza (g/L)	94,62 a	91,57 b	85,25 d	91,46 c	***
fruktoza (g/L)	97,38 a	95,88 b	88,72 d	95,47 c	***
saharoza (g/L)	0,53 b	0,44 c	0,46 c	0,77 a	***
SF (mg/L)	230 a	230 a	219 b	144 c	***
FAN (mg N/L)	92 b	50 c	193 a	94 b	***

Legenda: + mošt je bil dosladkan; \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Preglednica 42 prikazuje vrednosti kemijskih parametrov moštov štirih sort letnika 2005. Statistična analiza je potrdila značilne razlike med mošti v vseh parametrih, razen v vsebnosti hlapnih kislin. Za letnik 2005 nismo ugotovili podobnosti med večino kemijskih parametrov v moštih iz istih vinorodnih dežel, kot je bilo to značilno za mošte letnika 2004. Pri moštih letnika 2005 so bile opazne le podobnosti v pH, pufrni kapaciteti in šikimski kislini. Izmed vseh sort je bilo grozdje chardonnay ponovno najbolj dozorelo, medtem ko smo mošt laškega rizlinga ponovno dosladkali (enako kot mošt letnika 2004) zaradi neustrezne dozorelosti grozdja. V osnovnem moštu laškega rizlinga smo določili le 69 °Oe, iz česar bi se med AF tvorilo teoretično samo 9,19 vol.% etanola.

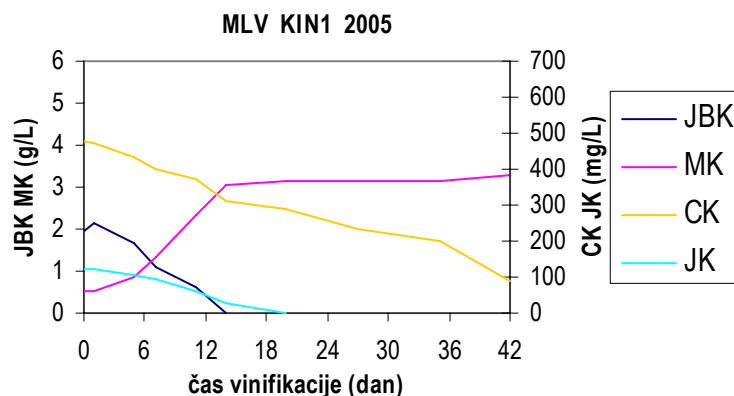
## 4.2.2 VINIFIKACIJE V 28 L FERMENTACIJSKI PROSTORNINI Z LETNIKOM 2005

### 4.2.2.1 Spremljanje organskih kislin

Med vinifikacijami štirih sort letnika 2005 smo prav tako spremljali vsebnosti organskih kislin v 28 L fermentacijski prostornini (priloge B1, B2, B3, B4). Vsled delovanja MKB med vodeno ali spontano MKF so se spreminjale vsebnosti jabolčne, mlečne, citronske in tudi jantarne kisline. Vsebnost jabolčne kisline se je zmanjševala in hkrati se je povečevala vsebnost mlečne kisline. V opazovanem obdobju so dodane starterske kulture MKB popolnoma razgradile jabolčno kislino le v koinokulacijah pri chardonnayu, koinokulacijah in inokulacijah pri malvaziji in sauvignonu. To je bilo v nasprotju s predvidevanji, saj so mošti letnika 2005 vsebovali približno polovico manj jabolčne kisline kot mošti letnika 2004. V nekaterih primerih vinifikacij so MKB popolnoma porabile tudi citronsko (CH KIN2, MLV KIN2) in jantarno kislino (vse vodene MKF CH, SAU in LR, CH SP, vse vinifikacije MLV). Poraba citronske kisline je tudi v poskusu letnika 2005 nastopila z nekajdnevnim zamikom za porabo jantarne in jabolčne kisline. Po 42 dneh spremljanja v večini vinifikacij ni prišlo do popolne razgradnje citronske kisline, kar je bila velika razlika v primerjavi s poskusom letnika 2004. Vsebnosti omenjenih organskih kislin so bile tudi pri poskusu letnika 2005 odvisne od vinifikacije in dejavnikov MKF mošta posamezne sorte. Sama aktivnost MKB ni vplivala na vsebnosti vinske in šikimske kisline. Vsebnost vinske kisline se je v vseh primerih zmanjšala, predvsem na račun nastanka kalijevega hidrogentartrata. Kot smo ugotovili pri poskusu letnika 2004, se je vsebnost šikimske kisline med vinifikacijami povečala tudi v vzorcih letnika 2005.

Pri spremljanju vsebnosti organskih kislin med šestimi vinifikacijami sorte chardonnay (priloga B1) smo opazili, da se je v opazovanem obdobju jabolčna kislina popolnoma razgradila le pri koinokulacijah MKB. Pri inokulacijah MKB in spontani vinifikaciji, kjer je potekla spontana MKF, se razgradnja ni zaključila. Pri kontrolni vinifikaciji je bil potek spontane MKF najpočasnejši. Nepopolna razgradnja jabolčne kisline nas je presenetila, saj je mošt chardonnay letnika 2005 vseboval manj jabolčne kisline, 2,13 g/L, kot mošt letnika 2004, kjer so se vodene MKF končale najkasneje v 36 dneh. Pri vodenih MKF letnika 2005 smo opazili majhno povečanje vsebnosti jabolčne kisline pred začetkom zmanjševanja njene vsebnosti, ki pa je bilo v primerjavi z letnikom 2004 bolj opazno. Najverjetnejši razlog je povečanje vsebnosti zaradi tvorbe med ciklom trikarboksilnih kislin. Pri vodenih MKF vinifikacijah se je pri koinokulaciji MKB2 razgradnja jabolčne kisline zaključila v 9 dneh, medtem ko se je pri koinokulaciji MKB1 v 14 dneh, kar je bilo prej kot pri letniku 2004. Nasprotno smo pri inokulaciji MKB1 opazili veliko hitrejši začetek in potek MKF kot pri inokulaciji MKB2, kjer je razgradnja jabolčne kisline potekla zelo počasi. Potek MKF pri inokulaciji MKB1 je bil počasnejši kot pri koinokulaciji MKB2. Tako so se vsebnosti jabolčne in mlečne kisline v mladih vinih chardonnay letnika 2005 zelo razlikovale. V primerih popolne razgradnje jabolčne kisline, je mlado vino vsebovalo 3,61 oz. 3,81 g/L mlečne kisline (preglednica 47).

Pri vodenih MKF je prišlo do popolne porabe citronske kisline le pri koinokulaciji MKB2, medtem ko se je jantarna kislina popolnoma porabila v vseh štirih vodenih MKF. Razgradnja citronske kisline je z nekaj dnevnim zamikom sledila razgradnji jabolčne kisline. Tudi v primeru KIN2 smo opazili nekajdnevni zamik razgradnje citronske kisline, vendar se je hitrost razgradnje upočasnila, ko se je zaključila razgradnja jabolčne kisline. Pri inokulaciji MKB2 smo opazili začetek razgradnje citronske in jantarne kisline ter nastanek mlečne kisline, vendar se vsebnost jabolčne kisline pri tem ni bistveno zmanjšala. Razlog je bil najverjetneje v tvorbi jabolčne kisline v ciklu trikarboksilnih kislin. V mladih vinih sorte chardonnay, kjer je potekla vodena MKF, smo določili citronsko kislino v intervalu med 0 in 267 mg/L. Razgradnja jantarne kisline je bila pri koinokulacijah MKB končana sočasno z razgradnjo jabolčne kisline, medtem ko je bila pri inokulacijah MKB zaključena 16. oz. 12. dan po dodatku MKB.



Slika 21: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijo KIN1 vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

Figure 21: Contents of organic acids during vinification KIN1 of Malvasia, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Pri sorti malvazija (priloga B2, slika 21) se je razgradnja jabolčne kisline popolnoma zaključila v vseh štirih primerih vodenih MKF in spontane MKF pri kontrolni vinifikaciji. Le pri spontani MKF vinifikaciji SP v obravnavanem času ni prišlo do zaključka razgradnje jabolčne kisline. Vsebnost jabolčne kisline v moštu je bila z 1,95 g/L (preglednica 42). Tudi v vseh vodenih MKF smo opazili pred zmanjševanjem jabolčne kisline majhno povečanje njene vsebnosti, enako kot pri vinifikacijah chardonnay. Primerjava zaključka razgradnje jabolčne kisline pri koinokulacijah MKB 14. dan ni pokazala razlik. Opazili smo razlike v dokončanju razgradnje jabolčne kisline pri inokulacijah MKB v vino. Pri IN1 se je razgradnja končala v 7 dneh po inokulaciji MKB, pri IN2 pa v 10. Začetek poteka MKF smo opazili dan prej pri inokulaciji MKB1 kot MKB2. Pri inokulaciji MKB1 je MKF potekala hitreje kot pri inokulaciji MKB2. Mlada vina so v primerih vodenih MKF vsebovala od 3,19 do 3,42 g/L mlečne kisline (preglednica 49), medtem ko smo jo v primeru spontanih MKF določili 3,32 (KON) in 2,62 g/L (SP). Pri sorti malvazija je spontana MKF stekla hitreje v primeru pri vinifikaciji KON kot SP. Mošt malvazija je vseboval več citronske kisline in manj jabolčne kisline kot mošt chardonnay. Popolno porabo citronske kisline smo ugotovili le pri koinokulaciji MKB2. Vsa ostala mlada vina malvazija so vsebovala od 67 do 251 mg/L citronske kisline. V poskusu letnika 2004 so MKB popolnoma porabile citrsko kislino v vseh petih primerih vinifikacije, venar je mošt vseboval veliko več jabolčne kisline. Razgradnja citronske kisline v letniku 2005 je z nekajdnevnim zamikom sledila razgradnji jabolčne kisline tudi med vinifikacijami malvazije. Pri inokulacijah MKB smo ponovno opazili nekajdnevni zamik razgradnje citronske kisline za razgradnjo jabolčne kisline, vendar se je hitrost razgradnje citronske kisline upočasnila, ko je bila razgradnja jabolčne kisline končana. Popolno porabo jantarne kisline smo opazili pri vseh šestih vinifikacijah sorte malvazija. V primerjavi s porabo citronske kisline je bila poraba jantarne kisline hitreje zaključena. V večini vinifikacij sorte malvazija, razen pri KIN1 in SP, je sovpadala z zaključkom razgradnje jabolčne kisline.

S spremljanjem vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami sorte sauvignon letnika 2005 (priloga B3), smo pri vodenih MKF ugotovili popolno razgradnjo jabolčne kisline v 28 do 35 dneh. Motenj pri poteku vodenih MKF nismo opazili. V primeru kontrolne vinifikacije smo opazili počasen začetek poteka spontane MKF 20. dan vinifikacije. Pri vinifikaciji SP smo opazili nekoliko hitrejši, vendar kljub temu počasen potek spontane MKF že 7. dan. Primerjava obeh koinokulacij MKB je pokazala hitrejši potek in zaključek MKF pri KIN2 v 28 dneh, torej 7 dni prej kot pri KIN1. V obeh koinokulacijah MKB smo ponovno opazili opazno povečanje vsebnosti jabolčne kisline. Primerjava inokulacij MKB po končani AF ni pokazala časovnih razlik v dokončanju razgradnje jabolčne kisline. Pri obeh inokulacijah MKB se je vodena MKF zaključila 22. dan po dodatku MKB. V mladih vinih sauvignon, kjer je potekala vodena MKF, smo določili od 3,23 do 3,87 g/L mlečne kisline, več pri koinokulacijah kot inokulacijah MKB (preglednica 51).

Navkljub nekajdnevnu zamiku razgradnje citronske kisline za jabolčno kislino, smo v vseh mladih vinih po 42 dneh vinifikacij določili od 56 do 450 mg/L citronske kisline, podobno kot pri poskusu letnika 2004. Do preostanka citronske kisline v vini letnika 2004 je bolj verjetno prišlo zaradi motenj pri poteku MKF. V vsebnosti citronske kisline v moštih sauvignon obeh letnikov nismo opazili večjih razlik. V moštu sauvignon smo med vsemi mošti letnika 2005 določili največ jantarne kisline, 301 g/L. Razen pri vinifikaciji IN1, je bila razgradnja jantarne kisline v primerih vodene MKF končana sedem dni pred zaključkom razgradnje jabolčne kisline.

Mošt sorte laški rizling je imel med vsemi mošti letnika 2005 najmanj primerne parametre za izvedbo MKF. Zakasnitev začetka MKF pri koinokulacijah MKB in majhne hitrosti MKF pri koinokulacijah in inokulacijah MKB lahko pripišemo nizkemu pH (3,13) in visoki vsebnosti titrabilnih kislin (7,04 g/L) (preglednica 42). Tako se v nobeni od šestih vinifikacij razgradnja jabolčne kisline ni zaključila v opazovanem obdobju. Do pojava spontane MKF je prišlo tudi pri vinifikacijah KON in SP, vendar šele zadnje dni vinifikacije, predvsem pri SP. Presenetljivo se je razgradnja jabolčne kisline pri koinokulacijah MKB začela šele 27. dan pri KIN1, kjer je v nadaljevanju potekala hitreje in 14. dan pri KIN2. V obeh primerih smo opazili pred začetkom razgradnje jabolčne kisline majhno povečanje njene vsebnosti, za razliko od inokulacije MKB2. Pri inokulacijah MKB po končani AF smo opazili hitrejši začetek MKF kot pri koinokulacijah MKB. Pri IN1 je bila razgradnja jabolčne kisline hitrejša kot pri IN2. Zaradi zakasnitev v začetku MKF smo v mladih vinih laškega rizlinga z vodeno MKF določili od 0,37 do 0,88 g/L preostanka jabolčne kisline (preglednica 53). Vsebnosti mlečne kisline v istih vzorcih so se gibale med 2,17 in 2,95 g/L.

S potekom razgradnje jabolčne kisline je sovpadala tudi razgradnja citronske kisline, ki se ni zaključila pri nobeni vinifikaciji laškega rizlinga. V mladih vinih, kjer smo sprožili MKF, smo določili od 178 do 275 mg/L citronske kisline. Glede na njeno izhodiščno vsebnost v moštu (368 mg/L), se jo je med MKF razgradilo majhna količina. Zaradi zamikov začetka razgradnje jabolčne kisline je zaostajala tudi razgradnja jantarne kisline. Pri vodenih MKF je bila razgradnja jantarne kisline zaključena prej v primerih inokulacije MKB (med 14. in 16. dnem) kot koinokulacije (med 29. in 36. dnem), kar je bilo skladno s potekom razgradnje jabolčne kisline.

Pri vinifikacijah štirih sort so se vsebnosti vinske kisline med vinifikacijo zmanjšale, enako kot pri poskusu z letnikom 2004. Vzrok ni bilo delovanje MKB, temveč tvorba kalijevega hidrogenatratata. Grozdje in mošt letnika 2005 so vsebovali več vinske kisline v primerjavi z letnikom 2004, zato smo opazili tudi večje zmanjšanje vinske kisline. Iz začetne vsebnosti v moštu chardonnay 1,11 g/L se je njena vsebnost zmanjšala v odvisnosti od vinifikacije na 0,41-0,54 g/L v mladih vinih (preglednica 47). V povprečju se je pri vseh šestih vinifikacijah zmanjšala za 0,62 g/L. Mošt malvazija je vseboval 1,12 g/L vinske kisline, mlada vina pa od 0,42 do 0,55 g/L (preglednica 49), v povprečju za 0,64 g/L manj. Mošt sauvignon je vseboval 1,10 g/L vinske kisline, kar je bila presenetljivo zelo primerljiva vsebnost s predhodnima sortama, saj smo pričakovali večje vsebnosti te kisline. Mlada vina so jo po 42 dnevih vsebovala od 0,67 do 0,86 g/L (preglednica 51), kar pa je bilo več kot pri mladih vinih sort iz vinorodnega okoliša Koper. Pri sauvignonu se je vsebnost vinske kisline v povprečju pri vseh šestih vinifikacijah zmanjšala za 0,30 g/L. Mošt laškega rizlinga letnika 2005 je vseboval največ vinske kisline, 1,19 g/L, vendar je bila vsebnost še vedno primerljiva z vsebnostjo v moštih preostalih treh sort. Mlada vina sorte laški rizling so vsebovala od 0,67 do 0,87 g/L vinske kisline (preglednica 53), kar je bilo primerljivo z vini sauvignon. Vsebnosti so se v povprečju zmanjšale za 0,40 g/L. Tudi v poskusu letnika 2005 nismo opazili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na zmanjšanje vinske kisline. To je bil dokaz nedelovanja MKB kvarljivcev kljub visokemu pH, predvsem pri sortah chardonnay in malvazija. Z izjemo sorte sauvignon smo med vinifikacijami poskusa z letnikom 2005 ugotovili večje zmanjšanje vsebnosti vinske kisline kot pri poskusu z letnikom 2004.



Vsebnosti šikimske kisline so se med vinifikacijami vseh sort enakomerno povečevale, odvisno od sorte. Tako kot je bila vsebnost šikimske kisline večja v moštih iz vinorodne dežele Primorska, so tudi mlada vin iz tega področja vsebovala več šikimske kisline kot mlada vina iz Podravja. Pri sorti chardonnay se je vsebnost šikimske kisline povečala v povprečju za 34 %, saj smo jo v mladih vinih določili v ozkem intervalu med 40 in 41 mg/L (preglednica 47). Pri sorti malvazija smo opazili 44 % povečanje vsebnosti šikimske kisline in smo jo v vseh šestih vzorcih vin določili v vsebnosti 46 mg/L (preglednica 49), največ med vsemi sortami. Vsebnosti šikimske kisline so bile v moštih iz vinorodne dežele Podravje manjše, izstopal je laški rizling. V mladih vinih sauvignon je bila šikimska kislina prisotna v vsebnostih od 29 do 31 mg/L (preglednica 51) in pri laškem rizlingu od 19 do 21 mg/L (preglednica 53). V mladih vinih sauvignon smo opazili 21 % povprečno povečanje šikimske kisline, pri laškem rizlingu pa kar 65 %. Tudi v poskusu letnika 2005 nismo opazili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na povečanje vsebnosti šikimske kisline. Z izjemo sorte sauvignon smo med vinifikacijami poskusa z letnikom 2005 ugotovili večje povečanje vsebnosti šikimske kisline kot pri poskusu z letnikom 2004.

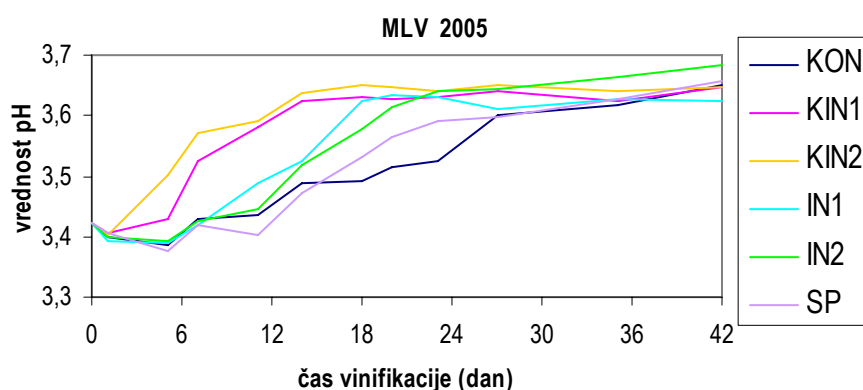
#### 4.2.2.2 Spremljanje pH

Spremembe vrednosti pH (priloga B5), so bile povezane s potekom MKF, torej z razgradnjo jabolčne kisline. Vrednost pH se je pričakovano povečala. Delno se je vrednost pH povečala tudi zaradi zmanjševanju vsebnosti vinske kisline zaradi nastanka kalijevega hidrogenatratata, pa tudi zaradi zmanjševanja vsebnosti ostalih organskih kislin (citronske in jantarne kisline).

Primerjava sprememb pH pri posameznih vinifikacijah sorte chardonnay (priloga B5) je pokazala razlike med koinokulacijo in inokulacijo MKB. Pri obeh koinokulacijah MKB smo opazili hitro naraščanje pH od 3. dne dalje, kar je sovpadalo z začetkom razgradnje jabolčne kisline. Ko se je končala razgradnja jabolčne kisline v primeru vinifikacije KIN2 (9. dan) se je strmo povečanje prenehalo. Pri KIN1 smo to opazili 14. dan. V nadaljevanju se je pH sicer še malo povečal pri obeh koinokulacijah MKB. Pri inokulacijah MKB smo opazili tudi nepričakovano strmo povečevanje pH že 3. dan, ki pa se je končalo 9. dan, ko smo izmerili vrednosti 3,52 (IN1) in 3,51 (IN2). V nadaljevanju, sploh od 14. dne dalje, ko smo inokulirali MKB, se je pH počasi in konstantno povečeval. Od 29. dne dalje smo opazili bolj strmo povečanje vrednosti, sploh pri vinifikaciji IN1. Do 29. dne je potek vrednosti pH v primerih inokulacij MKB sledil dinamiki vrednosti pH pri kontrolni vinifikaciji. Pri spontani vinifikaciji je bilo opaziti počasno povečevanje vrednosti pH do 6. dne, nato se je začela vrednost strmo dvigati, vendar ne tako kot pri vodenih MKF. V nadaljevanju se je naraščanje vrednosti zmanjšalo 14. in 25. dan opazovanja. Iz začetne vrednosti pH mošta chardonnay 3,37, smo v mladih vinih, kjer je potekala vodena MKF, izmerili naslednje vrednosti: 3,74 pri KIN1 in KIN2, 3,72 pri IN1 in 3,62 pri IN2. Zaradi počasnega začetka in poteka MKF pri ostalih dveh vinifikacijah, smo izmerili vrednosti 3,57 (KON) in 3,69 (SP). V primeru popolne razgradnje jabolčne kisline pri vinifikacijah sorte chardonnay letnika 2005 se je vrednost pH povečala za 0,37 enote. Pri letniku 2004, ki je vseboval več jabolčne kisline smo ugotovili povečanje vrednosti pH za 0,35 enote. Končne vrednosti pH v mladih vinih chardonnay, kjer je potekala MKF, so bile tudi pri letniku 2005 zelo visoke in nevarne za pojav kvarljivcev.

Tudi pri spremljanju vrednosti pH med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 (slika 22, priloga B5), smo ugotovili razlike. Pri vseh vinifikacijah smo na začetku opazili manjše zmanjšanje pH. pH se je iz začetne vrednosti 3,42, znižal po prvem dnevu na vrednosti med 3,39 in 3,42. Pri spontani vinifikaciji je zmanjševanje trajalo najdlje, do 5. dne. V nadaljevanju so bile opazne razlike med koinokulacijo in inokulacijo MKB ter ostalih dveh vinifikacij. Pri koinokulacijah MKB je razgradnja jabolčne kisline potekala med 1. in 14. dnem in v tem obdobju se je pH večal. 14. dan vinifikacije je dosegel skoraj končno vrednost. Pri inokulacijah MKB se je pH začel povečevati že 5. dan vinifikacije, še pred dodatkom starterske kulture MKB. Tako smo 14. dan vinifikacije oz. prvi dan po

dodatku MKB izmerili vrednosti 3,53 (IN1) in 3,52 (IN2). V nadaljevanju smo pri vinifikaciji IN1 opazili bolj strmo povečanje pH kot pri KIN2, kar je sovpadalo z razgradnjo jabolčne kisline med posamezno vinifikacijo. V mladih vinih sorte malvazija letnika 2005 smo pri vodenih MKF določili vrednosti pH: 3,65 (KIN1, KIN2), 3,63 (IN1) in 3,68 (IN2) (preglednica 49). Razgradnja jabolčne kisline je bila zaključena ali skoraj zaključena tudi pri ostalih dveh vinifikacijah, kjer je potekla spontana MKF in smo izmerili pH 3,62. Med posameznimi vrednosti pH smo ugotovili statistično visoko značilno razliko, h kateri je največ prispevala nepopolna MKF pri spontani vinifikaciji. V povprečju se je pH med vinifikacijami z vodeno MKF povečal za 0,23 enote, kar je manj kot pri poskusu letnika 2004. V primerjavi z mladimi vini sorte chardonnay, katere mošt je vseboval več jabolčne kisline, je bilo povečanje pH pri malvaziji manjše. Kot pri chardonnayu so bile tudi v mladih vinih malvazija razmere glede pH ustrezne za delovanje kvarljivcev ob neprimerni zaščiti vina.



**Slika 22: Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Figure 22: pH values during vinification of Malvasia, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami sorte sauvignon (priloga B5) je pokazalo razgibano dinamiko. Pri vseh vinifikacijah se je pH prvi dan povečal in se nato zmanjšal na vrednosti v intervalu med 3,16 in 3,22. Od 2. do 9. dne smo opazili pri vseh vinifikacijah, razen pri spontani (3,29), povečanje pH na vrednosti med 3,34 do 3,38. Enaka opažanja so bila značilna tudi za poskus vinifikacij sorte sauvignon letnika 2004. V primeru KIN2 se je pH še naprej povečeval, medtem ko je pri KIN1 ostal konstanten do 21. dne in nato, do 35. dne dalje, se je začel strmo povečevati. Pri inokulacijah MKB po AF smo opazili povečevanje pH šele po 15 dneh od inokulacije. Gibanje vrednosti pH pri posamezni vinifikaciji je sledilo razgradnji jabolčne kisline. Končne vrednosti pH v mladih vinih sorte sauvignon, kjer smo izvajali vodeno MKF so bile naslednje: 3,51 (KIN1, KIN2), 3,50 (IN1) in 3,51 (IN2) (preglednica 51). Zaradi nepopolne razgradnje jabolčne kisline, smo pri kontrolni vinifikaciji izmerili pH 3,30 in pri spontani 3,44, saj je razgradnja jabolčne kisline v tem primeru bolj napredovala. Pri vodenih MKF sorte sauvignon se je med vinifikacijami pH povečal povprečno za 0,29 enote. Med šestimi mladimi vini je sicer ostajala statistično zelo visoko značilna razlika, vendar ne med vinifikacijami z vodenimi MKF. Končne vrednosti pH mladih vin, kjer se je razgradnja jabolčne kisline zaključila, so predstavljale mejni pH, ki je primeren za rast kvarljivcev.

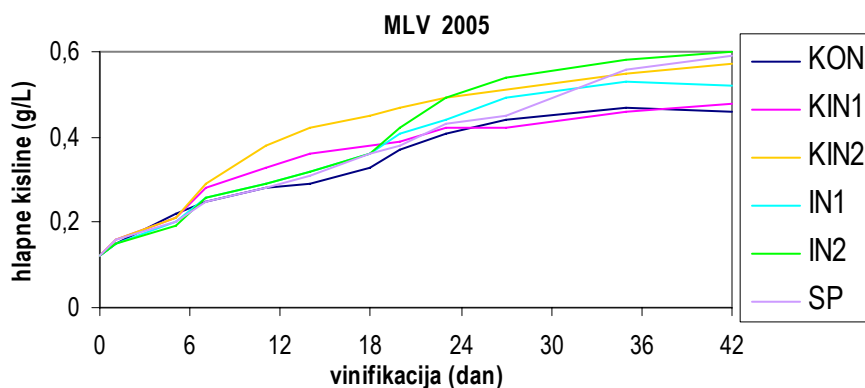
Tudi iz spremljanja vrednosti pH med vinifikacijami sorte laški rizling letnika 2005 (priloga B5) smo lahko opazili zelo razgiban potek. Podobno kot pri sauvignonih letnika 2005, je v začetku pH narasel. 6. dan opazovanja so se vrednosti pH gibale med 3,20 in 3,24. V nadaljevanju smo opazili presenetljivo zmanjšanje pH v vseh vinifikacijah, z izjemo spontane vinifikacije. To zmanjšanje se je pojavilo prej pri koinokulacijah kot inokulacijah MKB. V nadaljevanju so se vrednosti pH ponovno povečevale. To gibanje bi lahko bila posledica zamaknjene začetka MKF in povečane vsebnosti jabolčne kisline tik pred njenim začetkom zmanjševanja. Pri vodenih MKF sorte laški rizling je bila razgradnja jabolčne različna ob koncu 42-dnevnega spremljanja. Končne vrednosti pH pri

posameznih vinifikacijah sorte laški rizling so bile (preglednica 53): 3,41 (KIN1), 3,38 (KIN2), 3,42 (IN1), 3,36 (IN2), 3,25 (KON) in 3,34 (SP). Zaradi različne količine razgrajene jabolčne kisline smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike.

#### 4.2.2.3 Spremljanje hlapnih kislin

Med vinifikacijami štirih sort letnika 2005 smo spremljali vsebnosti hlapnih kislin (priloga B6). K trendu povečevanja vsebnosti hlapnih kislin je najbolj prispevala očetna kislina, ki je tudi produkt delovanja MKB ne le kvasovk. Nastaja med metabolizmom sladkorjev in citronske kisline. Tako so bile vsebnosti hlapnih kislin med posameznimi vinifikacijami odraz aktivnosti kvasovk in tudi MKB. Največje vsebnosti hlapnih kislin smo določili in jih tudi predvideli v mladih vinih, kjer je potekala spontana vinifikacija. Najmanj hlapnih kislin so vsebovala mlada vina, kjer je potekala kontrolna vinifikacija z inokulacijo starterskih kultur kvasovk in MKB. Vsebnosti hlapnih kislin v moštih letnika 2005 so bile bolj primerljive kot v moštih letnika 2004.

Pri vinifikacijah sorte chardonnay letnika 2005 (priloga B6) je najbolj izstopalo gibanje vsebnosti hlapnih kislin pri spontani vinifikaciji. Prve tri dni se vsebnosti hlapnih kislin niso povečale. Nato smo pri koinokulacijah MKB in tudi inokulacijah opazili naraščanje vsebnosti, vendar je bilo v primerih koinokulacij MKB dolgotrajnejše. Pri inokulacijah MKB smo opazili neenakomerno povečanje vsebnosti hlapnih kislin. V mladih vinih chardonnay smo pri vodenih MKF določili naslednje vsebnosti hlapnih kislin: pri KIN1 0,41 g/L, pri KIN2 0,46 g/L, pri IN1 0,45 g/L, pri IN2 0,52 g/L, medtem ko so bile vsebnosti pri spontanih MKF 0,35 g/l pri KON in 0,78 g/L pri SP (preglednica 47). Mlada vina so se na osnovi vrednosti pH statistično zelo visoko značilno razlikovala, vendar predvsem zaradi spontanih MKF. V povprečju so se vsebnosti hlapnih kislin v primeru vodenih MKF povečale za 0,30 g/L.



Slika 23: Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

Figure 23: Contents of volatile acids during vinification of Malvasia, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Primerjava vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami sorte malvazija (slika 23, priloga B6) ni pokazala večjih odstopanj. Lahko bi rekli, da so se vsebnosti med vinifikacijami skoraj enakomerno povečevale. V mladih vinih z vodenimi in zaključenimi MKF so bile vsebnosti hlapnih kislin sledeče: pri KIN1 0,48 g/L, pri KIN2 0,57 g/L, pri IN1 0,52 g/L, pri IN2 0,60 g/L (preglednica 49). Pri kontrolni vinifikaciji smo določili 0,46 g/L, pri spontani 0,59 g/L hlapnih kislin. Med šestimi mladimi vini je na osnovi vrednosti pH obstajala statistično zelo visoko značilna razlika. Pri vodenih MKF smo v mladih vinih sorte malvazija opazili večje vsebnosti z dodatkom MKB2 kot MKB1. Torej je uporabljena starteska kultura MKB vplivala na vsebnosti hlapnih kislin. Povprečno je povečanje hlapnih kislin v primerih vodenih vinifikacij znašalo 0,42 g/L.

Tudi pri vinifikacijah sorte sauvignon letnika 2005 (priloga B6) smo kot v poskusu letnika 2004 opazili večje povečanje hlapnih kislin med AF, torej v prvih 14 dneh opazovanja. Največji trend povečevanja vsebnosti hlapnih kislin je bil ponovno opazen pri spontani vinifikaciji, enako kot pri sorti chardonnay, kar smo tudi pričakovali. Med 14. in 21. dnevom vinifikacij smo opazili bolj umirjeno povečevanje ali pa celo nespremenjeno vsebnost hlapnih kislin. V zadnjem obdobju opazovanja se je vsebnost hlapnih kislin najbolj povečala pri vinifikaciji IN2. Ob zaključku 42 dnevni vinifikacij sorte sauvignon smo v mladih vinih določili naslednje vsebnosti hlapnih kislin: 0,41 g/L pri KIN1, 0,47 g/L pri KIN2, 0,46 g/L pri IN1, 0,53 g/L pri IN2, 0,35 g/L pri KON in 0,65 g/L pri SP (preglednica 51). Povprečno se je vsebnost hlapnih kislin v primerih vodenih vinifikacij povečala za 0,33 g/L. Tudi pri mladih vinih sauvignon smo ugotovili statistično zelo visoko značilno razliko, h kateri sta najbolj prispevali vinifikaciji brez dodanih starterskih kultur MKB. Pri vodenih MKF smo opazili vpliv vrste MKB. Pri vodenih MKF smo tudi v mladih vinih sorte sauvignon, kot predhodno pri chardonnayu in malvaziji, opazili večje vsebnosti hlapnih kislin v primerih dodatka MKB2 kot MKB1.

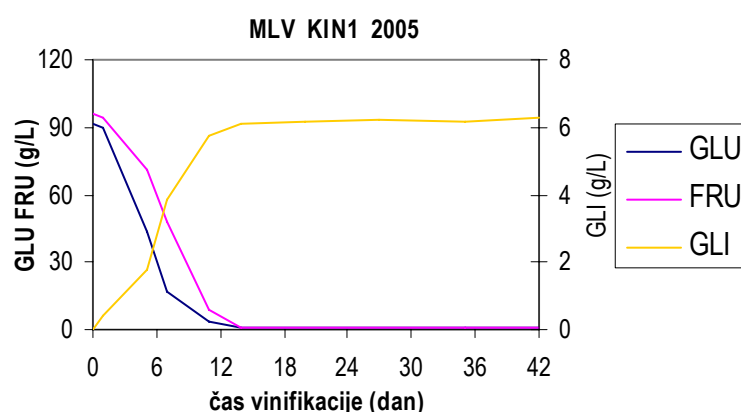
S potekom vinifikacij sorte laški rizling letnika 2005 (priloga B6) se je razlika v povečevanju vsebnosti hlapnih kislin pri posamezni vinifikaciji večala. Najmanjši trend naraščanja hlapnih kislin smo opazili pri kontrolni vinifikaciji, kjer se je spontana MKF začela počasi komaj v zadnjih dneh opazovanja. Zaradi zastojev v začetku in bolj počasnem poteku vodenih MKF smo pričakovali večje vsebnosti hlapnih kislin. Vsebnost hlapnih kislin je začela bolj strmo naraščati pri spontani vinifikaciji šele do 27. dne dalje. Po največji vsebnosti hlapnih kislin je med štirimi vodenimi MKF izstopala vinifikacija IN2, vendar je bil trend pri vseh štirih vinifikacijah vodene MKF zelo primerljiv. Končne vsebnosti hlapnih kislin v mladih vinih sorte laški rizling letnika 2005 so bile: 0,51 g/L pri KIN1, 0,56 g/L pri KIN2, 0,54 g/L pri IN1, 0,60 g/L pri IN2, 0,39 g/L pri KON in 0,77 g/L pri SP (preglednica 53). Prav tako smo v mladih vinih laški rizling ugotovili statistično zelo visoko značilno razliko v vsebnostih hlapnih kislin. Opazili smo vpliv uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost hlapnih kislin, saj so bile vsebnosti z uporabo MKB1 manjše kot z MKB2. V povprečju se je vsebnost hlapnih kislin v primeru vodenih MKF povečala za 0,35 g/L.

#### 4.2.2.4 Spremljanje sladkorjev in glicerola

Spremembe vsebnosti sladkorjev (glukoze, fruktoze, saharoze) ter glicerola smo spremljali tudi med poskusom z letnikom 2005. Največja poraba glukoze in fruktoze, prevladujočih sladkorjev grozdnega mošta, je bila pričakovano opazna v vseh primerih vinifikacije med trajanjem AF. Vsa mlada vina letnika 2005, z izjemo vin, kjer je potekala spontana vinifikacija (CH SP, MLV SP), so se glede vsebnosti reducirajočih sladkorjev uvrstila v razred suhih vin. Ponovno smo zaradi narave koriščenja sladkorjev pri kvasovkah opazili hitrejšo porabo glukoze, medtem ko so MKB hitreje porabljale fruktozo. Vsebnosti saharoze so se med vsemi vinifikacijami posameznih sort zmanjšale, kot med vinifikacijami poskusa z letnikom 2004. Vzporedno s porabo heksoz so kvasovke tvorile glicerol in povečanje njegove vsebnosti je sovpadalo z zmanjševanjem vsebnosti heksoz. Po zaključeni AF so preostanke glukoze in fruktoze izkoristile MKB kot vir energije za rast in razmnoževanje. Heterofermentativne MKB pri tem tvorijo tudi malo alkohola. In tako smo med vinifikacijo opazili drugo, sicer veliko manjše zmanjšanje vsebnosti omenjenih heksoz. Tudi pri poskusu letnika 2005 nismo med potekom vinifikacij v nobenem obravnavanem primeru, tako vodene kot spontane MKF, opazili zmanjševanja vsebnosti glicerola zaradi nezaželenega delovanja MKB kvarljivcev.

Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med šestimi vinifikacijami sorte chardonnay letnika 2005 prikazuje priloga B7. Motnje v metabolizmu sladkorjev med AF in MKF smo opazili le pri spontani vinifikaciji, pri vodenih vinifikacijah ne. Grozdni mošt chardonnay je vseboval 84 °Oe sladkorjev. Delež fruktoze med heksozama je predstavljal 50,7 % (preglednica 47). Pri vseh vinifikacijah je bilo med fazo največje porabe heksoz opaziti večjo afiniteto kvasovk do koriščenja glukoze. Do zaključka AF, ki je trajala v vseh primerih vodenih vinifikacij devet dni, je metabolizem

fruktoze zaostajal za metabolizmom glukoze, kar smo pričakovali. Primerjava poteka koriščenja heksoz pri koinokulacijah in inokulacijah MKB je pokazala hitrejši začetek porabe sladkorjev pri inokulacijah MKB, torej brez prisotnosti MKB v fermentirajočem moštu. Razmerje med glukozo in fruktozo 9. dan vinifikacije je bilo pri inokulacijah MKB manjše kot pri koinokulacijah. V vzorcih, kjer smo izvedli koinokulacijo MKB, smo določili manjše vsebnosti obeh heksoz v primerjavi z ostalimi tremi vodenimi vinifikacijami, kar kaže na aktivnost MKB. Od 17. dne dalje je bil za inokulacijo z MKB2 značilen počasnejši metabolizem sladkorjev, kar se je ujemalo s počasnim potekom razgradnje jabolčne kisline. Vsebnosti glukoze v mladih vinih z dodanimi MKB so bile od 0,46 (KIN2) do 0,86 g/L (IN2), medtem ko so bile vsebnosti fruktoze od 0,19 g/L (KIN2) do 0,94 g/L (IN2) (preglednica 47). Statistično zelo visoke razlike smo v mladih vinih ugotovili v vsebnostih glukoze in fruktoze. Zavedati se moramo, da je bila večja razlika med vzorci posledica različne količine razgrajene jabolčne kisline. Pri koinokulacijah MKB, kjer je bila razgradnja jabolčne kisline končana, smo pri KIN1 opazili večje vsebnosti obeh heksoz v primerjavi z KIN2. Primerjava vsebnosti posameznih heksoz med poskusi obeh letnikov je pokazala malo večje vsebnosti v vzorcih vodenih in dokončanih MKF v poskusu letnika 2005, kjer je bila vsebnost jabolčne kisline v moštu manjša. Pri spremljanju vsebnosti saharoze med vinifikacijami sorte chardonnay nismo opazili razlik. Vsebnost saharoze je bila konstantna prve dni vinifikacije, nato se je začela zmanjševati. Iz začetne vsebnosti, 0,53 g/L, se je zmanjšala v povprečju za 0,16 g/L, manj kot v poskusu z letnikom 2004. Vsebnosti v mladih vinih so bile zelo primerljive, saj so se nahajale v intervalu od 0,36 do 0,38 g/L (preglednica 47). Statistična obdelava podatkov vsebnosti saharoze v mladih vinih chardonnay letnika 2005 ni ugotovila razlik, ki so bile značilne za mlada vina letnika 2004. Povečevanje vsebnosti glicerola med vinifikacijami sorte chardonnay je sledilo porabi obeh heksoz. Tudi pri tvorbi glicerola nismo opazili zastojev. Konstantno vsebnost je glicerol dosegel nekaj dni prej pri koinokulaciji MKB kot inokulaciji. Končne vsebnosti glicerola v šestih mladih vinih sorte chardonnay so bile med 6,91 in 7,24 g/L (preglednica 47). Najmanj glicerola je pričakovano vseboval vzorec spontane vinifikacije, čeprav se ga zaradi počasnega in nepopolnega poteka AF navadno tvori več. Med vsebnostmi glicerola v mladih vinih smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike, vendar zaradi spontane vinifikacije. Glede na vsebnost glicerola bi lahko vsa mlada vina chardonnay letnika 2005 uvrstili v razred vrhunskih vin. Primerjava vsebnosti glicerola med poskusi z obema letnikoma je pokazala malo manjše vsebnosti v vzorcih vodenih vinifikacij v poskusu letnika 2005, kjer je bil delež sladkorjev v moštu manjši.



**Slika 24: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijo KIN1 sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Figure 24: Contents of sugars and glycerol during vinification KIN1 of Malvasia, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Potek sprememb vsebnosti sladkorjev in glicerola pri vodenih vinifikacijah sorte malvazija (priloga B8, slika 24) je bil podoben kot pri sorti chardonnay. Izjema je bila le spontana vinifikacija z dolgotrajnejšo in počasno AF. Mošt malvazija je vseboval malo manj sladkorjev kot mošt

chardonnay, 82 °Oe. Delež fruktoze je bil v moštu z 51,1 % večji kot glukoze (preglednica 49). AF je v vseh vodenih vinifikacijah sorte malvazija trajala 11 ali 14 dni. Razgradnja jabolčne kisline je bila popolna v vseh primerih vodenih MKF. Hitrejši metabolizem sladkorjev med AF smo pričakovano opazili pri vinifikacijah brez prisotnosti MKB, kar je potrdilo vpliv interakcij med kvasovkami in MKB. 14. dan opazovanja sta bila vsebnost ter razmerje med glukozo in fruktozo manjša v primerih koinokulacij MKB kot ostalih treh vodenih vinifikacij zaradi aktivnosti MKB. V mladih vinih malvazija so se vsebnosti glukoze pri vodenih MKF nahajale med 0,80 (IN1) in 1,04 g/L (KIN1), medtem ko smo največjo vsebnost, 2,54 g/L, določili pri spontani vinifikaciji (preglednica 49). Vsebnosti fruktoze so se pri vodenih MKF gibale v intervalu med 0,53 g/L (KIN1) in 0,62 g/L (IN1). Ponovno smo največjo vsebnost (5,85 g/L) določili pri spontani vinifikaciji. V mladih vinih smo ugotovili statistično zelo visoko značilno razliko v vsebnostih glukoze in fruktoze. Vendar na osnovi teh podatkov nismo mogli podati zaključkov o vplivu časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost heksoz, čeprav je bil na osnovi rezultatov statistične analize dokazan vpliv časa na vsebnost fruktoze. Primerjava vsebnosti posameznih heksoz med poskusi obeh letnikov je pokazala večje vsebnosti glukoze v vzorcih letnika 2005, medtem ko se vsebnosti fruktoze niso razlikovale.

Med potekom 42-dnevnih vinifikacij sorte malvazija letnika 2005 se je vsebnost saharoze zmanjšala. Iz začetne vsebnosti 0,44 g/L se je zmanjšala povprečno na 0,35 g/L (preglednica 49). Vsebnosti saharoze med posameznimi vzorci so bile primerljive. Začetek zmanjševanja vsebnosti saharoze smo opazili že prve dni vinifikacije. V vsebnostih saharoze v mladih vinih malvazija nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB. Primerjava vsebnosti saharoze med poskusi obeh letnikov je pokazala večje zmanjšanje v poskusu z letnikom 2004, čeprav med letniki ni bilo razlike v vsebnosti saharoze v moštih malvazija. Enako smo ugotovili tudi pri sorti chardonnay.

Spremembe vsebnosti glicerola med vinifikacijami sorte malvazije so bile zelo podobne, nepričakovano tudi pri spontani vinifikaciji. Pri koinokulacijah MKB je bila na začetku opazna počasnejša tvorba glicerola v primerjavi z inokulacijama, kar potrjuje antagonizem med kvasovkami in MKB. Konstantna vsebnost glicerola je bila dosežena nekaj dni kasneje pri koinokulacijah (20. dan) kot pri ostalih vodenih vinifikacijah (18. dan). Vsebnosti glicerola po 42 dneh vinifikacij so se v mladih vinih gibale med 5,93 (SP) in 6,31 g/L (KON) (preglednica 49). Med vsebnostmi glicerola v mladih vinih smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike, ki so bile posledica spontane vinifikacije. Glede vsebnosti glicerola bi lahko vsa mlada vina sorte malvazija vodenih vinifikacij uvrstili v vrhunski razred, saj so ga vsebovala več kot 6 g/L. Primerjava vsebnosti glicerola med poskusi obeh letnikov je pokazala malo večje vsebnosti v vzorcih letnika 2004 kot v vzorcih letnika 2005.

Kot pri spremljanju vsebnosti sladkorjev in glicerola pri sorti sauvignon v poskusu letnika 2004, smo tudi pri poskusu z letnikom 2005 (priloga B9) ugotovili bolj intenzivno AF v primerjavi s predhodnima sortama, z izjemo spontane vinifikacije. Razlog je bil najverjetneje veliko boljši prehranski status mošta sauvignon z dušikovimi spojinami, predvsem AK (priloga B13). Pri spontani vinifikaciji so bile opazne motnje in zastoji v poteku AF, enako kot pri sortah chardonnay in malvazija, vendar ne v takem obsegu. Mošt sauvignon letnika 2005 je med vsemi mošti vseboval najmanj sladkorjev, 77 °Oe, vendar največ FAN in AK. Delež fruktoze je bil tudi v tem primeru z 51,0 % večji kot glukoze. V primerih vodenih MKF je bila razgradnja jabolčne kisline popolnoma zaključena. Najbolj intenzivno je metabolizem heksoz potekal med 2. in 7. dnem vodenih vinifikacij. 7. dan smo v vzorcih vodenih vinifikacij določili manjše vsebnosti heksoz in manjše razmerje med glukozo in fruktozo pri koinokulacijah MKB, čeprav smo pri spremljanju vsebnosti organskih kislin opazili zamik razgradnje jabolčne kisline. Pri inokulaciji MKB po končani AF smo opazili tudi zamik v koriščenju heksoz, ki je bil opazen 6. dan po inokulaciji MKB. V mladih vinih sauvignon letnika 2005 smo določili glukozo v intervalu med 0,63 in 1,94 g/L (preglednica 51). Fruktozo smo določili v širšem intervalu od 0,35 do 3,14 g/L, kar kaže na vpliv delovanja MKB. Manjše vsebnosti fruktoze smo določili pri koinokulacijah MKB. Vsebnosti glukoze in fruktoze kot tudi njuno razmerje je bilo večje v primeru kontrolne in

spontane vinifikacije, kjer se je spontana MKF začela zadnje dni opazovanja. Zaradi različne količine razgrajene jabolčne kisline med vodenimi in spontanimi MKF smo ugotovili statistično zelo visoko značilno razliko tako v vsebnostih glukoze kot fruktoze. Vendar nismo mogli potrditi vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKF na vsebnost heksoz.

Pri spremljanju vsebnosti saharoze med šestimi vinifikacijami sorte sauvignon nismo opazili razlik, prav tako ne v končni vsebnosti. Vsebnost saharoze se je začela zmanjševati že prve dni vinifikacije, za razliko od poskusa letnika 2004. Iz začetne vsebnosti 0,46 g/L se je zmanjšala v povprečju za 0,15 g/L, kar je bilo manj kot v poskusu z letnikom 2004. Vsebnosti saharoze v mladih vinih so bile zelo primerljive, saj so se nahajale v intervalu med 0,27 in 0,34 g/L (preglednica 51).

Glede na intenziven in hiter potek AF med vinifikacijami sorte sauvignon letnika 2005, je bila taka tudi dinamika tvorbe glicerola. Prva dva dni opazovanja je bila sicer majhna, vendar se je to v času do 7. dne zelo spremenilo. Časovne razlike med vodenimi vinifikacijami v dosegu konstantne vsebnosti glicerola nismo opazili. Kot je bila zaključena AF v sedmih dneh, je tudi glicerol dosegel največjo vsebnost v tem obdobju. Mlada vina sauvignon letnika 2005 bi lahko na osnovi vsebnosti glicerola uvrstili v vrhunski razred, saj se je njegova vsebnost gibala med 6,10 (SP) in 6,24 g/L (IN2) (preglednica 51). Med vsebnostmi glicerola v mladih vinih smo ugotovili statistično visoko značilno razliko. Vendar vpliva časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB nismo ugotovili. Primerjava vsebnosti glicerola med poskusi obeh letnikov je pokazala večje vsebnosti v vzorcih letnika 2004, saj sta se mošta v vsebnosti sladkorjev razlikovala za 7 °Oe.

Iz primerjave spremljanja vsebnosti heksoz in glicerola med vinifikacijami sorte laški rizling letnika 2005 (priloga B10), smo zaključili, da med vodenimi vinifikacijami ni bilo večjih razlik. Izjema je bila le spontana vinifikacija, kjer je AF potekala počasneje in smo to tudi pričakovali, vendar se je zaključila 29. dan. Izmed vseh štirih primerov spontane vinifikacije, je le-ta pri sorti laški rizling potekala z najmanj motnjami.

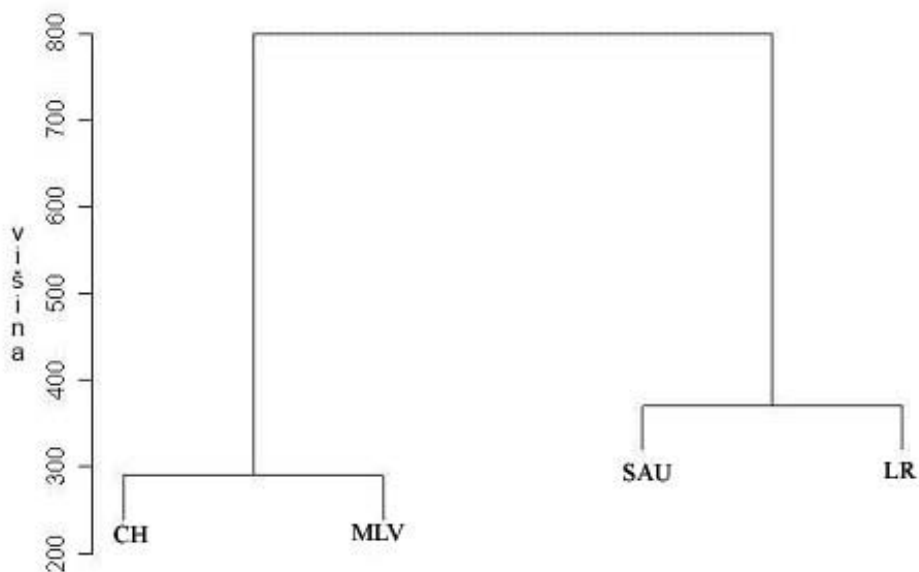
Pri vodenih vinifikacijah je bila AF končana v 14 dneh. Mošt laškega rizlinga smo dosladkali na 84 °Oe pred inokulacijo s kvasovkami. Delež fruktoze je bil tudi v tem primeru večji kot glukoze in je predstavljal 51,0 %. Potek razgradnje jabolčne kisline med vodenimi MKF je bil zakasnen. Tako smo 14. dan vinifikacije opazili zelo majhne razlike med vsebnostmi glukoze in fruktoze ter njunega razmerja pri koinokulacijah in inokulacijah MKB. Zato pa so se pokazale večje razlike v mladih vinih. Vsebnosti glukoze so se nahajale med 0,47 in 1,36 g/L, medtem ko so bile vsebnosti fruktoze med 0,23 in 1,70 g/L (preglednica 53). Večje vsebnosti smo določili pri kontrolni in spontani vinifikaciji, najmanjše pa pri koinokulacijah MKB, kjer je bila razgradnja jabolčne kisline skoraj zaključena. Zelo različna količina razgrajene jabolčne kisline je bila vzrok za statistično zelo visoko značilne razlike v vsebnostih glukoze in fruktoze.

Med potekom šestih vinifikacij sorte laški rizling letnika 2005 se je vsebnost saharoze zmanjšala za slabo tretjino. Iz začetne, največje vsebnosti med mošti letnika 2005, 0,77 g/L, se je zmanjšala povprečno za 0,24 g/L (preglednica 53), kar je bilo manj kot pri poskusu z letnikom 2004. Vsebnosti saharoze med posameznimi vzorci so bile zelo primerljive. Začetek zmanjšanja vsebnosti saharoze smo opazili 4. ali 6. dan vinifikacije. Med vsebnostmi saharoze v mladih vinih laškega rizlinga nismo ugotovili vpliv časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB.

Med vinifikacijami vodenih MKF nismo opazili razlike v poteku tvorbe glicerola. Hiter potek tvorbe glicerola se je zaključil s 14. dnem, ko se je končala AF. Vsebnosti glicerola so bile v mladih vinih med 6,21 in 6,36 g/L (preglednica 53). Med vsebnostmi glicerola smo v mladih vinih ugotovili statistično visoko značilne razlike. Vendar nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost glicerola. Na osnovi vsebnosti glicerola bi lahko tudi vsa mlada vina sorte laški rizling uvrstili v vrhunski razred. Primerjava vsebnosti glicerola med poskusi obeh letnikov je pokazala malo večje vsebnosti v vzorcih letnika 2004, čeprav sta bila mošta v poskusu z obema letnikoma dosladkana na 84 °Oe.

#### 4.2.2.5 Spremljanje aminokislin

Spremljanje vsebnosti 21 prostih AK smo dodatno vključili v poskus z letnikom 2005 v 28 L fermentacijski prostornini. V vzorcih smo določevali primarne in sekundarne AK. Med primarnimi AK smo ugotavljali vsebnosti Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, Ala, Tyr, Cys, Val, Met, Trp, Phe, Ile, Leu, Lys ter med sekundarnimi AK Hyp in Pro. V nobenemu izmed analiziranih vzorcev nismo določili Cys in Hyp. V mošt ali v delno prevret mošt vodenih vinifikacij smo dodali dve prehranski sredstvi, ki pa nasprotno od pričakovanj nista vplivali na aminokislinsko sestavo, saj v njih nismo določili prisotnosti katerekoli izmed obravnavanih AK.



Slika 25: Dendrogram moštov chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 glede na vsebnost aminokislin v moštih izdelan z uporabo programa Statistical data analysis R, metodo grupiranja Diana

Figure 25: Dendrogram of Chardonnay, Malvasia, Sauvignon and Welsh Riesling grape musts, vintage 2005, with regard to amino acids content using the software Statistical data analysis R, grouping method Diana

Med mošti je mošt sorte sauvignon vseboval največ AK, 1925 mg/L, medtem ko je mošt malvazije vseboval le 651 mg/L prostih AK. V moštu chardonnay smo določili 1248 mg/L in v laškem rizlingu 1418 mg/L prostih AK. Prehranski status z dušikovimi spojinami moštov iz vinorodne dežele Podravje je bil boljši kot moštov iz vinorodne dežele Primorska. Statistična analiza z metodo grupiranja Diana je glede na AK potrdila večjo podobnost med mošti sort sauvignon in laški rizling ter chardonnay in malvazija (slika 25). Vendar je na vsebnost AK v posameznih moštih vplivalo tudi geografsko poreklo in ne le sorta. Mošta iz istega pridelovalnega območja sta imela bolj primerljivo tako kvalitativno kot kvantitativno aminokislinsko sestavo. Kljub metabolnim procesom kvasovk in MKB so na aminokislinsko sestavo mladih vin vplivale tudi začetne razlike med mošti posameznih sort. Vina sort sauvignon in laški rizling vsebovala več najbolj zastopanih AK (Asp, Glu, Ser, Arg, Thr, Ala), z izjemo prolina kot sorti chardonnay in malvazija.

Vsebnosti AK med šestimi vinifikacijami sorte chardonnay so prikazane v prilogi B11. V moštu omenjene sorte smo določili prisotnost 16 od 21 analiziranih prostih AK. Mošt chardonnay je vseboval največ Pro (410 mg/L), ki ga kvasovke ne izkoriščajo kot vir dušika v normalnih razmerah AF. S potekom vinifikacije se je njegova vsebnost povečala, najbolj v vzorcu spontane vinifikacije, čeprav naj bi njegova vsebnost ostala nespremenjena. Druga najbolj zastopana AK v moštu je bil Arg (285 mg/L), ki so ga kvasovke in MKB koristile, saj smo v primerih vodenih vinifikacij opazili njegovo odsotnost že po 1/3 AF. V mladih vinih vodenih vinifikacij smo ponovno določili njegovo prisotnost, sicer v manjših količinah (od 2,6 do 15,4 mg/L). Razlog za to je bila najverjetneje avtoliza



kvasovk. Vsebnosti so bile večje v primerih vinifikacij z inokulacijo MKB. Tretja najbolj zastopana AK mošta chardonnay je bil Gln (133 mg/L) in je bil prav tako vključen v metabolizem prisotnih mikroorganizmov, saj smo ga v vzorcih prvega vzorčenja določili zelo malo ali nič. Ala kot naslednja najbolj zastopana AK mošta (108 mg/L) je bila tudi vključena v metabolizem kvasovk. V mladih vinih vodenih vinifikacij smo ga določili med 8,7 in 14,9 mg/L, najverjetneje zaradi avtolize kvasovk. Do Val, 5. najbolj zastopane AK mošta chardonnay (78 mg/L), kvasovke niso kazale tako velike afinitete koriščenja kot pri predhodno omenjenih AK, saj smo njegovo prisotnost določili v vseh vzorčenjih in se je njegova vsebnost v mladih vinih povečala v primerjavi s predhodnim vzorčenjem (od 17 do 22 mg/L). Mošt je vseboval v intervalu od 20 do 50 mg/L tudi AK Ser, Glu, Asn, His, Glu, Thr in Asn. V intervalu manj kot 20 mg/L smo določili prisotnost Phe, Asp, Leu, Tyr, Ile in Gly. Vse omenjene AK so bile vključene v metabolizem tako kvasovk kot MKB. Njihove vsebnosti so se med vinifikacijo spreminjale, vendar smo za večino omenjenih AK določili v mladih vinih večje vsebnosti kot v predhodnih dveh vzorčenjih, najverjetneje zaradi avtolize kvasovk. Lys je bila edina AK, ki je nismo določili v moštu, vendar je s potekom vinifikacije njena vsebnost naraščala. Delež najbolj zastopanih AK mošta Asp, Glu, Ser, Arg, Thr in Ala je v moštu predstavljal 41,8 % vseh AK. Njihov delež v vinih po 42 dnevni vinifikaciji se je gibal med 3,6 (KON) in 6,5 % (IN1). Pri inokulacijah MKB je bil njihov delež večji (6,5 % IN1, 6,2 % IN2) v primerjavi s koinokulacijama MKB (5,7 % KIN1, 5,2 % KIN2). Najnižji delež omenjenih šestih AK smo določili v vinu kontrolne vinifikacije. Delež Pro v posameznem mladem vinu sorte chardonnay je predstavljal od 80,7 do 90,3 % skupnih AK. Vzorci inokulacij MKB so imeli manjši delež Pro kot vzorci koinokulacije MKB. Med šestimi vzorci mladih vin smo ga določili največ v vzorcu kontrolne vinifikacije.

S primerjavo vsebnosti posameznih AK v mladih vinih chardonnay smo ugotovili vpliv vodene MKF na vsebnost AK, ne pa tudi čas inokulacije MKB in uporabljene starterske kulture MKB. Večje vsebnosti v primerih inokulacije kot koinokulacije MKB smo določili pri AK Glu, His, Gly, Arg, Ala, Tyr, Phe, Ile, Leu in Lys ter manjše za Thr. V vinu spontane vinifikacije smo določili največje vsebnosti AK Pro, Glu, Gln, Ala, Val ter skupne vsebnosti vseh AK v primerjavi z vzorci vodenih vinifikacij.

Med šestimi vzorci sorte chardonnay je po 1/3 AF (slika 26) najbolj odstopal vzorec spontane vinifikacije. Opazili smo razliko med uporabo starterskih kultur MKB. Vendar nas je presenetila zelo velika podobnost vzorca KIN2 z IN2, nato z IN1 in KON. Pri drugem vzorčenju (slika 27) je bila razlika med spontano in petimi vodenimi vinifikacijami veliko manjša kot predhodno. Vzorca KIN1 in KIN2 sta si bila nepričakovano zelo podobna. Pričakovali nismo večje razlike med KON, IN1 in IN2, saj v nobenem izmed teh vzorcev MKB v tem času niso bile prisotne. V mladih vinih chardonnay (slika 28) je ponovno najbolj izstopal vzorec SP in nato KON. Mlada vina chardonnay so nepričakovano razlikovala glede aminokislinske sestave od vin preostalih treh sort, tudi malvazije. Na osnovi grupiranja mladih vin chardonnay nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost prostih AK med vodenimi MKF. Zelo opazen pa je bil vpliv vodene MKF v primerjavi s spontano.

Priloga B12 prikazuje vsebnosti prostih AK v vzorcih malvazija. V moštu malvazija smo tako kot v moštu chardonnay določili prisotnost 16 od 21 analiziranih prostih AK. Mošt malvazija je imel daleč najmanjšo vsebnost AK, komaj 651 mg/L. Med njimi ni bil Pro najbolj zastopan (165 mg/L), temveč je bil uvrščen na drugo mesto, za Arg (177 mg/L), ki je predstavljal 27,2 % vseh AK mošta. S potekom vinifikacije se je vsebnost Pro povečala, najbolj v vzorcu spontane vinifikacije, kot pri sorti chardonnay. Prisotnost Arg smo določili le v moštu. Vsebnost Val, tretje najbolj zastopane AK mošta malvazija (85 mg/L), se je med vinifikacijo zmanjševala, vendar smo njegovo vsebnost določili v vseh vzorčenjih. Gln je zasedel 4. mesto po vsebnosti v moštu (64 mg/L) in ga v vzorcih vodenih MKF nismo več določili. V intervalu od 20 do 50 mg/L smo v moštu malvazije določili dve AK: Ala in Glu. V intervalu manj kot 20 mg/L smo določili Ser, His, Asp, Leu, Phe, Tyr, Thr, Ile, Asn in Gly. Vse omenjene AK so bile vključene v metabolizem tako kvasovk kot MKB. Njihove vsebnosti so se med

vinifikacijo zmanjšale. Tako stanje je bilo posledica majhne vsebnosti AK kot vira dušika in navkljub prisotni avtolizi so MKB hitro izkoristile razpoložljive AK. V mladih vinih smo ponovno določili Ser, Thr, Ala, Phe in Leu, vendar le v sledovih. Lys je bila tudi med vinifikacijami sorte malvazija edina AK, ki je nismo določili v moštu, vendar smo jo določili v mladem vinu.

Delež najbolj zastopanih AK Asp, Glu, Ser, Arg, Thr in Ala je v moštu sorte malvazija predstavljal 43,9 % vseh AK. Njihov delež v vinih po 42 dnevni vinifikaciji smo določili v intervalu med 1,6 (KON) in 7,2 % (IN2). Z uporabo MKB2 je bil njihov delež večji (6,1 % KIN2, 7,2 % IN2) v primerjavi z uporabo MKB1 (4,0 % KIN1, 6,2 % IN1). Najnižji delež omenjenih šestih AK smo določili v vinu kontrolne vinifikacije, kot pri sorti chardonnay. Delež Pro v vzorcih po 42 dneh vinifikacije je predstavljal od 80,7 do 95,2 % skupnih AK. Vzorci vin, kjer smo uporabili starterske kulture MKB2 so vsebovali manj Pro v primerjavi z uporabo MKB1. Med vsemi šestimi vzorci mladih vin smo ponovno določili največ Pro, tokrat v vzorcu spontane vinifikacije.

Primerjava vsebnosti posameznih AK je v nasprotju z vini chardonnay med vodenimi MKF pokazala vpliv uporabljene starterske kulture MKB, vendar le za posamezne AK; Ser, Thr, Ala, Val, Phe, Leu in Lys, za katere smo določili večje vsebnosti pri inokulaciji kot koinokulaciji MKB. Večje vsebnosti v primerih dodatka MKB2 smo ugotovili pri AK Glu, Ser, Thr, Ala, Val, Phe, Leu in Lys. Vino spontane vinifikacije je izstopalo po največji vsebnosti Val in Pro.

Med šestimi vzorci sorte malvazija je po 1/3 AF (slika 26) presenetljivo najbolj odstopal vzorec KIN1 in je bil uvrščen v grupo skupaj z večino vzorcev sorte laški rizling. Ostali vzorci malvazije so bili razporejeni v drugo grupo. Razlike med uporabljenimi starterskimi kulturami MKB so bile opazne, prav tako med časom njihove inokulacije. Med vzorci KON, IN1 in IN2, kjer MKB niso bile dodane so si bili zelo podobni. Presenetljivo se po sestavi AK vzorca KIN2 in SP nista razlikovala. Pri drugem vzorčenju (slika 27) je še vedno najbolj izstopal vzorec KIN2 in SP, medtem ko je bila razlika med ostalimi štirimi zelo majhna. Vsa mlada vina malvazija (slika 28) so bila razporejena v eno grupo, ki je bila zelo podobna grupi vin vodenih vinifikacij sorte laški rizling. V vsebnostih prostih AK v mladih vinih malvazija smo ugotovili razlike med vodenimi in spontanimi MKF. Ugotovili smo le vpliv uporabljene starterske kulture MKB na sestavo AK v mladih vinih malvazija.

Vsebnosti prostih AK med šestimi vinifikacijami sorte sauvignon so zbrane v prilogi B13. Mošt omenjene sorte je vseboval največ prostih AK, vendar smo od 21 analiziranih določili prisotnost le 15, kar je bilo najmanj izmed štirih moštov. V moštu sauvignon smo v primerjavi s predhodno opisanimi sortama iz vinorodnega okoliša Koper določili prisotnost Trp, ki ga mošta chardonnay in malvazija nista vsebovala. Mošt sauvignon ni vseboval Asp in His. Je pa vseboval največ Arg, kar 1098 mg/L, ki je predstavljal 57,0 % vseh AK. Njegova vsebnost se je med vodenimi vinifikacijami zelo hitro zmanjšala, saj smo ga v drugem vzorčenju določili zelo malo ali nič. Dober prehranski status mošta sauvignon z dušikovimi spojinami je bil najverjetneje razlog za najhitrejši potek AF. Druga najbolj zastopana AK je bil Gln (274 mg/L), ki so ga kvasovke hitro koristile, saj smo med vodenimi vinifikacijami določili zelo nizke vsebnosti že po 1/3 AF. V vzorcih mladih vin vodenih vinifikacij smo ga določili v intervalu med 2,9 in 5,3 mg/L, najmanj pri kontrolni vinifikaciji. Ala je bil tretja najbolj zastopana AK (176 mg/L) in je tudi služil kot vir dušika, saj se je njegova vsebnost do 2/3 AF zelo zmanjšala. V mladih vinih sorte sauvignon smo določili povečane vsebnosti Ala, od 15,7 do 36,5 mg/L. Val je bil zastopan z 82 mg/L v moštu in je bil prav tako vključen v metabolizem prisotnih mikroorganizmov, vendar z manjšo afiniteto, saj smo ga po 1/3 AF določili malo, le 23 mg/L. Z nadaljevanjem se je njegova vsebnost povečala. V mladih vinih vodenih vinifikacij se je nahajal v intervalu med 26 in 48 mg/L. Pro je bil po zastopanosti v moštu uvrščen šele na 5. mestu z 77 mg/L, kar je zelo majhna vsebnost. Med vinifikacijo je njegova vsebnost zelo narasla in v mladih vinih smo ga določili v intervalu med 351 in 483 mg/L. Največ smo ga določili v vinu kontrolne vinifikacije. Mošt sauvignon je vseboval intervalu od 20 do 50 mg/L tudi AK Thr, Glu, Ser, Phe in Leu. Njihove vsebnosti so se med vinifikacijo spreminjale, pri prvem vzorčenju so se zmanjšale, nato pa precej povečale. Leu smo v vinih vodenih MKF vinifikacij določili dvakrat več kot v moštu. V vsebnostih

manjših od 20 mg/L so bile v moštu sauvignon prisotne tudi AK Ile, Tyr, Asn, Trp in Gly. Tudi pri njih smo med vinifikacijo opazili spremembe v vsebnostih, saj so se pri prvem vzorčenju zmanjšale. Za AK Ile, Tyr, Asn, Trp, Gly smo v vinih vodenih MKF določili večje vsebnosti kot v moštu. Med vsemi šestimi vinifikacijami smo določili večje vsebnosti v mladih vinih kot moštu AK Asp, His, Met in Lys. Vsebnosti prostih AK so bile pri tretjem vzorčenju med vsemi obravnavanimi vini največje, kar kaže na dober prehranski status z dušikovimi spojinami, saj ob avtolizi sproščenih AK MKB niso takoj porabile. Pri sortah chardonnay in malvazija smo opazili v vinih prisotnost Lys, ki ga v moštih nismo določili. Pri sauvignonu pa smo v mladih vinih dodatno določili tudi prisotnost Asp, His in Met, ki v moštu niso bile prisotne. Delež najbolj zastopanih AK mošta sauvignon Asp, Glu, Ser, Arg, Thr in Ala je predstavljal kar 73,0 % vseh AK. Njihov delež v mladih vinih po 42 dnevni vinifikaciji je bil med vsemi obravnavanimi sortami največji: od 12,0 (KON) do 42,2 % (SP). Na zelo dober prehranski status z dušikovimi spojinami mošta sauvignon je pokazal tudi velik delež šestih najbolj zastopanih AK. V primerih uporabe starterske kulture MKB2 je bil delež večji (18,6 % KIN2, 18,2 % IN2) v primerjavi z uporabo MKB1 (17,6 % KIN1, 17,8 % IN1). Najnižji delež omenjenih šestih AK smo ponovno določili v vinu kontrolne vinifikacije.

Primerjava vsebnosti posameznih AK v mladih vinih sauvignon med vodenimi MKF je pokazala vpliv dodanih starterskih kultur MKB samo pri štirih AK. V vzorcih smo določili večje vsebnosti Gln in Arg v primerih uporabe MKB2 ter Gly in Thr v primerih uporabe MKB1. V vzorcih vodenih vinifikacij smo določili pri kontrolni vinifikaciji najmanj vseh analiziranih AK, z izjemo Gly, Trp in Pro.

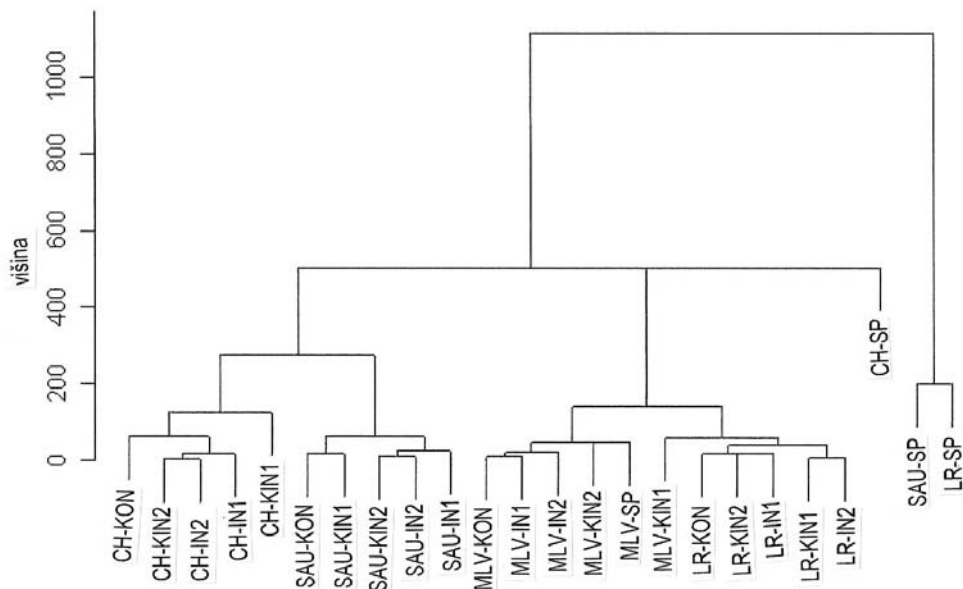
Med šestimi vzorci sorte sauvignon je po 1/3 AF (slika 26) daleč najbolj odstopal vzorec spontane vinifikacije, kot pri chardonnayu. Razvrščen je bil v drugo grupo. Vzorca vodenih vinifikacij sorte sauvignon so bili podobni vzorcem sorte chardonnay. Med vzorcem KIN1 in KIN2 je obstajala zelo majhna razlika. Ker pri kontrolni vinifikaciji v tem času spontana MKF še ni potekala, za razliko od vodene MKF pri KIN1, nas je presenetila njuna podobnost. Prav tako je program uvrstil vzorca KIN2 in IN2 v isto grupo, čeprav je med njima obstajala razlika v poteku MKF. Pri drugem vzorčenju (slika 27) so bili vzorca sorte sauvignon bolj podobni vzorcem malvazije in laškega rizlinga, kot chardonnaya. Ponovno je izstopal vzorec SP, vendar manj kot predhodno. Še vedno sta bila vzorca KON in KIN1 razporejena v isto grupo. Pričakovali smo razlike med koinokulacijama in inokulacijama MKB. V mladih vinih sauvignon (slika 28) je ponovno najbolj izstopal vzorec SP, vendar je bila razlika še manjša kot predhodno. Vzorec KON je bil ločen od grupe vzorcev z vodeno MKF. Na osnovi grupiranja mladih vin chardonnay nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost prostih AK med vodenimi MKF. Zelo opazen pa je bil vpliv vodene vinifikacije v primerjavi s spontano kot pri sorti chardonnay. Opazili smo tudi razlike med vzorcem brez in z izvedeno vodeno MKF. Razlog je najverjetneje v nepopolni in zelo počasni razgradnji jabolčne kisline pri kontrolni in spontani vinifikaciji.

V prilogi B14 so prikazane vsebnosti prostih AK v vzorcih sorte laški rizling. V moštu laški rizling smo od 21 analiziranih AK določili prisotnost 18, kar je največ med vsemi mošti. Za razliko od mošta sauvignona smo v moštu laškega rizlinga dodatno določili tudi prisotnost Lys (2,8 mg/L), ki ga v nobenem od ostalih treh moštov nismo določili. Mošt laškega rizlinga je enako kot mošt sauvignona vseboval največ Arg (828 mg/L) in je predstavljal 58,4 % vseh AK. Njegova vsebnost se je v primerih vodenih vinifikacij zmanjševala do tretjega vzorčenja, nato je ponovno narasla. Druga najbolj zastopana AK je bil Ala (132 mg/L). Opazili smo hitro koriščenje, saj smo najnižje vsebnosti določili po 1/3 AF. V mladih vinih se je njegova vsebnost opazno povečala na račun avtolize kvasovk. Val je bil tretja najbolj zastopana AK mošta laškega rizlinga (73 mg/L). Tudi ta AK je bila vključena v metabolizem prisotnih mikroorganizmov, čeprav ne tako intenzivno. Njegova vsebnost se je zmanjševala do tretjega vzorčenja, v mladih vinih se je ponovno povečala. Thr je bil na 4. mestu po vsebnosti (49 mg/L) v moštu in je bil prav tako vključen v metabolne procese mikroorganizmov. Njegova vsebnost se je hitro zmanjšala, saj ga nismo določili v nobenem vzorcu po 1/3 AF in v mladih vinih je bil prisoten le v sledovih. Ser je bila naslednja AK po vsebnosti (48 mg/L). Med 1/3

vinifikacije se je hitro porabil in v nadaljevanju se je njegova vsebnost zelo povečala. Phe se je tudi zelo hitro porabil, iz 43 mg/L v moštu je popolnoma izginil že po 1/3 AF. Pro je bil z 36 mg/L komaj na 6. mestu med vsemi AK mošta laškega rizlinga in je predstavljal le 2,5 % vseh AK. Z nadaljevanjem vinifikacije se je njegova vsebnost zelo povečala, po 1/3 AF je presegel 200 mg/L. V moštu laškega rizlinga smo v koncentracijskem intervalu od 20 do 50 mg/L določili prisotnost His, Leu, Glu, Ile, Asp, Tyr in Asn. Njihove vsebnosti so se med vinifikacijo spreminjale, pri prvem vzorčenju so se zmanjšale, nato povečale. V vsebnostih manjših od 20 mg/L so bile v moštu laški rizling določene tudi AK Gly, Trp, in Lys. Tudi pri njih smo med vinifikacijo opazili spremembe v vsebnostih, saj so se pri prvem vzorčenju zmanjšale. Vsebnost Lys se je iz vsebnosti 2,8 mg/L v moštu povečala na vsebnosti v intervalu med 15 in 38 mg/L v mladih vinih. Pri laškem rizlingu smo enako kot pri sauvignonu v mladih vinih določili tudi prisotnost Met, ki ga v moštu ni bilo. Delež najbolj zastopanih AK mošta Asp, Glu, Ser, Arg, Thr in Ala je v moštu predstavljal kar 78,1 % vseh AK. Njihov delež v vinih ob koncu 42 dnevne vinifikacije je bil zelo podoben kot pri sauvignonu: od 10,3 (KON) do 34,8 % (SP). To je pokazalo na dober prehranski status z dušikovimi spojinami mošta laški rizling, navkljub slabši dozorelosti grozdja, saj smo mošt dosladkali. V primerih inokulacije MKB je bil delež šestih najbolj zastopanih AK večji (27,0 % IN1, 16,0 % IN2) v primerjavi s koinokulacijami MKB (14,9 % KIN1, 13,9 % KIN2). Najmanjši delež omenjenih šestih AK smo ponovno določili v mladem vinu kontrolne vinifikacije.

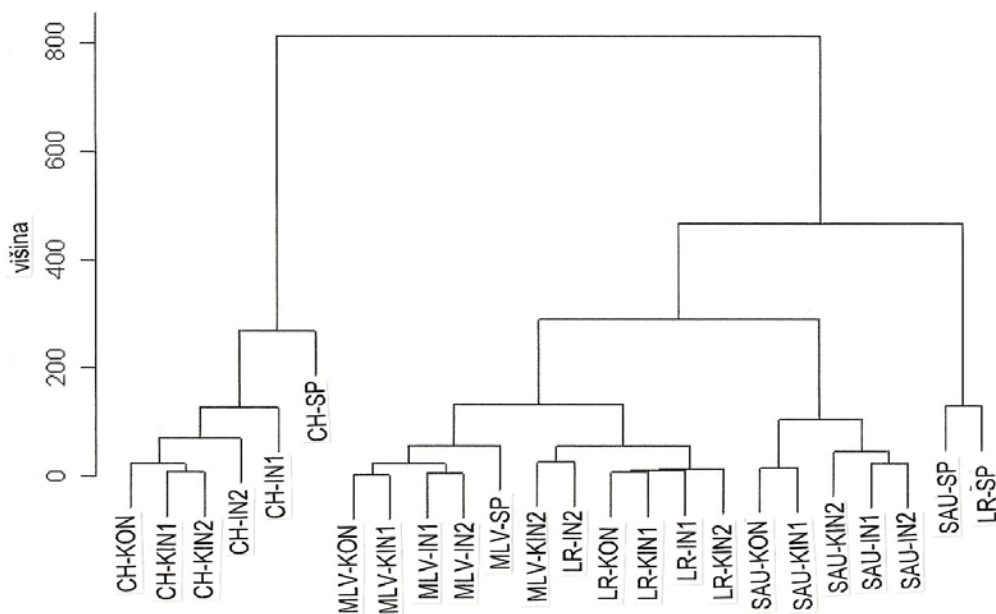
Primerjava vsebnosti posameznih AK med vodenimi MKF je pokazala pri določenih AK vpliv vrste dodanih starterskih kultur MKB, pri drugih AK pa vpliv časa dodatka inokuluma MKB. V vzorcih mladih vin laški rizling smo določili večje vsebnosti Asp, His, Tyr, Val in Ile pri inokulacijah MKB. Večje vsebnosti Glu, Ser, Gln, Ala, Tyr, Met, Phe, Ile, Leu, Lys in Pro smo določili pri dodatku starterske kulture MKB1. V vzorcih vodenih vinifikacij smo določili pri kontrolni najmanj Asp, Glu, Ser, Gln, His, Arg, Ala, Val, Met, Phe, Ile, Leu in Lys. V vzorcu mladega vina spontane vinifikacije smo določili največ Gln, Gly, Arg, Ala, Tyr in Val.

Med šestimi vzorci sorte laški rizling je po 1/3 AF (slika 26) ponovno in pričakovano najbolj odstopal vzorec spontane vinifikacije, ki pa je bil razvrščen v isto grupo skupaj z SP SAU. Ta dva vzorca sta se tudi najbolj razlikovala od vseh preostalih 22 vzorcev vseh sort in vinifikacij. Razliko med časom dodatka starterskih kultur MKB v tej fazi vinifikacije nismo opazili. Smo pa opazili podobnost vzorcev vodenih vinifikacij sorte laški rizling z vzorci malvazij. Pri drugem vzorčenju (slika 27) je bila razlika med spontano in petimi vodenimi vinifikacijami veliko manjša kot predhodno. Med vzorci koinokulacije in ostalih treh vodenih vinifikacij nismo opazili pričakovane razlike glede na vsebnosti AK. Zanimivo je, da je bil vzorec malvazije KIN2, kjer je bila razgradnja jabolčne kisline končana en dan pred vzorčenjem za določevanje AK, uvrščen v grupo vzorcev vodenih vinifikacij laškega rizlinga, kjer je vodena MKF potekala zelo počasi, spontana pri KON pa se ni niti začela. V mladih vinih laški rizling (slika 28) je še vedno izstopal vzorec SP, vendar manj kot predhodno. Na osnovi grupiranja mladih vin laški rizling nismo ugotovili vpliva časa dodatka, razlike v uporabljeni starterski kulturi MKB na vsebnost prostih AK med vodenimi MKF pa so bile zelo majhne. Zelo opazen je bil ponovno vpliv vodene vinifikacije v primerjavi s spontano.



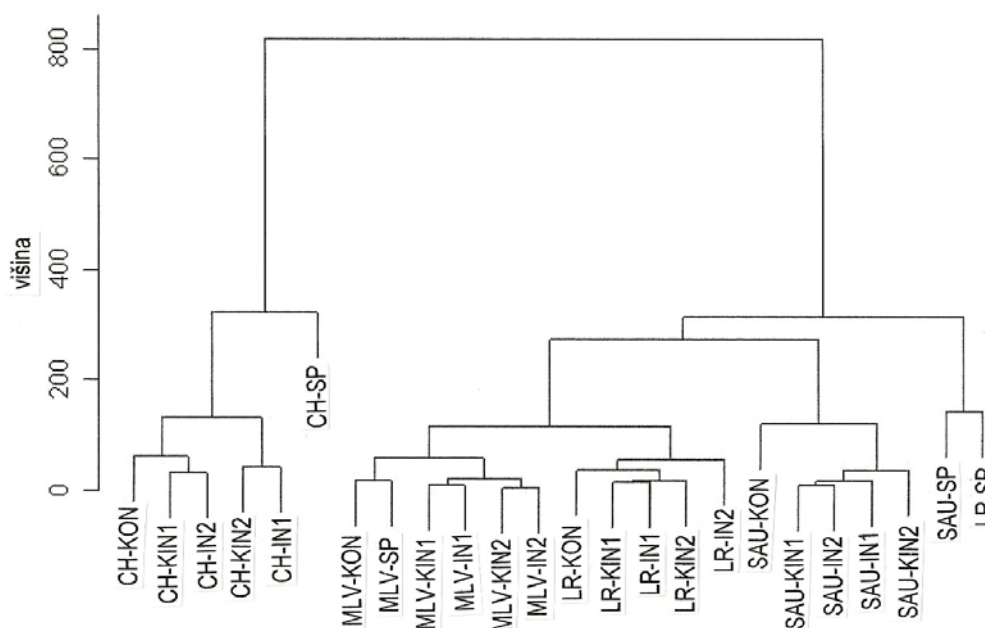
**Slika 26: Dendrogram vzorcev chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 glede na vsebnost aminokislin po 1/3 alkoholne fermentacije izdelan z uporabo programa Statistical data analysis R, metodo grupiranja Diana**

Figure 26: Dendrogram of Chardonnay, Malvasia, Sauvignon and Welsh Riesling samples, vintage 2005, with regard to amino acids contents after 1/3 of alcoholic fermentation using the software Statistical data analysis R, grouping method Diana



**Slika 27: Dendrogram vzorcev chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 glede na vsebnost aminokislin po 2/3 alkoholne fermentacije v primeru vinifikacij KON, KIN1, KIN2 in SP ter po zaključeni alkoholni fermentaciji v primeru vinifikacij IN1 in IN2 izdelan z uporabo programa Statistical data analysis R, metodo grupiranja Diana**

Figure 27: Dendrogram of Chardonnay, Malvasia, Sauvignon and Welsh Riesling samples, vintage 2005, with regard to amino acids contents after 2/3 of alcoholic fermentation during vinifications KON, KIN1, KIN2, SP and after complete alcoholic fermentation during vinifications IN1 and IN2 using the software Statistical data analysis R, grouping method Diana



**Slika 28: Dendrogram mladih vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 glede na vsebnost aminokislin po 42 dneh vinifikacij izdelan z uporabo programa Statistical data analysis R, metodo grupiranja Diana**

Figure 28: Dendrogram of young Chardonnay, Malvasia, Sauvignon and Welsh Riesling wines, vintage 2005, with regard to amino acids contents after 42 days of vinifications using the software Statistical data analysis R, grouping method Diana

#### 4.2.2.6 Spremljanje rasti kvasovk in mlečnokislinskih bakterij

Na osnovi preliminarnih rezultatov mikrobioloških preiskav v 500 mL fermentacijski prostornini pri sorti malvazija letnika 2004, smo v poskusu z letnikom 2005 spremljali rast kvasovk in MKB med posameznimi vinifikacijami vseh štirih sort med poskusom v 28 L fermentacijski prostornini.

Dinamika rasti kvasovk je bila povezana s potekom metabolizma heksoz. Med vodenimi vinifikacijami znotraj sorte ni bilo opaznih razlik v rasti kvasovk, saj so se rastne krivulje skoraj prekrivale. Pri vseh sortah je bila izjema le spontana vinifikacija. Primerjava rasti kvasovk posameznih vinifikacij med sortami tudi ni pokazala večjih razlik. Čas dodatka ali uporabljena starterska kultura MKB nista vplivala na rast kvasovk.

Dinamika rasti MKB je bila povezana s potekom razgradnje jabolčne in tvorbe mlečne kisline. Med posameznima dodanima starterskima kulturama MKB ni bilo razlik, tako pri koinokulaciji kot inokulaciji. Dinamika rasti MKB je bila, z izjemo laškega rizlinga, podobna pri ostalih treh sortah. Zelo primerljiva je bila dinamika rasti MKB pri sortah chardonnay in malvazija. Med vinifikacijami je bila pričakovano izjema le spontana vinifikacija. Ugotovili smo majhne razlike med rastjo MKB pri koinokulaciji in inokulaciji MKB. Pri koinokulacijah MKB so bakterije v začetku rastle nekoliko počasneje, vendar smo določili največjo populacijo. Razlog je najverjetneje antagonizem kvasovk vrste *Saccharomyces bayanus*, ki v našem primeru ni bil zelo izrazit. Iz spremljanja dinamike rasti MKB smo ugotovili večji vpliv časa inokulacije, ne pa uporabljene starterske kulture MKB. V primerih spontanosti MKF smo določili primerljive populacije endogenih MKB kot pri uporabi starterskih kultur MKB, vendar je bila njihova rast pričakovano počasnejša. Izjema je bila sorta laški rizling, kjer smo prvič populacijo endogenih MKB določili komaj 21. dan spontane vinifikacije.

Rast kvasovk in MKB med šestimi vinifikacijami sorte chardonnay so prikazane v preglednici 43. V prilogi B17 so predstavljeni rezultati spremljanja rasti MKB in poteka MKF, medtem ko so rastne krivulje kvasovk in MKB prikazane ločeno v prilogah B15 in B16.

**Preglednica 43: Rast kvasovk in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 43: Growth of yeasts and lactic acid bacteria during vinifications of Chardonnay, vintage 2005, in 28 mL fermentation volume

vinifikacija	Mikro-organizem	Število mikroorganizmov (CFU/mL) med vinifikacijami (dan)						
		1	7	14/1	21/7	28/14	35/21	42/28
KON	kvasovke	1,8x10 <sup>7</sup>	7,5x10 <sup>8</sup>	6,9x10 <sup>8</sup>	4,8x10 <sup>8</sup>	7,8x10 <sup>7</sup>	9,7x10 <sup>6</sup>	6,3x10 <sup>5</sup>
	MKB	<10	<10	2,5x10 <sup>5</sup>	6,3x10 <sup>7</sup>	5,3x10 <sup>7</sup>	8,4x10 <sup>6</sup>	7,8x10 <sup>5</sup>
KIN1	kvasovke	1,7x10 <sup>7</sup>	7,3x10 <sup>8</sup>	6,5x10 <sup>8</sup>	4,2x10 <sup>8</sup>	7,2x10 <sup>7</sup>	8,8x10 <sup>6</sup>	5,2x10 <sup>5</sup>
	MKB	9,8x10 <sup>5</sup>	3,4x10 <sup>7</sup>	9,3x10 <sup>7</sup>	7,0x10 <sup>7</sup>	9,0x10 <sup>6</sup>	8,8x10 <sup>5</sup>	1,1x10 <sup>5</sup>
KIN2	kvasovke	1,6x10 <sup>7</sup>	6,9x10 <sup>8</sup>	6,3x10 <sup>8</sup>	4,1x10 <sup>8</sup>	7,4x10 <sup>7</sup>	8,4x10 <sup>6</sup>	4,8x10 <sup>5</sup>
	MKB	9,3x10 <sup>5</sup>	3,1x10 <sup>7</sup>	10,8x10 <sup>7</sup>	7,8x10 <sup>7</sup>	7,0x10 <sup>6</sup>	7,5x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>
IN1	kvasovke	1,8x10 <sup>7</sup>	7,0x10 <sup>8</sup>	6,7x10 <sup>8</sup>	3,9x10 <sup>8</sup>	6,7x10 <sup>7</sup>	8,2x10 <sup>6</sup>	4,9x10 <sup>5</sup>
	MKB	<10	<10	7,5x10 <sup>5</sup>	8,5x10 <sup>7</sup>	7,8x10 <sup>7</sup>	1,5x10 <sup>7</sup>	7,6x10 <sup>5</sup>
IN2	kvasovke	1,7x10 <sup>7</sup>	7,2x10 <sup>8</sup>	6,6x10 <sup>8</sup>	4,0x10 <sup>8</sup>	6,9x10 <sup>7</sup>	8,5x10 <sup>6</sup>	4,8x10 <sup>5</sup>
	MKB	<10	<10	6,9x10 <sup>5</sup>	8,1x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>7</sup>	1,1x10 <sup>7</sup>	6,9x10 <sup>5</sup>
SP	kvasovke	9,3x10 <sup>5</sup>	6,6x10 <sup>7</sup>	6,4x10 <sup>8</sup>	5,9x10 <sup>8</sup>	5,1x10 <sup>8</sup>	3,2x10 <sup>8</sup>	9,4x10 <sup>7</sup>
	MKB	<10	<10	2,0x10 <sup>5</sup>	5,9x10 <sup>7</sup>	4,1x10 <sup>7</sup>	7,9x10 <sup>6</sup>	6,2x10 <sup>5</sup>

V inokuliranih vzorcih mošta chardonnay je bila populacija kvasovk večja za 100-krat oz. za 2 log stopnji od endogene populacije kvasovk pri spontani vinifikaciji. Glede na naš plan vzorčenja smo določili največje populacije kvasovk pri vodenih vinifikacijah 7. dan, medtem ko je populacija kvasovk pri spontani vinifikaciji dosegla vrh 14. dan. Največjo populacijo kvasovk smo 7. dan določili pri kontrolni vinifikaciji, medtem ko vpliva časa dodatka ali uporabljenih starterskih kultur MKB pri vodenih MKF nismo ugotovili. V nadaljevanju vodenih vinifikacij smo opazili konstantno populacijo kvasovk do 21. dneva, ki se je nato zmanjšala. Zadnji dan spremljanja rasti kvasovk smo pri vodenih vinifikacijah določili 10<sup>5</sup> CFU/mL velikost populacije, medtem ko je bila endogena populacija kvasovk velika 10<sup>7</sup> CFU/mL. Največjo populacijo smo določili pri kontrolni vinifikaciji, medtem ko so bile populacije večje v primeru uporabe MKB1 kot MKB2, sploh pri koinokulaciji. Največjo populacijo smo doočili pri kontrolni vinifikaciji, medtem ko so bile populacije večje v primeru uporabe MKB1 kot MKB2, sploh pri koinokulacijah. Opazne razlike med rastjo in velikostjo populacij kvasovk smo ugotovili med spontano in vodenimi vinifikacijami, medtem ko so bile razlike med vodenimi MKF zelo majhne. Inhibitornega vpliva populacije MKB na rast kvasovk nismo opazili.

Pri vodenih MKF sorte chardonnay je bila razgradnja jabolčne kisline popolnoma končana v 42 dneh le pri koinokulacijah MKB, na pa pri inokulacijah MKB. Pri koinokulacijah MKB smo prvi dan določili velikost populacij MKB 9,8x10<sup>5</sup> CFU/mL in 9,3x10<sup>5</sup> CFU/mL. Pri kontrolni in spontani vinifikaciji sta bili populaciji MKB manjši od 10 CFU/mL. S potekom MKF pri koinokulacijah se je populacija MKB večala. 14. dan, ko je bila končana razgradnja jabolčne kisline, smo določili nekoliko večjo populacijo MKB pri KIN2. V nadaljevanju se je populacija MKB zelo zmanjšala. V primeru inokulacij MKB po končani AF, smo v vzorcu določili nekoliko manjše začetne populacije MKB kot pri koinokulacijah. V nadaljevanju smo opazili hitrejšo rast MKB pri inokulacijah MKB kot pri koinokulacijah. 21. dan vinifikacije, ko je MKF že potekala, smo določili nekoliko večjo populacijo MKB pri IN2, enako kot pri koinokulacijah. V nadaljevanju vinifikacij nas je presenetilo zmanjšanje populacije MKB v primeru IN2, v času najbolj intenzivne razgradnje jabolčne kisline. Pri IN1 smo prav tako opazili zmanjšanje populacije MKB. To je bil vzrok za nedokončano MKF pri inokulacijah MKB po končani AF. Razlog za to je bilo mogoče pomanjkanje dušikovih spojin. Zadnji dan smo pri inokulacijah in koinokulacijah določili velikosti populacij MKB 10<sup>5</sup> CFU/mL. Največje določene populacije MKB pri inokulacijah so bile manjše v primerjavi z največjimi populacijami MKB pri koinokulacijah. Rasti MKB med kontrolno in spontano vinifikacijo, kjer nismo izvedli inokulacije MKB, sta bili zelo podobni in sta sledili dinamiki

rasti MKB pri inokulacijah MKB. Med vinifikacijami sorte chardonnay smo opazili razlike med rastjo in velikostjo populacij MKB med dvema spontanima in štirimi vodenimi MKF, medtem ko so bile razlike med vodenimi MKF zelo majhne. Med koinokulacijo in inokulacijo MKB smo opazili manjše razlike v velikosti največje populacije in hitrosti rasti MKB. Rast MKB je bila hitrejša pri inokulacijah MKB, vendar je bila največja določena populacija MKB manjša. Inhibitornega vpliva populacije kvasovk na rast MKB nismo ugotovili.

**Preglednica 44: Rast kvasovk in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 44: Growth of yeasts and lactic acid bacteria during vinifications of Malvasia, vintage 2005, in 28 mL fermentation volume

vinifikacija	Mikro-organizem	Število mikroorganizmov (CFU/mL) med vinifikacijami (dan)						
		1	7	14/1	21/7	28/14	35/21	42/28
KON	kvasovke	$2,2 \times 10^7$	$6,9 \times 10^8$	$6,5 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$	$8,3 \times 10^7$	$8,8 \times 10^6$	$7,4 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	$2,9 \times 10^5$	$7,4 \times 10^7$	$4,9 \times 10^7$	$6,9 \times 10^6$	$6,9 \times 10^5$
KIN1	kvasovke	$2,2 \times 10^7$	$6,6 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$8,0 \times 10^7$	$8,2 \times 10^6$	$6,9 \times 10^5$
	MKB	$1,4 \times 10^6$	$4,6 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$9,2 \times 10^7$	$9,1 \times 10^6$	$7,4 \times 10^5$	$9,0 \times 10^4$
KIN2	kvasovke	$2,0 \times 10^7$	$6,5 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$	$7,9 \times 10^7$	$8,4 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$
	MKB	$9,8 \times 10^5$	$4,2 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$	$8,7 \times 10^7$	$8,7 \times 10^6$	$6,9 \times 10^5$	$8,6 \times 10^4$
IN1	kvasovke	$2,3 \times 10^7$	$7,0 \times 10^8$	$6,6 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$	$7,5 \times 10^7$	$7,7 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	$9,7 \times 10^5$	$7,5 \times 10^7$	$5,9 \times 10^7$	$9,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5$
IN2	kvasovke	$2,1 \times 10^7$	$6,9 \times 10^8$	$6,5 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$7,7 \times 10^7$	$8,1 \times 10^6$	$6,3 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	$9,3 \times 10^5$	$7,1 \times 10^7$	$5,3 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$6,4 \times 10^5$
SP	kvasovke	$7,7 \times 10^5$	$3,9 \times 10^7$	$2,7 \times 10^8$	$4,6 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$	$3,4 \times 10^8$	$8,4 \times 10^7$
	MKB	<10	<10	$2,1 \times 10^5$	$7,8 \times 10^7$	$5,4 \times 10^7$	$7,5 \times 10^6$	$7,2 \times 10^5$

Rasti kvasovk in MKB med šestimi vinifikacijami sorte malvazija so prikazane v preglednici 44. V prilogi B18 so predstavljeni rezultati spremljanja rasti MKB in poteka MKF, medtem ko so rastne krivulje kvasovk in MKB prikazane ločeno v prilogah B15 in B16.

V inokuliranih vzorcih mošta malvazija je bila populacija kvasovk večja za 100-krat oz. za 2 log stopnji od endogene populacije kvasovk pri SP vinifikaciji, ki je bila med vsemi obravnavanimi mošti najmanjša. V primerjavi s sorto chardonnay so bile začetne populacije inokuliranih kvasovk v moštih malvazije podobne. Glede na naš plan vzorčenja smo tudi pri malvaziji določili največje populacije kvasovk pri vodenih vinifikacijah 7. dan, medtem ko je populacija kvasovk pri spontani vinifikaciji dosegla vrh 21. dan. Največjo populacijo kvasovk smo 7. dan določili pri vinifikaciji IN1, medtem ko sta bili populaciji pri inokulaciji MKB večji kot pri koinokulaciji in primerljivi s populacijo pri kontrolni vinifikaciji. V nadaljevanju vodenih vinifikacij smo opazili konstantno populacijo kvasovk do 21. dneva, ki se je nato zmanjšala. Zadnji dan spremljanja rasti kvasovk smo pri vodenih vinifikacijah določili velikost populacij kvasovk  $10^5$  CFU/mL, medtem ko je bila endogena populacija kvasovk velika  $10^7$  CFU/mL. Največjo populacijo smo ponovno določili pri kontrolni vinifikaciji, medtem medtem ko vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na velikost populacije kvasovk nismo ugotovili. Med vinifikacijami sorte malvazija smo opazili razlike med rastjo in velikostjo populacij MKB med dvema spontanima in štirimi vodenimi MKF, medtem ko so bile razlike med vodenimi MKF zanemarljive.

Pri vodenih MKF sorte malvazija je bila razgradnja jabolčne kisline popolnoma končana v vseh štirih primerih vodenih MKF in tudi pri kontrolni vinifikaciji, kjer je potekala spontana MKF. Pri koinokulacijah MKB smo prvi dan določili velikost populacij MKB  $10,4 \times 10^5$  CFU/mL in  $9,8 \times 10^5$  CFU/mL, primerljive kot pri chardonnayu. Pri kontrolni in spontani vinifikaciji sta bili populaciji MKB manjši od 10 CFU/mL. S potekom MKF pri koinokulacijah se je populacija MKB večala.



14. dan, ko je bila razgradnja jabolčne kisline že končana, smo določili nekoliko večjo populacijo MKB pri KIN1. Dinamika rasti MKB pri koinokulacijah se ni razlikovala. V nadaljevanju se je populacija MKB zelo manjšala. V primeru inokulacij MKB po končani AF, smo v vzorcu določili nekoliko manjše začetne populacije MKB kot pri koinokulacijah. V nadaljevanju smo sicer opazili nekoliko hitrejšo rast MKB pri inokulacijah MKB kot pri koinokulacijah, vendar pa sta bili največji določeni populaciji MKB značilno manjši. Do 21. dneva vinifikacije, ko je MKF že potekala, smo določili nekoliko večjo populacijo MKB pri IN1, enako kot pri koinokulacijah. Dinamika rasti se prav tako ni razlikovala pri inokulacijah MKB. Zadnji dan smo pri inokulacijah in koinokulacijah določili velikosti populacij MKB  $10^5$  CFU/mL. Največje populacije MKB pri inokulacijah so bile manjše v primerjavi z največjimi populacijami MKB pri koinokulacijah, enako kot pri chardonnayu. Rasti MKB med kontrolno in spontano vinifikacijo, kjer nismo izvedli inokulacije MKB, sta bili zelo podobni in sta sledili dinamiki rasti MKB pri inokulacijah MKB. Opazne razlike med rastjo in velikostjo populacij MKB smo ugotovili med spontanima in vodenimi MKF, medtem ko so bile razlike med vodenimi MKF zelo majhne. Med koinokulacijo in inokulacijo MKB smo opazili značilne razlike v velikosti največje populacije, ne pa tudi v hitrosti rasti MKB. Največja določena populacija MKB je bila nepričakovano značilna za koinokulaciji MKB. Inhibitornega vpliva populacije kvasovk na rast MKB nismo ugotovili.

**Preglednica 45: Rast kvasovk in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 45: Growth of yeasts and lactic acid bacteria during vinifications of Sauvignon, vintage 2005, in 28 mL fermentation volume

vinifikacija	Mikro-organizem	Število mikroorganizmov (CFU/mL) med vinifikacijami (dan)						
		1	7	14/1	21/7	28/14	35/21	42/28
KON	kvasovke	$2,4 \times 10^7$	$8,2 \times 10^8$	$7,5 \times 10^8$	$5,4 \times 10^8$	$9,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$8,1 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
KIN1	kvasovke	$2,7 \times 10^7$	$7,7 \times 10^8$	$7,2 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$8,7 \times 10^7$	$9,8 \times 10^6$	$7,3 \times 10^5$
	MKB	$8,2 \times 10^5$	$2,6 \times 10^7$	$8,9 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$	$1,9 \times 10^7$	$1,1 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$
KIN2	kvasovke	$2,6 \times 10^7$	$7,6 \times 10^8$	$7,0 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$8,4 \times 10^7$	$9,4 \times 10^6$	$7,2 \times 10^5$
	MKB	$8,3 \times 10^5$	$2,1 \times 10^7$	$8,2 \times 10^7$	$9,0 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$9,0 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$
IN1	kvasovke	$2,5 \times 10^7$	$8,4 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$	$5,4 \times 10^8$	$8,7 \times 10^7$	$9,2 \times 10^6$	$6,9 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	$7,7 \times 10^5$	$7,2 \times 10^7$	$8,9 \times 10^7$	$2,2 \times 10^7$	$9,3 \times 10^5$
IN2	kvasovke	$1,7 \times 10^7$	$8,5 \times 10^8$	$7,5 \times 10^8$	$5,6 \times 10^8$	$9,0 \times 10^7$	$9,5 \times 10^6$	$7,1 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	$7,2 \times 10^5$	$6,9 \times 10^7$	$8,5 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$8,9 \times 10^5$
SP	kvasovke	$9,3 \times 10^5$	$5,6 \times 10^7$	$5,8 \times 10^8$	$5,1 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$	$1,5 \times 10^7$
	MKB	<10	<10	<10	$1,9 \times 10^5$	$5,1 \times 10^7$	$7,7 \times 10^7$	$6,9 \times 10^7$

Rezultati spremljanja vsebnosti rasti kvasovk in MKB med šestimi vinifikacijami sorte sauvignon so prikazani v preglednici 45. V prilogi B19 so predstavljeni rezultati spremljanja rasti MKB in poteka MKF, medtem ko so rastne krivulje kvasovk in MKB prikazane ločeno v prilogah B15 in B16.

V inokuliranih vzorcih mošta sauvignon je bila populacija kvasovk prav tako večja za 100-krat oz. za dve log stopnji od endogene populacije kvasovk pri SP vinifikaciji, ki je bila primerljiva z endogeno populacijo kvasovk chardonnaya; bili sta največji med vsemi mošti. Glede na naš plan vzorčenja smo ponovno določili največje populacije kvasovk pri vodenih vinifikacijah 7. dan, medtem ko je populacija kvasovk pri spontani vinifikaciji dosegla vrh 14. dan. Največjo populacijo kvasovk smo 7. dan določili pri vinifikaciji IN2, medtem ko sta bili populaciji pri inokulaciji večji kot pri koinokulaciji in bolj primerljivi s populacijo pri kontrolni vinifikaciji. V nadaljevanju vodenih vinifikacij smo opazili konstantno populacijo kvasovk do 21. dneva, ki se je nato zmanjšala. Zadnji dan spremljanja rasti kvasovk smo pri vodenih vinifikacijah določili velikost populacij kvasovk  $10^5$  CFU/mL, medtem ko je bila endogena populacija kvasovk velika  $10^7$  CFU/mL. Največjo populacijo smo ponovno določili pri

kontrolni vinifikaciji, medtem ko vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na velikost populacije kvasovk nismo ugotovili. Med vinifikacijami sorte sauvignon smo opazili razlike med rastjo in velikostjo populacij MKB med dvema spontanima in štirimi vodenimi MKF, medtem ko so bile razlike med vodenimi MKF zanemarljive.

Pri vodenih MKF sorte sauvignon je bila razgradnja jabolčne kisline končana v vseh štirih primerih. Spontana MKF se je začela pri spontani vinifikaciji 21. dan, ni pa se začela tudi pri kontrolni. Pri slednji smo ves čas opazovanja določili velikost endogene populacije MKB manj kot 10 CFU/mL. Prvi dan po koinokulaciji MKB smo določili populaciji MKB  $8,2 \times 10^5$  CFU/mL in  $8,3 \times 10^5$  CFU/mL. V nadaljevanju se populaciji nista tako hitro povečevali kot pri predhodnih dveh sortah. Največji populaciji MKB pri koinokulacijah smo določili 21. dan, torej teden dni kasneje kot pri predhodnih dveh sortah. To se je ujemalo z zamikom začetka poteka MKF pri koinokulacijah MKB pri sorti sauvignon. Dinamika rasti MKB pri koinokulacijah se ni razlikovala, smo pa določili manjšo največjo populacijo MKB pri KIN2. V nadaljevanju se je populacija MKB zelo manjšala, kljub temu, da se razgradnja jabolčne kisline še ni končala. To je bilo bolj izrazito pri KIN1 kot KIN2. V primeru inokulacij MKB po končani AF, smo določili nekoliko manjše začetne populacije MKB kot pri koinokulacijah. V nadaljevanju smo sicer opazili nekoliko hitrejšo rast MKB pri inokulacijah MKB kot pri koinokulacijah, vendar pa sta bili največji določeni populaciji MKB manjši. 28. dan vinifikacije, ko je MKF še potekala, smo določili največji populaciji MKB pri inokulacijah, kar je bilo prav tako teden dni kasneje kot pri predhodnih dveh sortah. Dinamika rasti se pri inokulacijah MKB ni razlikovala. Dinamika rasti MKB pri spontani vinifikaciji je bila podobna rasti MKB pri inokulacijah. Zadnji dan smo pri inokulacijah in koinokulacijah določili velikosti populacij MKB  $10^5$  CFU/mL. Največje populacije MKB pri inokulacijah so bile manjše v primerjavi z največjimi populacijami MKB pri koinokulacijah. Rast endogene populacije MKB med spontano vinifikacijo je bila zelo podobna dinamiki rasti MKB pri inokulacijah MKB. Opazne razlike med rastjo in velikostjo populacij MKB smo ugotovili med spontanima in vodenimi MKF, medtem ko so bile razlike med vodenimi MKF zelo majhne. Med koinokulacijo in inokulacijo MKB smo opazili razlike v velikosti največje populacije. Največja določena populacija MKB je bila nepričakovano značilna za koinokulaciji MKB, kot pri malvaziji. Inhibitornega vpliva populacije kvasovk na rast MKB nismo ugotovili.

**Preglednica 46: Rast kvasovk in mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami sorte laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 46: Growth of yeasts and lactic acid bacteria during vinifications of Welsh Riesling, vintage 2005, in 28 mL fermentation volume

vinifikacija	Mikro-organizem	Število mikroorganizmov (CFU/mL) med vinifikacijami (dan)						
		1	7	14/1	21/7	28/14	35/21	42/28
KON	kvasovke	$1,7 \times 10^7$	$6,9 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$	$5,6 \times 10^8$	$7,8 \times 10^7$	$9,2 \times 10^6$	$9,0 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
KIN1	kvasovke	$1,8 \times 10^7$	$6,2 \times 10^8$	$5,9 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$	$7,0 \times 10^7$	$8,7 \times 10^6$	$8,6 \times 10^5$
	MKB	$4,3 \times 10^5$	$7,9 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$	$6,8 \times 10^5$	$3,2 \times 10^6$	$2,3 \times 10^7$	$8,2 \times 10^7$
KIN2	kvasovke	$1,6 \times 10^7$	$6,0 \times 10^8$	$5,6 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$	$7,1 \times 10^7$	$8,4 \times 10^6$	$8,7 \times 10^5$
	MKB	$3,9 \times 10^5$	$7,0 \times 10^4$	$1,8 \times 10^5$	$7,2 \times 10^5$	$3,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^7$	$7,8 \times 10^7$
IN1	kvasovke	$1,7 \times 10^7$	$7,0 \times 10^8$	$6,6 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$	$6,7 \times 10^7$	$7,9 \times 10^6$	$8,5 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	$5,8 \times 10^5$	$1,8 \times 10^7$	$7,4 \times 10^7$	$9,4 \times 10^7$	$10,1 \times 10^7$
IN2	kvasovke	$1,9 \times 10^7$	$6,9 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$6,5 \times 10^7$	$7,6 \times 10^6$	$8,2 \times 10^5$
	MKB	<10	<10	$6,2 \times 10^5$	$1,5 \times 10^7$	$6,9 \times 10^7$	$9,1 \times 10^7$	$9,8 \times 10^7$
SP	kvasovke	$8,4 \times 10^5$	$5,8 \times 10^7$	$4,6 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$1,5 \times 10^7$
	MKB	<10	<10	<10	<10	$1,7 \times 10^5$	$2,4 \times 10^7$	$6,2 \times 10^7$

Rezultati spremljanja vsebnosti rasti kvasovk in MKB med šestimi vinifikacijami sorte laški rizling so prikazani v preglednici 46. V prilogi B20 so predstavljeni rezultati spremljanja rasti MKB in poteka MKF, medtem ko so rastne krivulje kvasovk in MKB prikazane ločeno v prilogah B15 in B16.

V inokuliranih vzorcih mošta laški rizling je bila populacija kvasovk prav tako večja za 100-krat oz. za dve log stopnji od endogene populacije kvasovk pri SP vinifikaciji. Glede na naš plan vzorčenja smo ponovno ugotovili največje populacije kvasovk 7. dan pri vodenih vinifikacijah, medtem ko je bila populacija kvasovk pri spontani vinifikaciji največja 21. dan. Največjo populacijo kvasovk smo 7. dan določili pri vinifikaciji IN1, medtem ko sta bili populaciji ponovno večji pri inokulaciji kot pri koinokulaciji in zelo primerljivi s populacijo pri kontrolni vinifikaciji. V nadaljevanju vodenih vinifikacij smo opazili konstantno populacijo kvasovk do 21. dneva, enako kot pri ostalih treh sortah. V nadaljevanju se je populacija kvasovk zmanjšala. Zadnji dan spremljanja rasti kvasovk smo pri vodenih vinifikacijah določili velikost populacij kvasovk  $10^5$  CFU/mL, medtem ko je bila endogena populacija kvasovk velika  $10^7$  CFU/mL. Največjo populacijo smo ponovno določili pri kontrolni vinifikaciji, medtem ko vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na velikost populacije kvasovk nismo ugotovili. Med vinifikacijami sorte laški rizling smo opazili razlike med rastjo in velikostjo populacij MKB med dvema spontanima in štirimi vodenimi MKF, medtem ko so bile razlike med vodenimi MKF zanemarljive.

Pri vodenih MKF sorte laški rizling je bil potek vodenih MKF najbolj moten med vsemi sortami poskusa z letnikom 2005. Med nobeno izmed vodenih MKF se razgradnja jabolčne kisline v opazovanem obdobju 42 dni ni zaključila. Znake začetkov spontane MKF smo opazili le spontani vinifikaciji, ne pa tudi pri kontrolni vinifikaciji. Pri slednji smo ves čas opazovanja določili velikost endogene populacije MKB manj kot 10 CFU/mL. To se je seveda odrazilo tudi na dinamiki rasti populacij MKB. Prvi dan po koinokulaciji MKB smo določili populaciji  $4,3 \times 10^5$  CFU/mL in  $3,9 \times 10^5$  CFU/mL. V nadaljevanju se populaciji MKB nista večali, temveč sta se celo zmanjšali. En teden po inokulaciji smo tako določili populaciji v velikosti  $7,9 \times 10^4$  CFU/mL in  $7,0 \times 10^4$  CFU/mL. V nadaljevanju sta se populaciji počasi povečevali. Vendar pa v nasprotju s preteklimi primeri, kar je bilo skladno s potekom razgradnje jabolčne kisline. Zadnji dan spremljanja dinamike rasti smo pri koinokulacijah sorte laški rizling določili največji populaciji, in sicer pri KIN1  $8,2 \times 10^7$  CFU/mL in pri KIN2  $7,8 \times 10^7$  CFU/mL. V primeru inokulacij MKB po končani AF, smo določili nekoliko večje začetne populacije MKB kot pri koinokulacijah, kar je bilo v nasprotju z ostalimi sortami. V nadaljevanju smo sicer opazili veliko razliko v rasti MKB pri inokulacijah MKB kot pri koinokulacijah, saj pri inokulacijah ni prišlo do zmanjšanja populacij MKB. 35. dan vinifikacije, ko je razgradnja jabolčne kisline še potekala, smo določili največji populaciji MKB pri inokulacijah, kar je bilo dva tedna kasneje kot pri chardonnayu in malvaziji ter teden dni kasneje kot pri sauvignonu. Dinamika rasti se pri inokulacijah MKB ni razlikovala, smo pa opazili razliko v največji populaciji MKB, ki je bila določena pri IN2. Zaradi motenj v začetku MKF pri sorti laški rizling, smo zadnji dan opazovanja pri inokulacijah in koinokulacijah določili večje populacije MKB,  $10^7$  CFU/mL. Predvsem neugodna kemijska sestava mošta sorte laški rizling in mogoče tudi inhibitorni vpliv populacije kvasovk na rast MKB sta bila vzrok za moten potek rasti populacij MKB in s tem poteka razgradnje jabolčne kisline.

#### 4.2.2.7 Kemijski parametri mladih in zorenih vin

Po zaključenih 42 dnevni vinifikacijah smo v šestih mladih vinih posamezne sorte letnika 2005 opravili analize kemijskih parametrov. Nadalje smo z vini postopali enako kot pri mikroviniifikacijskem poskusu z letnikom 2004. Mlada vina smo pretočili iz usedline. Na osnovi opravljene linije vezave žvepla smo jim dodali ustrezne količine  $K_2S_2O_5$ , tako da so vsebovala 50 mg/L prostega  $SO_2$  (priloga D1). Po dvomesečnem zorenju pri temperaturi  $8^\circ C$ , smo opravili analize enakih parametrov kot v mladih vinih. Komentarji rezultatov določenih parametrov (pH, hlapne kisline, organske kisline, sladkorji, glicerol) so zapisani v predhodnih poglavjih, zato je njihov komentar tu izpuščen.

**Preglednica 47: Kemijski parametri mladih vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**  
Table 47: Chemical parameters of young Chardonnay wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
pH	3,57 e	3,74 a	3,74 a	3,72 b	3,62 d	3,69 c	***
TK1 (g/L)	6,21 a	4,47 d	4,51 d	5,01 c	5,56 b	4,55 d	***
TK2 (g/L)	6,39 a	4,75 d	4,84 d	5,29 c	5,97 b	4,81 d	***
PK (mmol/L na pH)	47,70 c	53,90 a	53,89 a	54,00 a	49,21 b	53,79 a	***
HK (g/L)	0,35 d	0,41 c	0,46 c	0,45 c	0,52 b	0,78 a	***
VK (g/L)	0,50 b, c	0,48 c	0,41 d	0,51 a, b	0,51 a, b	0,54 a	***
JBK (g/L)	1,82 b	0,00 e	0,00 e	0,42 d	1,89 a	0,76 c	***
MK (g/L)	0,88 f	3,61 b	3,81 a	3,24 c	1,17 e	1,31 d	***
CK (mg/L)	379 a	181 d	0 f	267 b	195 c	173 e	***
JK (mg/L)	74 a	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	***
ŠK (mg/L)	40 b	40 b	40 b	40 b	40 b	41 a	*
RS (g/L)	2,55 b	1,25 c	1,15 c, d	1,10 c, d	0,95 d	4,60 a	***
SE (g/L)	22,7 b	21,3 c	21,1 c, d	20,9 d, e	20,7 e	25,8 a	***
alkohol (vol.%)	11,43 d	11,59 a	11,57 a, b	11,53 b, c	11,50 c	8,32 e	***
glukoza (g/L)	0,91 b	0,72 d	0,46 f	0,57 e	0,86 c	2,28 a	***
fruktoza (g/L)	1,20 b	0,38 e	0,19 f	0,56 d	0,94 c	5,88 a	***
saharoza (g/L)	0,38 a	0,38 a	0,36 a	0,36 a	0,38 a	0,37 a	nz
glicerol (g/L)	7,19 a	7,18 a	7,24 a	7,17 a	7,24 a	6,91 b	***
SF (mg/L)	154 a	139 b	134 c	126 e	130 d	119 f	***
FAN (mg N/L)	6 c	10 a, b	8 b, c	11 a, b	11 a, b	11 a	*

Legenda: \*\*\* P<0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P<0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P<0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

Vrednosti kemijskih parametrov v šestih mladih vinih chardonnay letnika 2005 so prikazani v preglednici 47. Statistično zelo visoko značilno razliko smo ugotovili v 17 od 20 parametrov. Primerjava vsebnosti skupnega ekstrakta, skupnih fenolov in FAN med mladimi vini in moštom sorte chardonnay je pokazala zmanjšanje njihove vsebnosti oz. vrednosti v vseh obravnavanih.

Med mladimi vino smi v parametrih kislosti (pH, skupne in titrabilne kisline, pufna kapaciteta) ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike, ki so bile posledica nedokončanih vodenih ali spontanih MKF pri treh vinifikacijah (KON, IN1, SP). Med mladimi vini, kjer je bila vodena MKF zaključena in vini, kjer se MKF ni začela, smo določili za 1,74 g/L manj titrabilnih in 1,64 g/L manj skupnih kislin. Največje pufne kapacitete (54,00 mmol/L na pH pri IN1) smo določili v mladih vinih, kjer je bila MKF zaključena, medtem ko smo najmanjšo določili v vzorcu kontrolne vinifikacije (47,70 mmol/L na pH).

Vsebnosti reducirajočih sladkorjev so se zelo razlikovale, kar je bilo posledica različne količine razgrajene jabolčne kisline, pri spontani vinifikaciji pa tudi aktivnosti kvasovk zaradi počasnega poteka AF.

Vsebnosti skupnega ekstrakta so se značilno razlikovale med vodenimi in spontanimi MKF. Večje razlike so nastale zaradi izvedene MKF oz. nepopolne MKF pa tudi zaradi preostanka sladkorja v primeru spontane vinifikacije. Največ skupnega ekstrakta, 25,8 g/L, je vsebovalo mlado vino spontane vinifikacije, AF še ni bila popolnoma zaključena. Kljub nedokončani razgradnji jabolčne kisline, so bile vsebnosti skupnega ekstrakta pri inokulacijah MKB manjše kot pri koinokulacijah.

Vsebnosti alkohola so bile med petimi vzorci mladih vin chardonnay vodenih vinifikacij zelo primerljive. Nahajale so se v intervalu med 11,43 in 11,59 vol.%. Ponovno je izstopal vzorec spontane vinifikacije z najmanjšo vsebnostjo (8,32 vol.%), saj AF še ni bila zaključena.

Vsebnosti skupnih fenolov so se med vsemi vinifikacijami zmanjšale, v povprečju za 96 mg/L. Primerjava koinokulacije in inokulacije MKB je pokazala večjo vsebnost v primerih koinokulacije kot inokulacije MKB, medtem ko med uporabljenima starterskima kulturama MKB nismo opazili vpliva na vsebnosti skupnih fenolov.

Primerjava vsebnosti FAN je pokazala majhne razlike, le nekaj mg N/L. Najmanjšo vsebnost smo določili v vzorcu kontrolne vinifikacije.

Na osnovi kemijskih parametrov mladih vin chardonnay letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne, mlečne in citronske kisline, skupnega ekstrakta, fruktoze in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost citronske kisline in skupnih fenolov.

**Preglednica 48: Kemijski parametri zorenih vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 48: Chemical parameters of aged Chardonnay wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
pH	3,60 e	3,76 a, b	3,74 b	3,77 a	3,64 d	3,71 c	***
TK1 (g/L)	5,27 a	4,07 c	4,11 c	3,94 d	4,84 b	4,12c	***
TK2 (g/L)	5,68 a	4,46 c, d	4,48 c	4,33 d	5,24 b	4,59 c	***
PK (mmol/L na pH)	56,21 c	59,19 b	59,13 b	63,66 a	56,53 c	59,40 b	***
HK (g/L)	0,39 d	0,45 c	0,48 c	0,49 c	0,55 b	0,84 a	***
VK (g/L)	0,48 b	0,49 b	0,42 c	0,49 b	0,52 a	0,53 a	***
JBK (g/L)	1,53 a	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,37 b	***
MK (g/L)	1,06 f	3,65 c	3,85 a	3,61 d	3,76 b	3,41 e	***
CK (mg/L)	312 a	149 c	0 f	135 d	112 e	167 b	***
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	42 a	41 b	42 a	40 b	41 b	39 c	***
RS (g/L)	1,55 b	0,91 c	0,97 c	0,76 c	0,81 c	2,90 a	***
SE (g/L)	19,3 b	18,4 c	18,4 c	18,2 c	18,1 c	23,9 a	***
alkohol (vol.%)	11,59 a	11,45 b	11,60 a	11,56 a	11,58 a	10,94 c	***
glukoza (g/L)	0,50 c	0,49 c	0,36 d	0,58 a	0,49 c	0,54 b	***
fruktoza (g/L)	1,08 b	0,19 e	0,49 d	0,71 c	0,12 f	2,75 a	***
saharoza (g/L)	0,31 a, b	0,33 a	0,19 c	0,34 a	0,31 a, b	0,27 b	***
glicerol (g/L)	7,11 a, b	7,10 a, b	7,16 a	7,07 b	7,14 a, b	6,76 c	***
SF (mg/L)	131 a	113 b	109 c	106 d	110 c	102 e	***
FAN (mg N/L)	7 b	9 a, b	9 a, b	10 a, b	12 a	10 a, b	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

V preglednici 48 so prikazani rezultati kemijskih analiz šestih zorenih vin chardonnay. Primerjava 20 parametrov je glede na vinifikacijo pokazala statistično zelo visoko značilne razlike kar pri 19. Le med vsebnostmi jantarne kisline statistična razlika ni obstajala, saj se je popolnoma razgradila v vseh primerih vinifikacije. Primerjava rezultatov parametrov pred in po zorenju vin je pokazala zmanjšanje vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne in citronske kisline, reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, alkohola, glukoze, fruktoze in glicerola. Povečanje smo opazili pri vrednostih pH in pufrni kapaciteti ter pričakovano v vsebnostih hlapnih kislin in mlečne kisline.

Primerjava parametrov kislosti je pokazala razlike med vinifikacijami vodenih in spontanih MKF zaradi nedokončane razgradnje jabolčne kisline v primeru kontrolne in spontane vinifikacije. Tudi na osnovi rezultatov statistične analize smo lahko zaključili, da so se vrednosti pH ter vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin razlikovale med vodenimi MKF glede na uporabljeno startersko kulturo MKB. Pri MKB2 smo določili večje vsebnosti kislin in nižji pH. Nismo opazili vpliva časa dodatka MKB. Vrednosti pH v primerih dokončanih MKF so bile visoke in ugodne za razvoj kvarljivcev v primeru neprimerne nege vina, saj so bile v intervalu med 3,60 in 3,77.

Na osnovi vsebnosti hlapnih kislin v vzorcih vodenih MKF nismo mogli ugotoviti vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB, saj so bile vsebnosti med 0,45 in 0,55 g/L. Vzorec kontrolne vinifikacije, kjer je potekla spontana MKF, je vseboval manj hlapnih kislin kot vzorci, kjer je potekla

vodena MKF. Največ hlapnih kislin smo pričakovano določili v vzorcu spontane vinifikacije. Vsebnosti hlapnih kislin v vseh šestih vzorcih vin chardonnay po zorenju so bile v pričakovanih mejah glede na zaključeno MKF.

Vsebnost vinske kisline se je po dvomesečnem zorenju malo zmanjšala v primerjavi z vini pred zorenjem, vendar ne zaradi delovanja MKB. Primerjava med časom dodatka in uporabljeno startersko kulturo MKB ni pokazala vpliva na vsebnost vinske kisline.

Primerjava vsebnosti jabolčne kisline v vinih pred in po zorenju je pokazala razlike. Razgradnja jabolčne kisline se je navkljub pretoku, žveplanju in znižanju temperature zaključila pri inokulacijah MKB po AF. Pri kontrolni in spontani vinifikaciji je MKF stekla, vendar se v času zorenja ni zaključila. Zaradi različne količine razgrajene jabolčne kisline so se mlada vina chardonnay razlikovala tudi po vsebnosti mlečne in citronske kisline. Le v vinu KIN2 nismo določili citronske kisline, medtem ko jo je največ, 312 mg/L, vseboval vzorec KON, kjer je bil preostanek jabolčne kisline največji. Pri zaključenih vodenih MKF smo ugotovili večje vsebnosti mlečne kisline z uporabo starterske kulture MKB2. Razlike v vsebnosti šikimske kisline so bile nezačilne.

Zaradi nadaljevanja aktivnosti MKB pri vodenih ali spontanih MKF so se zmanjšale tudi vsebnosti reducirajočih sladkorjev. Statistično zelo visoko značilne razlike so obstajale predvsem zaradi kontrolne in spontane vinifikacije.

Med mladimi in zorenimi vini vodenih vinifikacij smo opazili zmanjšanje vsebnosti skupnega ekstrakta povprečno za 2,9 g/L. V mladih vinih omenjenih vinifikacij smo ga določili od 18,1 do 19,3 g/L. V primeru kontrolne vinifikacije se spontana MKF ni zaključila, zato je bila tam vsebnost največja. Zmanjšanje vsebnosti skupnega ekstrakta v vseh primerih je bilo posledica zmanjševanja vsebnosti posameznih organskih kislin in sladkorjev, predvsem zaradi nastanka kalijevega hidrogentartrata in deloma zaradi delovanja MKB in tudi kvasovk. Pri vodenih MKF nismo opazili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost skupnega ekstrakta. Na osnovi vsebnosti reducirajočih sladkorjev in skupnega ekstrakta bi lahko večino vin sorte chardonnay letnika 2005 uvrstili v razred vrhunskih vin.

Vsebnosti alkohola so bile med petimi vzorci zorenih vin vodenih vinifikacij sorte chardonnay primerljive. Vsebnost etanola se je v vinu spontane vinifikacije povečala, kar kaže na aktivnost kvasovk v času zorenja vina. Statistično zelo visoko značilna razlika je obstajala predvsem zaradi spontane vinifikacije.

Različna količina razgrajene jabolčne kisline je pričakovano vplivala tudi na vsebnosti in razmerja glukoze in fruktoze v posameznih vzorcih. Vzorca kontrolne in spontane vinifikacije sta vsebovala več fruktoze kot glukoze, saj se razgradnja jabolčne kisline ni zaključila. V primerih vodenih MKF nismo mogli ugotoviti vpliva časa dodatka ali uporabljenih starterskih kultur MKB na vsebnosti heksoz.

Vsebnosti glicerola so bile v vinih po zorenju, z izjemo spontane vinifikacije, nekoliko manjše kot pred zorenjem. Na vsebnosti glicerola delovanje MKB ni vplivalo. Na osnovi vsebnosti glicerola bi lahko vina chardonnay uvrstili v vrhunski razred. Statistična obdelava podatkov je med vzorci potrdila razlike, vendar je k temu največ prispeval vzorec SP.

Z nadaljevanjem vinifikacije so se vsebnosti skupnih fenolov zmanjšale. Za zorena vina chardonnay so veljale enake zakonitosti vpliva časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB kot pri mladih vinih.

Na osnovi kemijskih parametrov zorenih vin chardonnay letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB le na vsebnost skupnih fenolov, medtem ko je uporabljena starterska kultura MKB vplivala na vsebnost mlečne in citronske kisline, glukoze in skupnih fenolov.

Vrednosti kemijskih parametrov v mladih vinih malvazija so prikazane v preglednici 49. Statistično zelo visoko značilne razlike smo med vzorci ugotovili v 14 od 20 parametrov. Med štirimi parametri kislosti je statistično visoko značilna razlika obstajala le pri pH in pufni kapaciteti. Statistične razlike vseh štirih kislinskih parametrov so bile posledica predvsem aktivnosti MKB, saj v primeru spontane

vinifikacije razgradnja jabolčne kisline ni bila popolnoma končana. Vrednosti pufrne kapacitete v mladih vinih se niso nahajale v intervalu visokih vrednosti kot pri letniku 2004, saj smo določili vrednosti od 45,70 (KON) do 48,18 mmol/L na pH (IN2). Vrednosti so bile pričakovano višje v primerih dokončanih vodenih MKF.

Večje vsebnosti skupnega ekstrakta smo določili v vinih koinokulacij MKB kot inokulacij. Ugotovili smo vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB, ne pa tudi uporabljene starterske kulture MKB. Največ skupnega ekstrakta smo določili v mladem vinu spontane vinifikacije, kjer AF še ni bila zaključena in pri kontrolni vinifikaciji.

Glede na vsebnost alkohola so se mlada vina statistično značilno razlikovala, vendar ne zaradi vpliva MKF, temveč predvsem zaradi nedokončane AF pri spontani vinifikaciji. Vsebnosti alkohola v mladih vinih so bile med 9,25 in 11,67 vol.%.

Tudi pri mladih vinih malvazije smo opazili značilne razlike v vsebnostih skupnih fenolov med vinifikacijami. Pri koinokulacijah MKB so vina vsebovala več skupnih fenolov kot pri inokulacijah MKB. Največjo vsebnost, 163 mg/L, smo določili v vzorcu kontrolne vinifikacije. Vsebnosti skupnih fenolov so se med vinifikacijo zmanjšale, povprečno za skoraj 38,0 %.

Pričakovano so se v primerjavi z moštom zmanjšale vsebnosti FAN in sicer iz zelo majhne vsebnosti 50 mg N/L na 4-6 mg N/L. Razlike med vini posameznih vinifikacij so bile neznačilne.

Na osnovi kemijskih parametrov mladih malvazija letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB le na vsebnost skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost hlapnih kislin in mlečne kisline.

**Preglednica 49: Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 49: Chemical parameters of young Malvasia wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
pH	3,62 c	3,65 b	3,65 b	3,63 c	3,68 a	3,62 c	***
TK1 (g/L)	4,23 a, b	4,20 a, b	4,29 a	4,29 a	4,03 c	4,15 b	**
TK2 (g/L)	4,62 a	4,47 a, b	4,57 a	4,59 a	4,31 c	4,39 b, c	*
PK (mmol/L na pH)	45,7 d	46,80 c	46,66 c	46,71 c	48,18 a	47,59 b	***
HK (g/L)	0,46 d	0,48 c, d	0,57 a, b	0,52 b, c	0,60 a	0,59 a	***
VK (g/L)	0,42 c	0,49 b	0,51 b	0,49 b	0,55 a	0,43 c	***
JBK (g/L)	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,60 a	***
MK (g/L)	3,32 b	3,27 c	3,42 a	3,19 d	3,33 b	2,62 e	***
CK (mg/L)	67 d	86 c	0 e	221 b	222 b	251 a	***
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	46 a	46 a	46 a	46 a	46 a	46 a	nz
RS (g/L)	2,30 b	0,90 c, d	1,00 c	0,70 d	0,85 c, d	7,25 a	***
SE (g/L)	20,9 b	19,1 c	18,8 c, d	18,5 d	18,5 d	25,8 a	***
alkohol (vol.%)	11,51 c	11,67 a	11,62 a, b	11,63 a, b	11,59 b	9,25 d	***
glukoza (g/L)	0,71 f	1,04 b	0,96 c	0,80 e	0,84 d	2,54 a	***
fruktoza (g/L)	0,67 b	0,53 e	0,58 d	0,62 c	0,59 c, d	5,85 a	***
saharoza (g/L)	0,33 a	0,33 a	0,35 a	0,34 a	0,37 a	0,36a	nz
glicerol (g/L)	6,31 a	6,27 a	6,24 a	6,29 a	6,26 a	5,93 b	***
SF (mg/L)	163 a	147 b	149 b	135 c	133 c	128 d	***
FAN (mg N/L)	4 a	4 a	5 a	5 a	6 a	5 a	nz

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Rezultati analiz kemijskih parametrov zorenih vin malvazija so prikazani v preglednici 50. Statistična analiza 20 parametrov je glede na vinifikacijo ugotovila statistično zelo visoko značilne razlike pri 15 parametrih. Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne in citronske kisline, reducirajočih

sladkorjev, skupnega ekstrakta, alkohola, glukoze, fruktoze in glicerola so se zmanjšale pri vseh vinifikacijah. Povečanje smo opazili le pri vrednostih pH in pufrne kapacitete ter vsebnostih hlapnih kislin in mlečne kisline.

**Preglednica 50: Kemijski parametri zorenih vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 50: Chemical parameters of aged Malvasia wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
pH	3,65 b, c	3,65 b, c	3,64 c	3,65 b, c	3,67 a	3,66 a, b	*
TK1 (g/L)	4,13 a	4,06 a, b	4,08 a, b	3,99 b	3,84 c	4,04 a, b	**
TK2 (g/L)	4,43 a	4,37 a	4,40 a	4,30 a, b	4,19 b	4,28 a, b	*
PK (mmol/L na pH)	46,81 f	48,41 d	48,03 e	50,22 b	51,01 a	48,89 c	***
HK (g/L)	0,49 e	0,52 d, e	0,59 b, c	0,55 c, d	0,63 b	0,69 a	***
VK (g/L)	0,40 d	0,48 b, c	0,53 a	0,51 a, b	0,48 c	0,46 c	***
JBK (g/L)	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,34 a	***
MK (g/L)	3,36 d	3,27 e	3,46 a	3,42 b	3,39 c	2,93 f	***
CK (mg/L)	0 d	0 d	0 d	134 c	201 a	190 b	***
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	44 b	44 b	46 a	44 b	43 c	46 a	***
RS (g/L)	1,63 b	0,90 c, d	1,02 c	0,70 d	0,85 c, d	3,65 a	***
SE (g/L)	18,1 b	17,7 c	17,3 d	17,0 d	17,0 d	21,1 a	***
alkohol (vol.%)	11,40 c	11,62 a	11,53 b, c	11,62 a	11,55 b	10,49 d	***
glukoza (g/L)	0,44 a	0,33 c	0,44 a	0,36 b, c	0,35 b, c	0,38 b	***
fruktoza (g/L)	1,16 a	0,40 c	0,42 c	0,46 b	0,46 b	0,42 c	***
saharozna (g/L)	0,28 b	0,28 b	0,33 a	0,29 a, b	0,30 a, b	0,28 b	nz
glicerol (g/L)	6,23 a	6,20 a, b	6,17 a, b	6,15 b	6,14 b	5,77 c	***
SF (mg/L)	138 a	126 b	124 b	119 c	114 d	106 e	***
FAN (mg N/L)	4 a	4 a	5 a	5 a	5 a	4 a	nz

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Zaradi nadaljevanja aktivnosti MKB, najverjetneje v začetku zorenja vina, so se vsebnosti kislinskih parametrov bolj poenotile. Z izjemo pufrne kapacitete, pri ostalih treh kislinskih parametrih nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB. V primerih inokulacije MKB smo določili večje vrednosti pufrne kapacitete kot pri koinokulacijah MKB. Navkljub zelo primerljivim vrednostim pH ter vsebnostih titrabilnih in skupnih kislin, so se vrednosti pufrne kapacitete gibale v dokaj širokem intervalu, od 46,81 do 51,01 mmol/L na pH. Pri inokulacijah MKB so bile večje kot pri koinokulacijah. Vrednosti pH so se nahajale med 3,64 do 3,67, kar pomeni, da so ustrezale rasti kvarljivcem ob neustrezni zaščiti vina.

Najnižjo vsebnost hlapnih kislin smo določili v vinu kontrolne vinifikacije (0,49 g/L) in najvišjo v vinu spontane vinifikacije (0,69 g/L), kjer je pri obeh potekla spontana MKF. Primerjava vsebnosti hlapnih kislin pri vodenih MKF je pokazala večje vsebnosti pri uporabi starterske kulture MKB2. Vpliv časa dodatka MKB se ni pokazal. Presenetila nas je najmanjša vsebnost hlapnih kislin pri kontrolni vinifikaciji, saj se je tam zaključila spontana MKF.

Vsebnosti vinske kisline po zorenju vin se niso bistveno spremenile. Primerjava med posameznimi vinifikacijami ni pokazala vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost vinske kisline.

Čeprav je bila razgradnja jabolčne kisline končana že v vseh mladih vinih z izjemo vinifikacije SP, je bila med zorenjem prisotna aktivnost MKB, kar je bilo razvidno iz zmanjšanja vsebnosti citronske kisline. Določili smo jo le še v vzorcih IN1, IN2 in SP. V primeru spontane vinifikacije je bila vsebnost



citronske kisline največja, saj smo v tem vzorcu določili tudi edini preostanek jabolčne kisline med šestimi vzorci. Vsebnosti šikimske kisline so se malo zmanjšale.

Vsebnosti reducirajočih sladkorjev po zorenju so se nekoliko zmanjšale. Večje vsebnosti reducirajočih sladkorjev smo določili v vzorcih kontrolne in spontane vinifikacije kot pri vodenih MKF. V vzorcu spontane vinifikacije smo določili največ reducirajočih sladkorjev, najverjetneje zaradi zelo slabega prehranskega statusa mošta malvazije z dušikovimi spojinami.

Enake zaključke kot za vsebnosti reducirajočih sladkorjev smo ugotovili za vsebnosti skupnega ekstrakta. Vsebnosti pri vodenih vinifikacijah so se v povprečju zmanjšale za 1,7 g/L. Največjo vsebnost, 21,1 g/L, smo določili v vinu spontane vinifikacije, kjer je bil preostanek reducirajočih sladkorjev največji. Na osnovi vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta vina malvazija ne bi mogli uvrstiti v kakovostni razred, saj so ga vsebovala manj kot 18 g/L.

Primerljive vsebnosti alkohola v vinih vodenih vinifikacij so se nahajale v intervalu od 11,40 do 11,62 vol.%. Ugotovili smo vpliv uporabljene starterske kulture MKB, saj so bile vsebnosti večje pri uporabi MKB1. Zaradi nedokončane AF je vzorec spontane vinifikacije vseboval najmanj alkohola (10,49 vol.%).

Vzorca vin, inokulirana z MKB po AF, in vzorca kontrolne in spontane vinifikacije so vsebovali več fruktoze kot glukoze. Vsebnosti glukoze so bile od 0,33 do 0,44 g/L, medtem ko so bile vsebnosti fruktoze od 0,40 do 1,16 g/L. Ta razlika je nastala najverjetneje zaradi neugodnega prehranskega statusa mošta z dušikovimi spojinami.

Primerjava vsebnosti glicerola v vinih vodenih vinifikacij ni pokazala izrazitega vpliva časa dodatka MKB. Največjo vsebnost smo določili v vinu kontrolne vinifikacije. Na osnovi vsebnosti glicerola, ki so se nahajale v intervalu od 6,14 do 6,23 g/L, bi vsa vina vodenih vinifikacij razporedili v vrhunski razred. Izjema je bilo seveda vino spontane vinifikacije, kjer je bila vsebnost glicerola nepričakovano manjša (5,77 g/L), čeprav naj bi se zaradi počasne AF tvorilo več glicerola.

Kot v vseh dosedanjih primerih so se vsebnosti skupnih fenolov med zorenjem vin zmanjšale, povprečno za 22 mg/L. Večje vsebnosti semo ugotovili pri koinokulacijah MKB kot inokulacijah.

Razlik v vsebnosti FAN pred in po zorenju vin malvazija nismo ugotovili. Zaradi sortne značilnosti zelo slabega prehranskega statusa z dušikovimi spojinami mošta malvazija je bila nizka vsebnost FAN v vinih pričakovana.

Na osnovi kemijskih parametrov zorenih vin malvazija letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vrednost pufrne kapacitete ter vsebnost titrabilnih kislin in skupnih fenolov. Vpliv uporabljene starterske kulture MKB se je pokazal v vsebnosti hlapnih kislin, mlečne kisline, reducirajočih sladkorjev in alkohola.

Rezultati kemijskih analiz mladih vinih sauvignon so zbrani v preglednici 51. Med vzorci smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike kar v 18 od 20 parametrov. Primerjava vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, skupnih fenolov in FAN med mladimi vini in moštom je pokazala zmanjšanje vsebnosti v vseh vinifikacijah.

Kot v poskusu z letnikom 2004 smo tudi pri letniku 2005 ugotovili statistično zelo visoko značilno razliko med vsemi štirimi parametri kislosti. Razlog sta bili nedokončani spontani MKF pri kontrolni in spontani vinifikaciji.

Mlada vina sauvignon so vsebovala skupnega ekstrakta v primerjavi z letnikom 2004. V mladih vinih z vodeno MKF smo določili manjše vsebnosti pri inokulaciji MKB. Največ skupnega ekstrakta je vsebovalo mlado vino kontrolne vinifikacije (25,3 g/L), kjer je MKF najmanj napredovala in enako kot pri spontani vinifikaciji.

Primerjava vsebnosti skupnih fenolov v mladih vinih in moštom je potrdila zmanjšanje vsebnosti, kot tudi že pri predhodnih dveh sortah. Ugotovili smo vpliv časa dodatka starterske kulture MKB na vsebnosti skupnih fenolov, saj smo pri koinokulacijah MKB določili večje vsebnosti skupnih fenolov.

Mlada vina so enako kot pri poskusu z letnikom 2004 vsebovala med vsemi obravnavanimi sortami največ FAN. Toda v vinih letnika 2005 nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljenih starterskih kultur MKB na vsebnost FAN.

Na osnovi kemijskih parametrov mladih vin sauvignon letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost skupnih kislin, skupnega ekstrakta in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost hlapnih kislin in vinske kisline.

**Preglednica 51: Kemijski parametri mladih vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 51: Chemical parameters of young Sauvignon wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
pH	3,30 c	3,51 a	3,51 a	3,50 a	3,51 a	3,44 b	***
TK1 (g/L)	7,12 a	5,22 c	5,16 c, d	5,08 d	5,17 c, d	6,21 b	***
TK2 (g/L)	7,40 a	5,58 c	5,50 c	5,34 d	5,46 c, d	6,50 b	***
PK (mmol/L na pH)	36,23 d	44,41 b	44,58 b	43,46 c	44,97 a	43,13 c	***
HK (g/L)	0,35 e	0,41 d	0,47 c	0,46 c, d	0,53 b	0,65 a	***
VK (g/L)	0,84 a	0,86 a	0,81 b	0,86 a	0,76 c	0,67 d	***
JBK (g/L)	2,01 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	2,04 a	***
MK (g/L)	0,95 f	3,70 b	3,87 a	3,46 c	3,23 d	1,26 e	***
CK (mg/L)	450 a	167 d	56 f	111 e	212 c	401 b	***
JK (mg/L)	249 a	0 c	0 c	0 c	0 c	47 b	***
ŠK (mg/L)	31 a	30 b, c	30b, c	30 b, c	29 c	31 a	***
RS (g/L)	1,25 a	0,82 b	0,91 b	0,70 b	0,75 b	1,35 a	***
SE (g/L)	25,3 a	24,2 b	23,5 c	22,9 d	22,6 d	23,3 c	***
alkohol (vol.%)	10,23 c	10,37 a	10,37 a	10,33 a, b	10,31 b	10,07 a	***
glukoza (g/L)	1,04 b	0,65 d	0,63 d	0,65 d	0,69 c	1,94 a	***
fruktoza (g/L)	0,87 b	0,35 d	0,36 d	0,40 c	0,42 c	3,14 a	***
saharoza (g/L)	0,34 a	0,33 a, b	0,33 a, b	0,30 b, c	0,29 b, c	0,27 c	*
glicerol (g/L)	6,15 b	6,22 a	6,12 b	6,23 a	6,24 a	6,10 b	**
SF (mg/L)	147 a	131 b	128 c	117 d	115 d	109 e	***
FAN (mg N/L)	12 c	19 b	18 b	19 b	20 b	51 a	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

V preglednici 52 so prikazane vrednosti kemijskih parametrov zorenih vin sauvignon. Ugotovili smo statistično zelo visoko značilne razlike v 16 od 20 parametrov. Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne, citronske in jantarne kisline, reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, alkohola, glukoze, fruktoze in glicerola so se zmanjšale pri vzorcih vseh vinifikacij v primerjavi z vzorci pred zorenjem, kot smo opazili že tudi pri predhodno obravnavanih sortah. Povečanje v vzorcih po zorenju v primerjavi pred njim smo opazili pri vrednostih pH in pufrne kapacitete ter vsebnostih hlapnih kislin in mlečne kisline.

V času zorenja vin se je MKF kljub enološkim pravilom (pretakanju, žveplanju, znižanju temperature) nadaljevala, najverjetneje v začetku zorenja. Posledično so se v primerjavi z mladimi vini nekoliko spremenile vsebnosti kislinskih parametrov, pa tudi določenih organskih kislin. V primerih kontrolne in spontane vinifikacije se razgradnja jabolčne kisline ni zaključila. V večini vzorcev smo določili tudi citronsko kislino. Vse to je vplivalo na statistično zelo visoko značilne razlike kislinskih parametrov. V vinih smo pH določili v intervalu med 3,32 in 3,55. Seveda so bile vrednosti višje v vzorcih, kjer se je MKF zaključila. V teh primerih je bil pH ravno na meji ugodni za rast kvarljivcev vina ob neupoštevanju primerne zaščite vina. Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin ter pufrne kapacitete so bile manjše v primerih zaključene razgradnje jabolčne kisline.

**Preglednica 52: Kemijski parametri zorenih vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**  
Table 52: Chemical parameters of aged Sauvignon wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
pH	3,32 c	3,53 b	3,53 b	3,53 b	3,54 a, b	3,55 a	***
TK1 (g/L)	6,64 a	4,78 c	4,63 d	4,69 c, d	4,64 d	5,48 b	***
TK2 (g/L)	6,97 a	5,18 c	5,03 d	5,06 c, d	4,99 d	5,88 b	***
PK (mmol/L na pH)	38,85 e	48,50 d	49,68 b	49,57 b	50,11 a	48,88 c	***
HK (g/L)	0,37 d	0,44 c	0,48 c	0,48 c	0,55 b	0,73 a	***
VK (g/L)	0,69 b	0,60 d	0,63 c	0,73 a	0,66 b	0,63 c	***
JBK (g/L)	1,57 a	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	1,36 b	***
MK (g/L)	2,64 d	3,86 b, c	3,97 a	3,84 c	3,88 b	1,96 e	***
CK (mg/L)	390 a	123 d	0 e	0 e	156 c	246 b	***
JK (mg/L)	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	nz
ŠK (mg/L)	32 a	32 a	32 a	32 a	32 a	30 b	**
RS (g/L)	1,10 a	0,74 c	0,80 b, c	0,63 c	0,68 c	1,02 a, b	*
SE (g/L)	23,9 a	21,2 b	21,1 b, c	20,8 c, d	20,6 d, e	20,3 e	***
alkohol (vol.%)	10,17 c	10,31 a, b	10,33 a	10,30 a, b	10,27 b	10,21 a	***
glukoza (g/L)	0,49 c, d	0,46 d	0,46 d	0,54 a	0,50 b, c	0,53 a, b	***
fruktoza (g/L)	0,85 b	0,21 c	0,21 c	0,19 c	0,18 c	1,38 a	***
saharoza (g/L)	0,25 a	0,26 a	0,24 a	0,26 a	0,26 a	0,25 a	nz
glicerol (g/L)	6,02 b	6,18 a	6,07 b	6,17 a	6,14 a	5,93 c	***
SF (mg/L)	124 a	114 b	110 c	98 e	101 d	89 f	***
FAN (mg N/L)	10 d	17 b, c	15 c	17 b, c	19 b	42 a	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Vsebnosti hlapnih kislin pri zaključenih vodenih MKF so bile zelo poenotene in na njihovi osnovi nismo mogli ugotoviti vpliva časa dodatka ali uporabljenih starterskih kultur MKB. Predvsem vzorca kontrolne in spontane vinifikacije sta prispevala k statistični razliki. Nekoliko nizka je bila vsebnost hlapnih kislin pri kontrolni vinifikaciji (0,37 g/L), kjer je potekla spontana MKF. Ni pa nas presenetila povečana vsebnost hlapnih kislin v primeru spontane vinifikacije (0,73 g/L).

Večje vsebnosti reducirajočih sladkorjev smo določili v vzorcih kontrolne in spontane vinifikacije v primerjavi z vzorci vodenih MKF. Vsebnosti jabolčne, mlečne in citronske kisline so se med vzorci statistično zelo visoko značilno razlikovale, kar je potrdilo nepopolno porabo jabolčne kisline v vzorcih, kjer je potekala MKF, tako vodena kot spontana.

Vpliv časa dodatka, ne pa tudi uporabljene starterske kulture MKB na vsebnost skupnega ekstrakta smo ugotovili v vzorcih vodenih MKF. Večje vsebnosti skupnega ekstrakta smo določili pri koinokulacijah MKB, kar smo ugotovili tudi v vzorcih letnika 2004. Na osnovi vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta bi vina po zorenju uvrstili v vrhunski razred, vendar tika nad spodnjo mejo in neupoštevajoč vzorca spontane vinifikacije. Vsebnosti skupnega ekstrakta v vinih sauvignon letnika 2004 so bile večje.

Na vsebnost alkohola MKF ni vplivala, saj so bile vsebnosti med 10,17 in 10,33 vol.%. Vsebnosti alkohola so bile nižje kot pri letniku 2004, saj je mošt vseboval manj sladkorjev.

Vsebnosti glukoze in fruktoze v obravnavanih vinih sauvignon so bile odvisne od posamezne vinifikacije. Vsebnosti fruktoze so bile večje pri kontrolni in spontani vinifikaciji, kjer se spontana MKF ni zaključila. V vzorcih vodenih vinifikacij so bile vsebnosti fruktoze manjše od vsebnosti glukoze, kar smo pričakovali zaradi aktivnosti MKB. Vsebnosti fruktoze v vinih sauvignon so bile najnižje med vsemi obravnavanimi sortami poskusa z letnikom 2005.

Primerjava vsebnosti glicerola v vinih vodenih vinifikacij ni pokazala vpliva niti časa dodatka niti uporabljenih starterskih kultur MKB. Vsebnosti v vzorcih vodenih vinifikacij so se nahajale med 6,07

in 6,18 g/L in na njihovi osnovi bi vina uvrstili v vrhunski razred. Izjema je bilo seveda vino spontane vinifikacije, kjer je bila vsebnost glicerola nepričakovano manjša navkljub nedokončani AF.

Primerjava vsebnosti skupnih fenolov pred in po zorenju je tudi v vinih sauvignon pokazala zmanjšanje vsebnosti, v povprečju za 18 mg/L. Ugotovili smo vpliv časa dodatka, ne pa vpčiva uporabljenih starterskih kultur MKB na vsebnosti skupnih fenolov.

Vsebnosti FAN se v primerjavi z mladimi vini sauvignon niso veliko spremenile. Vsebnosti v vzorcih vodenih MKF niso pokazale vpliva časa dodatka ali uporabljenih starterskih kultur MKB. K statistično zelo visoko značilni razliki sta prispevala predvsem vzorca kontrolne in spontane vinifikacije.

Na osnovi kemijskih parametrov zorenih vin sauvignon letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost skupnega ekstrakta, glukoze in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vrednost pufrne kapacitete in vsebnost mlečne kisline.

**Preglednica 53: Kemijski parametri mladih vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 53: Chemical parameters of young Welsh Riesling wines, vintage 2005, after in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
pH	3,25 d	3,41 a	3,38 b	3,42 a	3,36 c	3,34 c	***
TK1 (g/L)	7,10 a	5,57 d	5,58 d	5,35 e	5,76 c	6,86 b	***
TK2 (g/L)	7,47 a	5,97 c, d	5,94 d	5,72 e	6,10 c	7,25 b	***
PK (mmol/L na pH)	37,66 b	39,57 a	37,31 b, c	39,75 a	36,53 d	37,23 c	***
HK (g/L)	0,39 d	0,51 c	0,56 b, c	0,54 c	0,60 b	0,77 a	***
VK (g/L)	0,77 c	0,67 d	0,86 a	0,87 a	0,83 b	0,76 c	***
JBK (g/L)	1,98 a	0,42 e	0,45 d	0,37 f	0,88 c	1,87 b	***
MK (g/L)	0,49 f	2,66 c	2,81 b	2,95 a	2,17 d	0,63 e	***
CK (mg/L)	354 a	245 e	267 d	178 f	275 c	334 b	***
JK (mg/L)	146 a	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	***
ŠK (mg/L)	20 b	21 a	20 b	20 b	19 c	19 c	**
RS (g/L)	1,10 b	1,00 b	0,95 b	1,15 b	0,95 b	2,50 a	**
SE (g/L)	22,9 a	21,1 c	20,9 c, d	20,8 c, d	20,6 d	21,9 b	***
alkohol (vol.%)	11,31 d	11,48 b, c	11,53 b	11,49 b, c	11,44 c	11,72 a	***
glukoza (g/L)	0,98 b	0,63 d	0,69 c	0,47 e	0,69 c	1,36 a	***
fruktoza (g/L)	1,49 b	0,32 e	0,39 d	0,23 f	0,73 c	1,70 a	***
saharaza (g/L)	0,54 a	0,55 a	0,52 a	0,51 a	0,54 a	0,53 a	nz
glicerol (g/L)	6,36 a	6,28 b	6,21 b	6,26 b	6,28 b	6,36 a	**
SF (mg/L)	102 a	89 c	92 b	80 d	77 e	71 f	***
FAN (mg N/L)	5 c	7 b	6 b, c	7 b	7 b, c	20 a	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

Preglednica 53 prikazuje vrednosti kemijskih parametrov mladih vin laški rizling. V 16 od 20 parametrov smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike. To je bila posledica motenega poteka MKF pri sorti laški rizling, saj v nobenem od primerov vodene MKF razgradnja jabolčne kisline ni bila končana v 42 dneh.

Različna količina razgrajene jabolčne kisline je tako posledično vplivala na vrednostih vseh štirih kislinskih parametrov. Vsebnosti titrabilnih kislin vseh šestih mladih vin so se nahajale v širokem intervalu od 5,35 do 7,10 g/L. Najvišji vsebnosti sta bili določeni pri kontrolni in spontani vinifikaciji, saj je v teh dveh primerih MKF potekala najpočasneje. V dokaj širokem intervalu so se nahajale tudi vrednosti pufrne kapacitete, od 36,53 do 37,66 mmol/L na pH, vendar smo pričakovali večje razlike. Pufrne kapacitete mladih vin laškega rizlinga so izmed vseh obravnavanih sort v vinifikacijskem poskusu z letnikom 2005 dosegle najnižjo vrednost.

Kljub pričakovanim zastojem pri spontani vinifikaciji je AF sicer potekala dalj časa, vendar brez zastojev. Ravno v vzorcu te vinifikacije smo določili največjo vsebnost reducirajočih sladkorjev, 2,50 g/L. Vsa mlada vina smo na osnovi vsebnosti reducirajočih sladkorjev uvrstili v razred suhih vin. Mlada vina letnika 2005 so vsebovala več skupnega ekstrakta kot mlada vina letnika 2004. V obeh letnikih smo morali mošt zaradi neustrezne dozorelosti grozdja dosladkati. V vzorcih smo določili med 20,6 in 22,9 g/L skupnega ekstrakta.

Vsebnosti skupnih fenolov v mladih vinih so se v primerjavi z moštom zmanjšale tako kot pri ostalih treh sortah mladih vin. Zaradi najmanjše vsebnosti skupnih fenolov v moštu laškega rizlinga letnika 2005, so tudi mlada vina te sorte vsebovala najmanj skupnih fenolov. Ugotovili smo vpliv časa inokulacije starterskih kultur MKB. Vsebnosti skupnih fenolov so bile večje pri koinokulacijah MKB.

Glede na vsebnost FAN so se mlada vina statistično zelo visoko značilno razlikovala, vendar zaradi najvišje vsebnosti pri vzorcu iz spontane vinifikacije. Vsebnosti FAN so bile med vzorci vodenih vinifikacij zelo primerljive.

Na osnovi kemijskih parametrov mladih vin laški rizling letnika 2005 nismo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB v nobenem kemijskem parametru. Nasprotno se je vpliv uporabljene starterske kulture MKB odrazil na vrednostih pH in pufrne kapacitete ter na vsebnostih jabolčne in citronske kisline, glukoze in fruktoze.

**Preglednica 54: Kemijski parametri zorenih vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 54: Chemical parameters of aged Welsh Riesling wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

Parameter (enota)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
pH	3,19 e	3,38 b	3,37 b	3,40 a	3,33 c	3,28 d	***
TK1 (g/L)	6,66 a	4,93 d	4,91 d	4,84 d	5,27 c	6,28 b	***
TK2 (g/L)	6,95 a	5,28 d	5,24 d	5,18 d	5,60 c	6,62 b	***
PK (mmol/L na pH)	40,15 e	44,71 a	42,40 c	43,94 b	39,92 e	40,78 d	***
HK (g/L)	0,42 d	0,54 c	0,58 c	0,56 c	0,64 b	0,84 a	***
VK (g/L)	0,71 a	0,72 a	0,73 a	0,71 a	0,73 a	0,70 a	nz
JBK (g/L)	1,78 a	0,31 c, d	0,24 e	0,29 d	0,33 c	1,13 b	***
MK (g/L)	1,20 e	2,89 c	2,99 b	3,02 a	2,28 d	0,99 f	***
CK (mg/L)	338 a	227 c	245 b	139 f	212 d	201 e	***
JK (mg/L)	104 a	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	***
ŠK (mg/L)	20 a	20 a	19 a	19 a	19 a	20 a	nz
RS (g/L)	1,10 a	0,64 b	0,55 b	0,52 b	0,45 b	1,35 a	***
SE (g/L)	20,1 a	18,9 b	18,5 c	18,2 c, d	18,1 d	20,3 a	***
alkohol (vol.%)	11,29 b	11,50 a	11,51 a	11,51 a	11,53 a	11,16 c	***
glukoza (g/L)	0,55 a	0,52 a, b	0,49 b, c	0,49 b, c	0,46 c	0,54 a	***
fruktoza (g/L)	1,33 a	0,14 d	0,12 d	0,38 c	0,42 b	1,31 a	***
saharoza (g/L)	0,30 a	0,29 a	0,30 a	0,29 a	0,29 a	0,32 a	nz
glicerol (g/L)	6,13 d	6,39 b	6,51 a	6,32 c	6,27 c	6,31 c	***
SF (mg/L)	87 a	78 b	79 b	67 c	63 d	53 e	***
FAN (mg N/L)	5 b	6 b	6 b	7 b	6 b	16 a	***

Legenda: \*\*\* P<0,001 statistično zelo visoko značilna razlika; \*\* P<0,01 statistično visoko značilna razlika; \* P<0,05 statistično značilna razlika; nz P>0,05 statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (P>0,05)

Rezultati kemijskih analiz zorenih vin laški rizling so zbrani v preglednici 54. V zorenih vinih smo ugotovili statistično neznačilne razlike pri treh parametrih (vinska in šikimska kislina, saharoza), pri vseh ostalih 17 pa statistično zelo visoko značilno razliko. Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne, citronske in jantarne kisline, reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, alkohola, glukoze, fruktoze in glicerola so se zmanjšale v času zorenja v vseh vzorcih. Povečanje smo opazili pri vrednosti pH in pufrne kapacitete ter vsebnostih hlapnih kislin in mlečne kisline.

Kot smo že zapisali, je bil potek MKF med vinifikacijami vin letnika 2005 pri vinifikacijah sorte laški rizling najbolj moten. Prišlo je do velikih zamikov v njenem začetku. S pretokom, žveplanjem in znižanjem temperature smo sicer ustavili delovanje MKB, vendar so bile le-te v začetku zorenja še vedno aktivne. Različna količina razgrajene jabolčne kisline je bila glavni razlog za tako številčne statistično zelo visoko značilne razlike med vinifikacijami.

Vrednosti pH v vinih po zorenju so se nahajale v širokem intervalu, od 3,19 do 3,40, odvisno od količine razgrajene jabolčne kisline. Temu primerne so bile tudi vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin. Največjo vsebnost hlapnih kislin smo pričakovano določili v vzorcu spontane vinifikacije (0,84 g/L), najmanj pa v vzorcu kontrolne vinifikacije (0,42 g/L). Pri obeh je začela potekati spontana MKF.

Kot je bilo že zapisano, je bila razgradnja jabolčne kisline med vinifikacijami sorte laški rizling nepopolna tako pri vodenih kot spontanih MKF. Največ jabolčne kisline se je razgradilo z dodatkom starterskih kultur MKB. Različen potek MKF je bil vzrok za različne vsebnosti mlečne, citronske in jantarne kisline. Vsebnosti jabolčne kisline so bile med 0,24 in 1,78 g/L, medtem ko smo določili mlečno kislino v intervalu med 0,99 in 3,02 g/L. Citronska kislina se je iz začetne vsebnosti v moštu 368 mg/L zmanjšala na vsebnosti v intervalu med 139 in 338 mg/L.

V vzorcih vodenih MKF smo opazili manjše vsebnosti reducirajočih sladkorjev kot pri kontrolni in spontani vinifikaciji, kjer se je začela spontana MKF.

Vsebnosti skupnega ekstrakta so se tudi med zorenjem vina pričakovano zmanjšale. Vsebnosti so se v vzorcih vodenih vinifikacij v povprečju zmanjšale za 2,5 g/L. Čeprav je bilo zmanjšanje kar precejšnje, so bile vsebnosti skupnega ekstrakta v vinih laškega rizlinga letnika 2005 večje kot v vinih letnika 2004. Zaradi nedokončane razgradnje jabolčne kisline nismo mogli utemeljiti vpliva uporabljene starterske kulture MKB. Smo pa ugotovili vpliv časa dodatka MKB, saj so bile vsebnosti skupnega ekstrakta večje pri koinokulaciji MKB.

Mošt laškega rizlinga smo morali dosladkati in tako so se vsebnosti alkohola v vinih po zorenju nahajale v intervalu med 11,16 in 11,53 vol. %.

Navkljub različni količini razgrajene jabolčne kisline so bile v vzorcih opazne razlike v vsebnosti in razmerju glukoze in fruktoze. Vzorci vodenih MKF so vsebovali manj fruktoze, medtem ko smo v vzorcih spontanih MKF določili manj glukoze. Kljub različni količini porabljene jabolčne kisline je bil opazen vpliv vodene MKF v primerjavi s spontano.

Kljub največji vsebnosti saharoze v moštu laškega rizlinga letnika 2005 med vsemi obravnavanimi sortami, vsebnosti saharoze v vinih po zorenju niso bile največje v primerjavi z ostalimi tremi sortami. Povprečno so se vsebnosti saharoze od mošta do vina po zorenju zmanjšale kar za 0,47 g/L, več kot polovico. Kot že predhodno pri sortah letnika 2005 in tudi letnika 2004 način vinifikacije ni vplival na vsebnosti saharoze.

Vsebnosti glicerola v posameznih vzorcih so se statistično značilno razlikovale in opazili smo vpliv časa dodatka MKB. V vzorcih koinokulacije MKB smo določili več glicerola. Na osnovi zakonskih predpisov o vsebnosti glicerola (Pravilnik o pogojih ..., 2004) bi lahko vina laški rizling uvrstili v vrhunski razred, saj so se vsebnosti nahajale med 6,13 in 6,51 g/L. Te vsebnosti so bile zelo primerljive z vsebnostmi iz poskusa te sorte z letnikom 2004.

Vsebnosti skupnih fenolov, ki smo jih določili v posameznih vzorcih vin laškega rizlinga po zorenju so bile med najmanjšimi izmed vseh štirih obravnavanih sort letnika 2005. Zajemale so interval od 53 do 87 mg/L. V povprečju so se vsebnosti zmanjšale v primerjavi z vini pred zorenjem za 12 mg/L. Vsebnosti skupnih fenolov v moštu so bile pri letniku 2005 najmanjše, kar je bilo ravno obratno kot pri letniku 2004. Kot pri ostalih treh sortah smo tudi pri laškem rizlingu ugotovili vpliv časa dodatka inokuluma MKB na vsebnost skupnih fenolov.

Iz vsebnosti FAN, ki so bile med 5 in 16 mg N/L nismo mogli sklepati na vpliv vodene MKF. Vsebnosti iz poskusa letnika 2005 so bile manjše kot iz poskusa letnika 2004 tako v vinih kot že v moštu.

Na osnovi kemijskih parametrov zorenih vin laški rizling letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost citronske kisline, fruktoze, glicerola in skupnih fenolov. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala le na vsebnost citronske kisline.

#### 4.2.2.8 Hlapne spojine v mladih in zorenih vinih

V šestih vinih štirih sort iz poskusa z letnikom 2005 smo v alkoholnih destilatih vin pred in po zorenju opravili analize vsebnosti hlapnih spojin. Rezultati so prikazani v preglednicah od 49 do 56. Po dvomesečnem zorenju smo v vinih letnika 2005 določili naslednje povprečne vsebnosti posameznih spojin glede na sorto:

- izoamil alkohol; največ pri malvaziji (168 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (124 mg/L),
- 1-propanol; največ pri laškem rizlingu (40 mg/L) in najmanj pri malvaziji (18 mg/L),
- izobutanol; največ pri sauvignonu (25 mg/L) in najmanj pri chardonnayu (16 mg/L),
- 2-fenil etanol; največ pri malvaziji (28 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (9 mg/L),
- metanol; največ pri malvaziji (51 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (39 mg/L),
- etil laktat; največ pri sauvignonu (4,7 mg/L) in najmanj pri laškem rizlingu (3,5 mg/L),
- izoamil acetat; največ pri laškem rizlingu (3,7 mg/L) in najmanj pri malvaziji (1,4 mg/L),
- etil acetat; največ pri laškem rizlingu (42 mg/L) in najmanj pri malvaziji (28 mg/L),
- acetaldehid; največ pri laškem rizlingu (31 mg/L) in najmanj pri malvaziji (17 mg/L),
- diacetil; največ pri malvaziji (2,2 mg/L) in najmanj pri chardonnayu (1,6 mg/L),
- acetoin; največ pri sauvignonu (7,3 mg/L) in najmanj pri chardonnayu (6,9 mg/L).

Vsebnosti metil laktata in 2-fenil etilacetata smo glede na sorto določili le izjemoma pri posameznih vinifikacijah, kar smo opazili tudi pri poskusu z letnikom 2004. Med vsemi obravnavanimi spojinami smo v vseh vzorcih med višjimi alkoholi določili največje vsebnosti izoamil alkohola, med estri pa etil acetata. Opazili smo, da so zorena vina sort chardonnay in malvazija letnika 2005 v povprečju vsebovala zelo primerljive vsebnosti izobutanola, 2-fenil etanola in acetoina. Poleg acetoina smo pri sortah sauvignon in laški rizling ugotovili zelo primerljive vsebnosti tudi 1-propanola.

V preglednicah 55 in 56 so zbrane vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih chardonnay. V mladih vinih je bila vodena MKF končana pri koinokulacijah MKB. Po zorenju sta se zaključili tudi v primerih inokulacije MKB. V 11 od 13 parametrov smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike. Med zorenjem vin smo v primerih vodenih vinifikacij (brez SP) opazili zmanjšanje vsebnosti izobutanola ter povečanje vsebnosti 2-fenil etanola in diacetila. Spremembe vsebnosti posameznih spojin so bile posledica poteka kemijskih reakcij in tudi delne aktivnosti MKB, zlasti v primerih inokulacij z MKB in zorenjem vina. V vzorcu vina kontrolne vinifikacije po dvomesečnem zorenju smo v primerjavi z vzorci vodenih MKF določili najmanjše vsebnosti izobutanola, metanola, etil laktata, izoamil acetata in etil acetata. V vzorcu spontane vinifikacije, kjer MKF prav tako ni bila zaključena, smo določili med vsemi vzorci najmanj izoamil alkohola, 1-propanola, 2-fenil etanola in etil laktata. Primerjava vsebnosti omenjenih spojin v vzorcih vodenih MKF po zorenju je pokazala vpliv časa dodatka MKB v primeru izoamil alkohola (več pri inokulaciji MKB) in 2-fenil etanola (več pri koinokulaciji MKB). Pri vsebnostih izoamil alkohola, metanola in acetaldehida smo ugotovili vpliv uporabljenega inokuluma MKB, saj so bile vsebnosti večje pri dodatku MKB2. V vsebnostih 1-propanola, izobutanola, etil laktata, metil laktata, izoamil acetata, diacetila in acetoina nismo ugotovili vpliva časa dodatka ali uporabljenih starterskih kultur MKB. Glede na vsebnost je med vsemi spojinami v vinih pred in po zorenju zelo izstopal izoamil alkohol. Toda v primerjavi z letnikom 2004 so ga vina chardonnay letnika 2005 vsebovala precej manj. Vsebnosti diacetila, produkta metabolizma MKB, so se v vinih po zorenju nahajale med 0,5 in 2,3 mg/L. Te vsebnosti so bile zelo primerljive z vsebnostmi diacetila v vzorcih iz poskusa letnika 2004, kjer je potekla popolna razgradnja citronske kisline, medtem ko smo v vzorcih zorenih vin določili citronsko kislino v intervalu

med 0 in 312 mg/L. Vsebnosti etil laktata, najpomembnejšega estra MKF, so se nahajale v intervalu od 1,4 do 7,8 mg/L, kar je bilo manj kot v vzorcih vin letnika 2004.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v mladih vinih chardonnay letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost izoamil alkohola, 1-propanola, izobutanola, metanola, izoamil acetata, etil acetata in diacetila. Vpliv uporabljene starterske kulture MKB smo opazili le v vsebnosti etil laktata.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v zorenih vinih chardonnay letnika 2005 nismo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost katerekoli hlapne spojine. Uporabljena starterska kultura MKB pa je vplivala na vsebnost izoamil alkohola, metanola in acetaldehida.

Vsebnosti aromatičnih spojin v vinih malvazija pred in po dvomesečnem zorenju prikazujeta preglednici 57 in 58. Naj ponovimo, da so se v vseh petih vodenih vinifikacijah MKF (vodene in spontane) zaključile najkasneje 23. dan vinifikacije. Statistično zelo visoko značilne razlike v vsebnostih analiziranih spojin v zorenih vinih smo ugotovili pri 12 od 13 parametrov. Večje vsebnosti 1-propanola (izjema IN1) in acetaldehida smo določili v vinih po zorenju kot pred njim. Vsebnosti ostalih spojin so se zmanjšale ali povečale, odvisno od vinifikacije. V vzorcu vina kontrolne vinifikacije po zorenju smo med vsemi vzorci določili najmanj izobutanola in etil laktata. V vzorcu spontane vinifikacije smo določili najmanj izoamil alkohola in 1-propanola, medtem ko je ta vzorec vseboval največ etil acetata, acetaldehida in diacetila. Spremembe vsebnosti hlapnih spojin so bile posledica kemijskih reakcij povezanih z MKF in zorenjem vina. Primerjava vsebnosti etil laktata je pokazala, da sta ga vzorca kontrolne in spontane vinifikacije vsebovala manj kot vzorci vodenih MKF. Vpliv časa dodatka inokuluma MKB smo ugotovili v vsebnostih izoamil alkohola, 2-fenil etanola, acetaldehida in acetoina. Vsebnosti so bile večje pri inokulacijah MKB. Vpliv uporabljene starterske kulture MKB se je pokazal le pri diacetilu, kjer so bile vsebnosti večje pri uporabi MKB1. Vzorci vin malvazija so po zorenju vsebovali diacetila v intervalu med 1,5 in 3,2 mg/L, kar je bilo primerljivo z vsebnostmi v vinih letnika 2004, navkljub za 131 mg/L večji vsebnosti citronske kisline v letniku 2005. Vsebnosti etil laktata v vzorcih letnika 2005 so bile v ožjem intervalu v primerjavi s poskusom letnika 2004, med 2,3 in 5,5 mg/L.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v mladih vinih malvazija letnika 2005 nismo ugotovili vpliva časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost katerekoli hlapne spojine. Vpliv uporabljene starterske kulture MKB smo opazili v vsebnostih izoamil alkohola, 1-propanola, 2-fenil etanola, etil laktata, etil acetata in acetaldehida.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v zorenih vinih malvazija letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost izoamil acetata, acetaldehida in 2-fenil etilacetata. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost 2-fenil etanola in diacetila.

Preglednici 59 in 60 prikazujeta vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih sauvignon. Razgradnja jabolčne kisline je bila končana v vseh primerih vodenih MKF. V mladih smo ugotovili statistično visoko značilno razliko v 11, v zorenih vinih pa v vseh 13 parametrih. Med zorenjem so v vseh vzorcih vodenih vinifikacij zmanjšale vsebnosti 2-fenil etanola in etil laktata, medtem ko so se povečale 1-propanola, izobutanola in acetaldehida. Vzorec vina po zorenju kontrolne vinifikacije je med vsemi vseboval najmanj etil laktata, medtem ko je vzorec spontane vinifikacije vseboval najmanj izoamil alkohola, 1-propanola in izobutanola. V vinih po zorenju smo opazili vpliv časa dodatka inokuluma MKB na vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola, 2-fenil etanola, izoamil acetata, etil acetata in acetaldehida. Vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola in 2-fenil etanola so bile večje v primeru uporabe MKB1, medtem ko so bile vsebnosti izoamil acetata, etil acetata in acetaldehida večje z uporabo MKB2. Vpliv časa dodatka MKB smo ugotovili le za vsebnosti etil laktata in acetoina, ki so bile večje pri inokulaciji MKB. V vinih po zorenju smo določili vsebnosti diacetila v intervalu med 0,3 in 3,6 mg/L (primerljivo z vini letnika 2004). Vsebnosti etil laktata so se nahajale v ožjem intervalu, med 2,6 in 6,4 mg/L, v primerjavi z vini letnika 2004.



Na osnovi vsebnosti hlapnih v mladih vinih sauvignon letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost 1-propanola, izobutanola, etil laktata in acetaldehida. Vpliv uporabljene starterske kulture MKB smo opazili na vsebnostih izoamil alkohola in metanola.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v zorenih vinih sauvignon letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB le na vsebnost etil laktata. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala na vsebnost izoamil alkohola, izobutanola, 2-fenil etanola, izoamil acetata, etil acetata in acetaldehida.

**Preglednica 55: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 55: Content of volatile compounds in young Chardonnay wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
izoamil alkohol	149,5 d	201,5 a	162,1 b	157,1 c	157,4 c	70,3 e	***
1-propanol	44,6 b	46,7 a	42,4 c	23,2 e	24,3 d	12,5 f	***
izobutanol	21,6 c	32,9 a	24,8 b	16,5 d	16,5 d	10,4 e	***
2-fenil etanol	13,3 c	19,9 a	14,3 c	17,4 b	20,9 a	10,9 d	***
metanol	46,1 b	49,9 a	45,6 c	39,4 e	40,5 d	32,8 f	***
etil laktat	2,1 e	2,9 d	13,5 a	4,5 c	6,0 b	4,6 c	***
metil laktat	0,0 b	3,9 a	0,0 b	3,5 a	0,0 b	0,0 b	***
izoamil acetat	3,7 a	3,0 b	3,7 a	2,5 c	2,4 c	2,0 d	***
etil acetat	38,7 a	31,5 c	35,8 b	31,2 d	29,5 e	26,8 f	***
acetaldehid	26,4 b	18,4 c	16,4 d	8,8 e	15,2 d	45,2 a	***
2-fenil etilacetat	0,0 b	0,0 b	0,0 b	1,9 a	0,0 b	0,0 b	***
diacetil	0,4 b	0,7 b	0,5 b	1,6 a	0,7 b	0,5 b	**
acetoin	6,2 b	7,2 a	7,2 a	6,2 b	7,1 a, b	6,2 b	*

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 56: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 56: Content of volatile compounds in aged Chardonnay wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
izoamil alkohol	137,5 d	158,8 c	163,5 b	163,9 b	166,1 a	103,8 e	***
1-propanol	22,3 d	23,5 c	25,4 a	24,8 b	25,0 a, b	19,4 e	***
izobutanol	14,4 c	16,5 b	17,7 a	17,4 a	17,7 a	14,9 c	***
2-fenil etanol	16,9 d	23,3 a, b	22,3 b, c	21,4 c	24,1 a	14,9 e	***
metanol	39,7 e	41,7 d	44,1 a	42,6 c	43,0 b	42,9 b, c	***
etil laktat	3,9 c	7,8 a	3,9 c	4,1 c	5,2 b	1,4 d	***
metil laktat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
izoamil acetat	2,4 b	2,5 a, b	2,7 a	2,8 a	2,5 a, b	2,4 b	nz
etil acetat	26,8 e	32,3 d	35,7 a	35,1 b	33,8 c	35,1 b	***
acetaldehid	18,5 c	16,0 d	32,8 a	18,4 c	24,8 b	16,6 d	***
2-fenil etilacetat	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,3 a	***
diacetil	2,3 a	0,5 c	2,0 a	2,1 a	1,4 b	1,2 b	***
acetoin	6,3 b, c	6,2 b, c	7,1 b	9,1 a	6,1 c	6,2 b, c	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 57: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 57: Content of volatile compounds in young Malvasia wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
izoamil alkohol	159,4 e	181,8 b	173,4 c	186,6 a	166,6 d	128,5 f	***
1-propanol	16,8 b	17,6 a	16,8 b	16,6 b	16,0 c	12,8 d	***
izobutanol	13,7 d	16,5 c	17,5 b	17,6 b	16,5 c	22,0 a	***
2-fenil etanol	21,9 e	29,6 c	22,8 e	37,8 a	24,4 d	35,8 b	***
metanol	47,2 e	46,2 f	49,2 c	51,5 b	48,7 d	52,3 a	***
etil laktat	5,3 d	15,2 a	6,7 c	8,7 b	3,5 e	8,9 b	***
metil laktat	4,4 a	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	***
izoamil acetat	1,6 a, b	1,4 b	1,5 b	1,4 b	1,5 b	2,0 a	*
etil acetat	28,1 c	27,2 d	26,4 e	30,0 b	28,1 c	34,9 a	***
acetaldehid	11,4 b, c	10,3 c	12,3 b	10,0 c	12,0 b	22,7 a	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
diacetil	2,9 a	1,9 b	1,5 b	1,4 b	1,3 b	1,8 b	***
acetoin	7,6 a, b	7,7 a, b	6,9 b	7,0 b	8,2 a	7,0 b	*

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 58: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 58: Content of volatile compounds in aged Malvasia wines, vintage 2005 in 28 L, fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
izoamil alkohol	166,8 e	176,0 c	167,9 d	180,7 b	186,2 a	132,6 f	***
1-propanol	20,2 a	18,0 b	17,1 c	16,6 c	18,2 b	16,1 d	***
izobutanol	15,2 d	17,1 c	16,3 c	16,8 c	18,4 b	21,5 a	***
2-fenil etanol	20,6 d	28,0 c	20,3 d	38,7 a	28,5 c	31,3 b	***
metanol	49,9 d	53,0 b	49,3 e	51,6 c	53,6 a	51,6 c	***
etil laktat	2,3 d	5,5 a	4,4 b	3,1 c	5,3 a	2,9 c	***
metil laktat	0,0 b	0,0 b	0,0 b	4,2 a	0,0 b	0,0 b	***
izoamil acetat	1,7 a, b	1,4 a, b	1,4 a, b	0,7 c	1,0 b	1,8 a	***
etil acetat	31,7 b	26,1 d	26,2 d	20,7 e	29,7 c	32,9 a	***
acetaldehid	15,4 b	11,1 d	13,2 c	19,3 a	19,6 a	30,5 a	***
2-fenil etilacetat	0,0 b	0,2 a	0,4 a	0,0 b	0,0 b	0,0 b	***
diacetil	2,0 b, c	2,7 a	1,9 b, c	2,1 b	1,5 c	3,2 a	***
acetoin	6,2 c	7,0 b, c	6,0 c	7,7 a, b	8,1 a	6,2 c	**

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 59: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**  
Table 59: Content of volatile compounds in young Sauvignon wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
izoamil alkohol	146,2 e	175,8 b	159,1 c	177,5 a	148,5 d	105,4 f	***
1-propanol	24,7 c	25,8 b	24,8 c	40,2 a	40,1 a	18,2 d	***
izobutanol	15,6 e	18,7 c	17,1 d	31,2 a	23,3 b	16,9 d	***
2-fenil etanol	18,1 c	24,9 a	23,8 a, b	23,1 b	17,0 c	11,1 d	***
metanol	39,3 e	44,7 c	42,6 d	46,0 a	45,2 b	45,4 b	***
etil laktat	9,7 c	5,9 d	9,7 c	10,9 a	10,4 b	6,0 d	***
metil laktat	0,0 c	0,0 c	0,0 c	3,8 b	3,5 b	4,1 a	***
izoamil acetat	2,9 a	3,0 a	2,8 a	1,6 c	3,1 a	2,2 b	***
etil acetat	36,1 a	36,1 a	34,3 b	22,2 e	32,4 c	27,6 d	***
acetaldehid	16,7 b	7,7 d	7,4 d	11,3 c	20,3 a	19,4 a	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
diacetil	0,5 b	0,7 b	0,4 b	0,6 b	1,3 a	0,6 b	*
acetoin	6,1 b	6,2 b	7,0 b	6,2 b	8,5 a	6,4 b	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 60: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 60: Content of volatile compounds in aged Sauvignon wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
izoamil alkohol	141,2 d	184,7 a	115,4 f	174,8 b	160,5 c	125,6 e	***
1-propanol	42,6 b	43,2 a	39,7 c	39,7 c	42,6 b	24,6 d	***
izobutanol	20,5 c	30,0 a	20,3 c	30,7 a	24,9 b	20,2 c	***
2-fenil etanol	16,0 c	22,2 a	8,5 e	18,7 b	16,1 c	12,8 d	***
metanol	45,4 d	49,8 a	37,5 e	45,9 c	48,9 b	48,8 b	***
etil laktat	2,6 e	3,4 d	4,1 c	6,4 a	6,1 a	5,7 b	***
metil laktat	4,4 a	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	***
izoamil acetat	3,2 b	2,2 c	3,6 a	1,3 d	2,6 c	2,3 c	***
etil acetat	34,8 b	28,9 e	41,3 a	17,9 f	30,9 d	31,6 c	***
acetaldehid	25,4 b	18,3 e	29,9 a	19,9 d	21,5 c	25,1 b	***
2-fenil etilacetat	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,8 a	0,0 b	0,0 b	***
diacetil	0,3 d	3,6 a	2,5 b	0,5 d	1,8 c	3,2 a	***
acetoin	6,3 c	6,2 c	6,3 c	10,3 a	6,8 b, c	7,5 b	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 61: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih laški rizling letnika 2005 fermentaciji v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 61: Content of volatile compounds in young Welsh Riesling wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
izoamil alkohol	121,2 c	117,5 d	127,2 b	131,0 a	116,4 e	111,4 f	***
1-propanol	38,9 c	39,9 b	40,1 b	40,7 a	40,3 a, b	33,3 d	***
izobutanol	19,2 d	20,2 c	22,5 b	23,7 a	20,5 c	15,9 e	***
2-fenil etanol	9,4 a	6,6 c	9,0 a, b	7,9 b	6,6 c	6,3 c	***
metanol	38,1 d	37,0 f	38,9 b	38,5 c	37,7 e	39,4 a	***
etil laktat	4,9 a	2,6 d	2,0 e	4,5 b	3,5 c	2,0 e	***
metil laktat	0,0 b	4,3 a	0,0 b	4,1 a	0,0 b	0,0 b	***
izoamil acetat	2,9 c	3,7 b	3,7 b	4,0 b	3,8 b	4,8 a	***
etil acetat	33,5 f	42,6 d	43,5 b	42,9 c	40,8 e	49,7 a	***
acetaldehid	37,2 a	31,4 d	31,6 d	27,5 e	34,1 c	35,7 b	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	nz
diacetil	2,5 c	3,1 a, b	3,1 a, b	3,4 a	2,8 b, c	0,6 d	***
acetoin	6,3 b	7,5 a	6,2 b	8,3 a	6,4 b	6,5 b	*

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

**Preglednica 62: Vsebnosti hlapnih spojin v zorenih vinih laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 62: Content of volatile compounds in aged Welsh Riesling wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

spojina (mg/L)	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	Značilnost
izoamil alkohol	127,8 b	118,8 e	123,6 c	133,3 a	118,7 e	120,8 d	***
1-propanol	41,5 b	40,3 b	38,9 c	41,4 a	41,3 a	37,1 d	***
izobutanol	20,1 c	20,4 c	21,8 b	23,9 a	20,5 c	17,6 d	***
2-fenil etanol	9,1 a	8,0 a	8,5 a	9,3 a	8,8 a	8,7 a	nz
metanol	39,0 c	38,2 d	37,9 d	40,2 b	38,9 c	41,5 a	***
etil laktat	1,8 c	4,3 b	4,1 b	4,8 a	4,0 b	2,0 c	***
metil laktat	0,0 b	0,0 b	0,0 b	4,4 a	0,0 b	0,0 b	***
izoamil acetat	3,2 c	3,4 b, c	3,3 b, c	3,6 b	3,6 b	4,8 a	***
etil acetat	39,7 e	40,7 d	35,9 f	41,6 c	41,9 b	49,6 a	***
acetaldehid	36,0 a	28,8 c	27,5 d	25,8 e	31,2 b	36,7 a	***
2-fenil etilacetat	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	***
diacetil	0,5 d	2,4 b	2,4 b	3,2 a	2,9 a, b	1,4 c	***
acetoin	6,4 b	6,7 b	6,2 b	8,6 a	8,4 a	6,9 b	***

Legenda: \*\*\*  $P \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna razlika; \*\*  $P \leq 0,01$  statistično visoko značilna razlika; \*  $P \leq 0,05$  statistično značilna razlika; nz  $P > 0,05$  statistično neznačilna razlika; skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo ( $P > 0,05$ )

V preglednicah 61 in 62 so prikazane vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih laškega rizlinga. V mladih vinih smo določili statistično zelo visoko značilne razlike v 11, v zorenih vinih pa v 12 od 13 parametrov. Kot smo videli iz predhodnih rezultatov je bil začetek vodenih MKF zelo zamaknjen, zato smo v mladih in zorenih vinih določili različne vsebnosti jabolčne kisline. V preostalih dveh vzorcih je spontana MKF sicer stekla, vendar so bile vsebnosti jabolčne kisline večje. Verjetneje je to prispevalo tudi k statistično zelo visoko značilni razliki v vsebnostih vseh spojin v posameznem vinu, razen 2-fenil etanola. Primerjava vsebnosti spojin v vzorcih pred in po zorenju je tudi odražala vpliv različne količine razgrajene jabolčne kisline, saj smo le za acetaldehid ugotovili zmanjšanje vsebnosti med zorenjem. Glede na čas dodatka inokuluma MKB smo v vzorcih vodenih MKF po zorenju pri inokulacijah MKB ugotovili povečanje vsebnosti izoamil alkohola, 1-propanola, 2-fenil etanola, metanola, etil laktata in acetoina ter zmanjšanje vsebnosti izoamil acetata in

acetaldehida. V vzorcih po zorenju pri koinokulacijah MKB smo ugotovili zmanjšanje vsebnosti izoamil acetata, etil acetata, acetaldehida in diacetila ter povečanje etil laktata. V vinih po zorenju smo ugotovili vpliv uporabljenih starterskih kultur MKB le za metanol, kjer so bile vsebnosti večje z uporabo MKB1. Vpliv časa dodatka inokuluma MKB se je pokazal v petih hlapnih spojinah. Vsebnosti metanola, izoamil acetata, etil acetata in acetoina so bile večje pri inokulacijah MKB. V vsebnostih acetaldehida med vzorci vodenih vinifikacij nismo ugotovili vpliva časa ali uporabljenega inokuluma MKB. Etil laktat je bil v vzorcih zorenih vin prisoten v ožjem intervalu, od 1,8 do 4,8 mg/L, kot v poskusu letnika 2004. Vsebnosti diacetila so bile večje v primerih vodene kot spontane MKF, nahajale so se med 0,5 in 3,2 mg/L, kot v vzorcih letnika 2004.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v mladih vinih laški rizling letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB le na vsebnost etil laktata, medtem ko smo vpliv uporabljene starterske kulture MKB opazili v vsebnostih metil laktata in acetoina.

Na osnovi vsebnosti hlapnih v zorenih vinih laški rizling letnika 2005 smo ugotovili vpliv časa dodatka starterskih kultur MKB na vsebnost 1-propanola, metanola, etil acetata, diacetila in acetoina. Uporabljena starterska kultura MKB je vplivala le na vsebnost etil acetata.

#### 4.2.2.9 Senzorična analiza

Vina letnika 2005 iz mikroviniifikacijskega poskusa smo senzorično ocenili z Buxbaumovo metodo. Prvič takoj po končanih 42 dnevni vinifikacijah in drugič po dvomesečnem zorenju. V preglednici 63 so predstavljene povprečne ocene petih ocenjevalcev. Večina vin se je uvrstila v kakovostni razred (16-18 točk), nekatera, vendar manj, v razred namiznih vin (14-16 točk). Med posameznimi vinifikacijami kot tudi vini pred in po zorenju smo ugotovili razlike. Z najvišjo oceno, 17,4, je bilo ocenjeno mlado vino sorte chardonnay, ki je bilo vinificirano z inokulacijo MKB2 po končani MKF. Najnižje število točk, 15,2, je prejelo mlado vino sorte laški rizling, pridelano s kontrolno vinifikacijo. Praviloma so vina kontrolne vinifikacije prejela najnižje število točk, kar smo pričakovali pri vinih spontanih vinifikacij. Večina vin, razen CH KON, SAU KIN1, SAU SP, LR KON in LR IN1, je po dvomesečnem zorenju prejela manj točk kot mlada vina. V povprečju so bila v primerjavi z mladimi vini zorena vina chardonnay ocenjena z 0,51 točke manj, malvazije z 0,42, sauvignona 0,35 n laškega rizlinga 0,38. Vina iz toplejšega vinorodnega območja so v povprečju zgubila več točk kot vina iz hladnejšega vinorodnega območja. Znižanje senzorične ocene zorenih vin lahko pripišemo prenizki količini dodanega SO<sub>2</sub>, nakljub izvedenemu žveplanju vina na 50 mg/L prostega SO<sub>2</sub> na osnovi linije vezave žvepla. MKB kvarljivci, ki negativno vplivajo na kakovost vina, niso bili prisotni. Premajhna količina prostega SO<sub>2</sub> se je veliko bolj izrazila pri sortah iz vinorodne dežele Primorska, torej pri chardonnayu in malvaziji. Doba zorenja vin bi morala biti ob večkratni kontroli in večji zaščiti vin z SO<sub>2</sub> daljša. K slabši oceni zorenih vin je prispevalo tudi dejstvo, da se vina pri višjem pH starajo hitreje.

Mlada vina posamezne sorte so bila glede na povprečno senzorično oceno šestih vin, od najvišje do najnižje, razvrščena sledeče: chardonnay in malvazija (16,8), sauvignon (16,7) in laški rizling (16,5). Zorena vina posamezne sorte pa so bila glede na povprečno senzorično oceno šestih vin, od najvišje do najnižje, razvrščena sledeče: sauvignon (16,4), chardonnay in malvazija (16,3) ter laški rizling (16,2).

Med mladimi vini sorte chardonnay je bil najbolje ocenjen vzorec (17,4) inokulacije MKB2, medtem ko je najnižjo oceno dobil vzorec kontrolne vinifikacije (16,0). Med zorenimi vini je najvišje število točk dosegel vzorec koinokulacije MKB1 (16,9). Vzorca kontrolne vinifikacije in inokulacije MKB2 sta dobila najnižjo oceno (15,9). Vina sorte chardonnay so po zorenju dosegla nižje ocene kot vina pred zorenjem. Nadaljevanje MKF med zorenjem smo opazili pri vinih KON, IN1, IN2 in SP, kar je tudi prispevalo k zmanjšanju senzorične ocene.

Vina sorte malvazija so dobila zelo podobne ocene kot vina sorte chardonnay. Med mladimi vini je bil najbolj ocenjen vzorec inokulacije z MKB2 (17,3), medtem ko je najnižjo oceno prejel vzorec kontrolne vinifikacije (16,0), enako kot pri sorti chardonnay. Po dvomesečnem zorenju sta vzorca koinokulacije in inokulacije z MKB2 prejela najvišje število točk (16,6), medtem ko je najnižje število točk pripadlo vzorcu kontrolne vinifikacije. Kot pri vinih sorte chardonnay, so bila tudi vina malvazije po zorenju slabše ocenjena kot mlada vina. Nadaljevanje MKF med zorenjem smo opazili pri vinih spontane vinifikacije, kar je tudi prispevalo k zmanjšanju senzorične ocene.

Mlada vina sorte sauvignon so bila podobno ocenjena kot vina predhodnih dveh sort. 17,3 točke je prejelo mlado vino inokulacije z MKB1. Z najmanj točkami (16,0) je bilo ocenjeno mlado vino kontrolne vinifikacije. Med zorenimi vini so degustatorji dodelili največ točk vzorcu inokulacije MKB1, najmanj pa vzorcu spontane vinifikacije. Tudi pri sorti sauvignon so bila mlada vina ocenjena bolje kot vina po zorenju. Nadaljevanje MKF med zorenjem smo opazili KON in SP, kar je tudi prispevalo k zmanjšanju senzorične ocene.

Vina sorte laški rizling so bila med vsemi sortami najnižje ocenjena. Najvišjo oceno, 17,1, med mladimi vini sta prejela vzorca koinokulacije KIN2 in spontane vinifikacije. Kontrolni vzorec je bil ocenjen najslabše (15,2). Med vzorci po dvomesečnem zorenju je najvišjo oceno (16,4) prejel vzorec IN1. Kot že pri predhodnih treh sortah, so bila tudi mlada vina laškega rizlinga bolje ocenjena kot zorena vina. Nadaljevanje MKF med zorenjem smo opazili pri vseh šestih vinih, zaradi zastojev tako med vodeno MKF kot tudi spontano.

**Preglednica 63: Rezultati senzoričnega ocenjevanja mladih in zorenih vin letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini**

Table 63: Sensory analysis results of young and aged wines, vintage 2005, in 28 L fermentation volume

	po 42 dnevni vinifikaciji						po dvomesečnem zorenju					
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP
<b>chardonnay</b>												
videz	1,7	2,0	1,9	1,9	1,8	1,9	1,4	1,9	1,8	1,6	1,8	1,8
barva	1,9	2,0	1,8	1,9	1,9	1,9	1,6	1,9	1,8	1,8	1,8	1,8
vonj	3,1	3,3	3,4	3,4	3,4	3,3	2,8	3,2	3,2	3,2	2,9	3,3
okus	4,5	4,7	5,1	4,8	5,0	4,8	4,7	4,9	4,9	4,6	4,6	4,9
harmonija	4,6	4,9	4,9	4,9	5,2	4,9	4,8	4,9	4,9	4,8	4,8	4,9
skupaj	16,0	16,8	17,1	16,9	17,4	16,8	15,9	16,9	16,6	16,0	15,9	16,6
<b>malvazija</b>												
videz	2,0	2,0	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,7	1,9	1,9
barva	2,0	2,0	2,0	1,9	1,9	1,9	1,9	2,0	2,0	1,8	2,0	2,0
vonj	3,1	3,2	3,1	3,3	3,4	3,3	2,9	3,2	3,0	3,2	3,1	2,7
okus	4,5	4,7	5,0	4,8	5,0	4,9	4,7	4,8	5,0	4,8	5,0	4,9
harmonija	4,5	4,7	5,0	4,8	5,1	4,9	4,5	4,6	4,7	4,7	4,6	4,7
skupaj	16,0	16,6	17,0	16,7	17,3	16,9	15,9	16,5	16,6	16,3	16,6	16,1
<b>sauvignon</b>												
videz	1,7	1,9	1,8	1,9	1,9	1,8	1,9	1,8	1,9	1,8	1,9	1,8
barva	1,8	1,9	1,8	1,9	1,8	1,9	1,8	1,9	1,9	1,8	1,9	1,8
vonj	3,2	3,6	3,2	3,5	3,3	3,4	3,2	3,2	3,1	3,1	3,0	2,7
okus	4,6	4,7	4,9	5,0	5,0	4,8	4,6	4,7	4,7	4,8	4,7	4,0
harmonija	4,5	4,6	4,7	5,1	4,8	4,9	4,7	4,7	4,8	4,9	4,5	4,4
skupaj	16,0	16,9	16,5	17,3	16,8	16,9	16,3	16,2	16,6	16,7	16,6	15,9
<b>laški rizling</b>												
videz	2,0	1,9	1,8	1,8	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9
barva	1,6	1,9	1,8	1,8	1,8	1,9	1,8	1,8	1,7	1,8	1,7	1,8
vonj	2,9	3,4	3,3	3,2	3,1	3,5	2,9	3,1	3,1	3,1	3,2	3,1
okus	4,4	4,9	5,1	5,0	4,8	5,0	4,4	4,6	4,6	4,7	4,6	4,6
harmonija	4,4	4,7	5,1	4,9	4,6	4,9	4,4	4,6	4,7	4,8	4,6	4,8
skupaj	15,2	16,8	17,1	16,8	16,2	17,1	15,7	16,0	16,3	16,4	16,3	16,2

### 4.2.3 VINIFIKACIJE PRI DVEH TEMPERATURAH V 500 mL FERMENTACIJSKI PROSTORNINI Z LETNIKOM 2005

Na vzorcu mošta malvazije letnika 2005 smo opravili poskus šestih vinifikacij v 500 mL fermentacijski prostornini pri dveh različnih temperaturah, 20 in 14°C, enako kot z letnikom 2004.

#### 4.2.3.1 Kemijski parametri mladih vin

**Preglednica 64: Kemijski parametri mladih vin malvazija letnika 2005 pri temperaturah 20 in 14°C v 500 mL fermentacijski prostornini**

Table 64: Chemical parameters of young Malvasia wines, vintage 2005, at temperatures 20 and 14°C, in 500 mL fermentation volume

Parameter (enota)	20°C					
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP
pH	3,60±0,00	3,55±0,00	3,62±0,00	3,59±0,00	3,58±0,00	3,54±0,01
TK1 (g/L)	4,29±0,08	4,60±0,12	4,50±0,10	4,28±0,15	4,24±0,13	4,34±0,14
TK2 (g/L)	4,65±0,13	5,02±0,18	4,90±0,16	4,69±0,20	4,49±0,17	4,87±0,22
PK (mmol/L na pH)	45,46±0,06	44,80±0,09	45,68±0,10	45,31±0,12	45,18±0,11	44,67±0,18
HK (g/L)	0,67±0,08	0,76±0,07	0,64±0,08	0,70±0,06	0,58±0,05	0,58±0,10
VK (g/L)	1,53±0,03	1,55±0,05	1,52±0,03	1,53±0,06	1,52±0,04	1,47±0,07
JBK (g/L)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MK (g/L)	4,36±0,06	4,38±0,08	4,34±0,05	4,40±0,06	4,46±0,08	4,38±0,14
CK (mg/L)	0	0	0	0	0	40±4
JK (mg/L)	0	0	0	0	0	0
ŠK (mg/L)	32±0	32±0	32±1	32±0	32±0	31±1
RS (g/L)	1,30±0,12	2,00±0,15	1,70±0,11	1,05±0,16	0,65±0,09	26,10±1,57
SE (g/L)	20,1±0,2	19,8±0,2	22,9±0,2	19,0±0,2	19,6±0,2	40,9±0,4
alkohol (vol.%)	11,99±0,04	11,85±0,05	12,91±0,04	11,80±0,04	12,05±0,06	10,18±0,09
glukoza (g/L)	1,60±0,09	1,46±0,06	1,40±0,05	1,08±0,06	1,16±0,05	7,64±0,19
fruktoza (g/L)	0,29±0,06	0,36±0,08	0,24±0,05	0,22±0,05	0,15±0,04	25,76±0,44
saharoza (g/L)	0,56±0,05	0,61±0,04	0,59±0,04	0,59±0,04	0,59±0,05	0,58±0,05
glicerol (g/L)	6,84±0,07	6,82±0,08	6,74±0,06	6,74±0,07	6,97±0,05	3,76±0,18
SF (mg/L)	158±4	143±3	146±3	132±4	130±3	121±6
FAN (mg N/L)	5±1	4±1	6±1	6±1	5±1	6±2
Parameter (enota)	14°C					
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP
pH	3,47±0,00	3,56±0,00	3,54±0,00	3,61±0,00	3,56±0,00	3,49±0,02
TK1 (g/L)	4,99±0,12	4,34±0,14	4,40±0,10	4,66±0,11	4,15±0,13	4,44±0,21
TK2 (g/L)	5,41±0,17	4,86±0,20	4,82±0,14	5,07±0,15	4,48±0,19	4,87±0,29
PK (mmol/L na pH)	43,79±0,10	44,93±0,12	44,67±0,09	45,56±0,06	44,95±0,10	44,04±0,18
HK (g/L)	0,67±0,06	0,90±0,04	0,87±0,07	0,55±0,05	0,72±0,07	0,47±0,09
VK (g/L)	1,36±0,05	1,34±0,05	1,35±0,04	1,36±0,05	1,35±0,04	1,38±0,06
JBK (g/L)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,12±0,29
MK (g/L)	4,15±0,07	4,34±0,09	4,43±0,10	3,85±0,08	3,91±0,10	2,48±0,22
CK (mg/L)	108±6	85±4	85±5	88±7	88±6	158±14
JK (mg/L)	0	0	0	0	0	0
ŠK (mg/L)	33±1	33±0	33±1	33±0	33±0	33±1
RS (g/L)	1,96±0,17	1,64±0,20	1,69±0,18	2,55±0,20	2,65±0,17	25,20±0,42
SE (g/L)	18,5±0,2	18,5±0,2	18,3±0,1	22,2±0,02	18,0±0,1	35,9±0,4
alkohol (vol.%)	11,68±0,05	11,64±0,04	11,62±0,05	12,52±0,03	11,71±0,07	10,87±0,19
glukoza (g/L)	1,49±0,08	1,19±0,05	1,14±0,07	1,05±0,05	1,06±0,05	11,95±1,24
fruktoza (g/L)	2,11±0,14	0,72±0,10	0,62±0,09	1,05±0,12	0,61±0,07	25,24±1,83
saharoza (g/L)	0,57±0,05	0,59±0,05	0,59±0,05	0,59±0,04	0,59±0,04	0,52±0,05
glicerol (g/L)	6,48±0,05	6,48±0,04	6,54±0,05	6,56±0,05	6,69±0,04	3,50±0,11
SF (mg/L)	161±3	145±2	148±2	134±2	133±3	125±6
FAN (mg N/L)	4±1	5±1	5±1	6±1	6±1	5±1

V preglednici 64 so zbrani rezultati kemijskih analiz mladih vin malvazija letnika 2005 vinificiranih pri 20 in 14°C. Primerjava rezultatov poskusa letnika 2005 glede na temperaturo izvedbe MKF je potrdila rezultate z letnikom 2004. Mošt malvazija letnika 2004 je vseboval 4,72 g/L jabolčne kisline, medtem ko jo je mošt letnika 2005 vseboval veliko manj, le 1,95 g/L. Po 42 dneh vinifikacij z letnikom 2005 v nobenem mladem vinu vodenih vinifikacij nismo določili prosotnosti jabolčne kisline. Izjema je bil le vzorec spontane vinifikacije pri temperaturi 14°C.

Vpliv temperature na potek MKF je bil pri letniku 2005 manj izrazit kot pri letniku 2004. Čeprav nismo spremljali poteka MKF z določevanjem vsebnosti organskih kislin, smo lahko sklepali na različne hitrosti poteka MKF. To smo lahko predvideli na osnovi posameznih parametrov: pH, titrabilnih in skupnih kislin, hlapnih kislin, mlečni in citrinski kislini, reducirajočih sladkorjih, fruktozi in glicerolu. Pri 20°C je MKF potekala hitreje, zato smo določili večji pH ter manjše vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin. Kljub popolni razgradnji jabolčne kisline so vzorci vin vodenih vinifikacij pri 20°C vsebovali v povprečju za 0,25 g/L več mlečne kisline. Manjša hitrost MKF pri 14°C je vplivala na večje vsebnosti citrinske kisline in fruktoze ter večje razmerje med glukozo in fruktozo. Pri 20°C smo v mladih vinih določili 0,27 g/L več glicerola in 0,29 vol.% več alkohola. Iz teh dveh podatkov lahko sklepamo, da temperatura ni vplivala zgolj na aktivnost MKB, temveč tudi kvasovk. Razlike v vsebnostih vinske in šikimske kisline, saharoze, skupnih fenolov in FAN so bile zanemarljive.

#### 4.2.3.2 Hlapne spojine v mladih vinih letnikov 2005

##### Preglednica 65: Vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih malvazija letnika 2005 pri temperaturah 20 in 14°C v 500 mL fermentacijski prostornini

Table 65: Content of volatile compounds in young Malvasia wines, vintage 2005, at temperatures 20 in 14°C, 500 mL fermentation volume

spojina (mg/L)	20°C					
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP
izoamil alkohol	134,3±3,0	131,6±2,8	113,5±3,8	136,4±3,1	150,4±3,9	72,1±5,9
1-propanol	29,6±2,2	28,6±2,0	33,8±2,6	30,2±2,0	33,2±2,5	15,9±3,0
izobutanol	15,2±1,9	14,8±2,1	12,9±1,9	15,3±2,3	17,3±2,0	16,7±2,7
2-fenil etanol	12,2±1,7	11,4±2,0	8,4±1,9	11,5±1,8	14,6±2,0	8,1±2,1
metanol	58,0±2,4	55,6±2,7	49,8±2,2	57,0±2,8	59,1±2,4	56,4±3,1
etil laktat	5,8±0,6	3,6±0,5	5,8±0,7	3,3±0,6	3,9±0,5	4,3±0,7
metil laktat	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
izoamil acetat	1,6±0,4	1,5±0,4	2,4±0,5	2,0±0,4	1,2±0,5	1,3±0,6
etilacetat	28,0±1,8	28,2±2,0	30,5±2,3	28,3±1,9	24,1±1,9	32,6±2,7
acetaldehid	28,9±2,2	35,4±2,4	43,7±2,7	29,1±2,0	33,6±1,9	57,1±3,7
2-fenil etilacetat	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
diacetil	1,8±0,2	1,1±0,1	1,9±0,2	1,4±0,1	1,8±0,1	6,7±0,3
acetoin	4,0±0,2	3,4±0,2	2,0±0,3	3,8±0,2	4,5±0,1	3,4±0,5
spojina (mg/L)	14°C					
	KON	KIN1	KIN2	IN1	IN2	SP
izoamil alkohol	166,4±3,1	188,0±3,3	143,4±3,8	158,4±2,9	164,7±3,7	94,9±6,8
1-propanol	27,9±2,9	20,4±2,7	25,7±3,0	20,2±2,8	27,4±2,5	19,3±3,4
izobutanol	18,8±2,7	35,8±2,9	16,7±2,2	12,9±2,6	18,4±2,8	19,9±3,1
2-fenil etanol	21,0±2,0	34,6±2,4	14,8±2,0	12,8±1,7	12,6±1,9	7,7±2,6
metanol	69,6±2,1	29,9±2,6	62,4±3,0	47,7±2,7	63,4±3,1	63,9±3,8
etil laktat	4,2±0,4	2,1±0,4	3,7±0,5	2,2±0,4	2,8±0,4	2,8±0,7
metil laktat	0,0	0,6±0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
izoamil acetat	0,6±0,1	0,2±0,1	0,5±0,2	0,1±0,1	0,3±0,1	1,1±0,3
etilacetat	20,3±2,1	15,2±1,9	23,9±2,0	17,4±2,1	24,6±2,6	36,3±2,9
acetaldehid	25,4±1,8	28,3±2,1	24,3±2,0	22,6±1,8	21,9±2,2	41,4±3,4
2-fenil etilacetat	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7±0,3
diacetil	1,9±0,2	4,5±0,3	1,3±0,1	0,8±0,1	1,0±0,1	4,5±0,4
acetoin	6,9±0,3	2,0±0,1	6,0±0,3	5,6±0,3	4,7±0,1	7,2±0,6



Potek vinifikacij sorte malvazija letnika 2005 pri temperaturah 20 in 14 °C je vplival tudi na vsebnosti hlapnih spojin, katerih vsebnosti so prikazane v preglednici 65. Vpliv temperature je bil opazen, saj je vplivala tako na aktivnost kvasovk kot tudi MKB, torej na hitrost metabolizma in kemijskih reakcij. Vpliva časa in vrste inokuluma MKB znotraj posamezne temperature sta bila primerljiva z letnikom 2005 izvedenem v 28 L fermentacijski prostornini.

Primerjava povprečnih vsebnosti višjih alkoholov in hlapnih spojin v vzorcih petih vodenih vinifikacij (brez spontane vinifikacije) je pri temperaturi 20 °C pokazala večje vsebnosti 1-propanola (31>24 mg/L), metanola (56>55 mg/L), etil laktata (4,5>3,0 mg/L), izoamil acetata (1,5>0,4 mg/L), etil acetata (28>20 mg/L) in acetaldehida (34>25 mg/L) kot pri 14 °C. Nasprotno smo pri temperaturi 14 °C določili večje vsebnosti izoamil alkohola (164>133 mg/L), izobutanola (21>15 mg/L), 2-fenil etanola (19>12 mg/L), diacetila (1,9>1,6 mg/L) in acetoina (5,0>3,5 mg/L). Primerjava povprečnih vsebnosti zgoraj navedenih aromatičnih spojin med poskusoma letnika 2005 in 2004 je pokazala v vzorcih letnika 2005 večje vsebnosti 2-fenil etanola, etil acetata in acetoina, medtem ko so bile vsebnosti izoamil alkohola, 1-propanola, metanola, etil laktata in acetaldehida manjše.

### 4.3 PRIMERJAVA MOŠTOV IN VIN LETNIKOV 2004 IN 2005

#### 4.3.1 PRIMERJAVA MOŠTOV LETNIKOV 2004 IN 2005

Primerjava moštov iste sorte letnikov 2004 in 2005 (priloga C1) je pokazala značilne razlike, predvsem v kislinskih parametrih ter vsebnostih in razmerju vinske in jabolčne kisline. Statistično zelo visoko značilno razliko med mošti obeh letnikov vseh štirih sort smo ugotovili v vsebnostih titrabilnih kislin, jabolčne in jantarne kisline, glukoze in fruktoze ter skupnih fenolov. Statistično zelo visoko značilna razlika je obstajala pri treh od štirih sort v vrednostih pufrne kapacitete ter vsebnostih skupnih kislin in FAN (izjema CH), vinske (izjema MLV) ter šikimske kisline (izjema SAU). Mošti letnika 2005 so vsebovali več kot polovico manj jabolčne kisline (1,95-2,29 g/L) v primerjavi z mošti letnika 2004 (4,38-5,89 g/L). Razmerje med vinsko in jabolčno kislino je bilo v moštih letnika 2004 med 0,30 in 0,35, torej v prid jabolčni kislini. V moštih letnika 2005 smo določili razmerje med vinsko in jabolčno kislino v intervalu od 0,48 do 0,57, torej manj v prid jabolčni kislini. Mošt chardonnay letnika 2005 je imel nižji pH ter več titrabilnih kislin in skupnih fenolov v primerjavi z letnikom 2004. Vrednost pH mošta malvazije 2005 je bila na zgornji optimalni meji za izvedbo MKF. V primerjavi z letnikom 2004 je bil pH višji, medtem ko je mošt vseboval za skoraj 2 g/L manj titrabilnih kislin. Najnižji pH, najmanj citronske kisline ter največ titrabilnih kislin smo določili v moštu laškega rizlinga. Vrednost pH laškega rizlinga 2005 je bil pod spodnjo optimalno mejo za izvedbo MKF, tako kot pri sauvignonu letnika 2004. Najmanj jabolčne kisline, 1,95 g/L je vseboval mošt malvazija, medtem ko je mošt sauvignon vseboval največ, 2,29 g/L. Mošti letnika 2005 so imeli na splošno manjšo vsebnost sladkorjev, titrabilnih in skupnih kislin, pufrne kapacitete, vinske, jantarne in šikimske kisline in FAN. Primerjava med mošti letnika 2005 iz posameznih vinorodnih področij je pokazala, da sta mošta chardonnay in malvazija iz vinorodne dežele Primorska vsebovala več skupnih fenolov kot sauvignon in laški rizling iz vinorodne dežele Podravje, kar je bilo nasprotno kot pri letniku 2004. Največje razlike med mošti so nastopile zaradi sorte in letnika. Čeprav v manjši meri, je k razlikam prispevalo tudi geografsko poreklo. Omenjeni dejavniki so prispevali tudi k poznejšim razlikam med vini posameznih sort in letnikov, pred in po zorenju.

#### 4.3.2 PRIMERJAVA VIN LETNIKOV 2004 IN 2005

##### Primerjava vin chardonnay

S primerjavo mladih vin chardonnay letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C2) smo na osnovi kemijskih parametrov v večini obravnavanj ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike.

Statistično neznačilne razlike so bile pri večini vinifikacij značilne za vsebnosti hlapnih kislin, jantarne kisline in FAN. Pojavile so se tudi pri posameznih vinifikacijah v vrednostih pH, vsebnostih jabolčne kisline, glukoze in glicerola. Pri letniku 2004 smo pri koinokulacijah MKB hitrejši začetek MKF kot pri inokulacijah, vendar je razgradnja jabolčne kisline v obeh primerih dodatka MKB trajala enako dolgo, 21 dni. Za letnik 2005, ko je imel mošt nižji pH in manj jabolčne kisline, smo pri koinokulacijah MKB prav tako opazili hitrejši začetek razgradnje jabolčne kisline, ki se je zaključila v 14 dneh, kar pa ni bilo značilno za inokulacijo MKB. Spotana MKF se je začela sedem dni prej kot pri letniku 2004, vendar v nobenem primeru ni bila zaključena v opazovanem obdobju.

S primerjavo vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih chardonnay letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C6) smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike pri večini obravnavanih spojin. Statistično neznačilne razlike so se pri posameznih od petih primerjanih vinifikacij pokazale pri treh; 2-fenil etanolu, diacetilu in acetoinu. Pri večini vinifikacij pa je bila statistično neznačilna razlika določena pri dveh, metil laktatu in 2-fenil etilacetatu. Glede na večje vsebnosti jabolčne kisline v moštu letnika 2004 smo v večinih mladih vinih določili tudi pričakovano večje vsebnosti etil laktata kot pri letniku 2005. Vsebnosti citronske kisline v moštih obeh letnikov sta bili zelo primerljivi, vendar smo med vinifikacijami letnika 2005 večjo količino razgradnje kot pri letniku 2004, celo v celoti. Vsebnost diacetila, ki ga MKB tvorijo iz citronske kisline, je bila sicer različna, vendar vezana na potek MKF pri posamezni vinifikaciji.

S primerjavo kemijskih parametrov zorenih vin chardonnay letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C2) smo prav tako v večini obravnavanj ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike. Statistično neznačilne razlike so bile pri večini vinifikacij značilne za vsebnosti hlapnih kislin, jabolčne in jantarne kisline ter FAN. Pojavile so se tudi pri posameznih vinifikacijah pri vrednostih pH, vsebnostih titrabilnih kislin, citronske kisline, saharoze, glicerola.

Primerjava vin chardonnay letnikov 2004 in 2005 po dvomesečnem zorenju iste vinifikacije (priloga C6) na osnovi vsebnosti hlapnih spojin je ugotovila zelo podobne rezultate kot pri mladih vinih. Statistično zelo visoko značilne razlike so se pokazale pri večini spojin. Statistično neznačilne razlike so se pri posameznih od petih primerjanih vinifikacij pokazale pri etil acetatu in diacetilu. Pri večini vinifikacij pa je bila statistično neznačilna razlika ponovno določena za vsebnosti metil laktata in 2-fenil etilacetata ter dodatno za acetoin.

### **Primerjava vin malvazija**

S primerjavo kemijskih parametrov mladih vin malvazija letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C3) smo pri večini parametrov ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike. Statistično neznačilne razlike so bile pri večini vinifikacij značilne za vsebnosti hlapnih kislin, jabolčne in jantarne kisline ter FAN. Pojavile so se tudi pri posameznih vinifikacijah pri vsebnosti alkohola. Za koinokulacije MKB obeh letnikov je bil značilen hitrejši začetek vodene MKF. Pričakovano so bile zaradi večje vsebnosti jabolčne kisline vodene MKF z letnikom 2004 dolgo trajnejše, za skoraj 18 dni. Pri inokulacijah MKB v mošt letnika 2004, ki so se začele dan prej v primerjavi z letnikom 2005, sta vodeni MKF trajali krajši čas kot pri koinokulacijah. Pri vodenih MKF z letnikom 2005 smo opazili ravno nasprotno. Vodene MKF pri inokulacijah MKB z letnikom 2005 so trajale dest dni manj kot z letnikom 2004. Razgradnja jabolčne kisline pri vodenih MKF obeh letnikov je bila popolna. Začetek spotane MKF smo v letniku 2004 navkljub večji vsebnosti jabolčne kisline in nižjem pH opazili nekaj dni prej kot z letnikom 2005, vendar se v nobenem primeru ni končala v opazovanem obdobju.

S primerjavo mladih vin malvazija letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C7) na osnovi vsebnosti hlapnih spojin smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike pri večini obravnavanih spojin, vendar manj kot pri sorti chardonnay. Statistično neznačilne razlike so bile pri posameznih od petih primerjanih vinifikacij pogostejše, saj so se pokazale pri petih spojinah; izobutanolu, 2-fenil etanolu, etil laktatu, izoamil acetatu in acetoinu. Pri večini vinifikacij pa je bila statistično neznačilna razlika določena pri metil laktatu in 2-fenil etilacetatu. Glede na večje vsebnosti jabolčne kisline v

moštu letnika 2004 smo v večini mladih vinih vodenih MKF obeh letnikov določili primerljive vsebnosti etil laktata. Mošt letnika 2005 je vseboval več citronske kisline in tako smo tudi zaradi manjše vsebnosti jabolčne kisline v večini mladih vinih vodenih MKF določili preostanke citronske kisline. Med vodenimi MKF letnika 2004 se je citronska kislina popolnoma razgradila. Vsebnost diacetila je bila med koinokulacijami in inokulacijami posameznih letnikov različna, kar je bilo seveda posledica razgrajene količine citronske kisline. Pri koinokulacijah MKB v letnik 2004 smo določili manjše vsebnosti diacetila kot pri inokulacijah. Vendar pa smo pri koinokulacijah MKB v letnik 2005 določili večje vsebnosti diacetila kot pri inokulacijah v isti letnik in tudi v primerjavi s koinokulacijami v letnik 2004.

S primerjavo kemijskih parametrov zorenih vin malvazija letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C3) pri večini obravnavanih parametrov nismo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike. Statistično neznačilne razlike so bile pri večini vinifikacij značilne za vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, jabolčne, citronske in jantarne kislina, fruktoze ter FAN. Pojavile so se tudi pri posameznih vinifikacijah med vsebnostmi reducirajočih sladkorjev, glukoze, saharoze.

Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v vinih malvazija letnikov 2004 in 2005 po dvomesečnem zorenju iste vinifikacije (priloga C7) je ugotovila statistično zelo visoko značilno razliko v večjem številu obravnavanj kot v mladih vinih. Statistično zelo visoko značilne razlike so se pokazale pri večini hlapnih spojin. Statistično neznačilne razlike so se pri posameznih od petih primerjanih vinifikacijah pokazale pri treh; 2-fenil etanolu, etil laktatu in diacetilu. Pri večini vinifikacij pa je bila statistično neznačilna razlika določena pri treh: izoamil acetatu, 2-fenil etilacetatu in acetoinu.

### **Primerjava vin sauvignon**

S primerjavo kemijskih parametrov mladih vin sauvignon letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C4) smo v veliki večini obravnavanj parametrov ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike. Statistično neznačilne razlike so bile pri večini vinifikacij značilne le za vsebnosti jantarne kisline. Pojavile pa so se pri posameznih vinifikacijah pri vsebnostih mlečne in šikimske kisline ter saharoze. Pri letniku 2004 so bile med vodenimi MKF prisotne motnje v začetku in poteku, kar ni bilo značilno za letnik 2005, ki je imel višji pH ter manj titrabilnih kislin in jabolčne kisline. V nobenem primeru vodene MKF v letniku 2004 se razgranja jabolčne kisline ni zaključila v opazovanem obdobju, v letniku 2005 pa v vseh. Pri koinokulacijah v obeh letnikih nismo opazili razlik v začetku vodenih MKF. Zamik (en in dva tedna) začetka razgradnje jabolčne kisline pri inokulacijah MKB smo opazili v letniku 2004. V letniku 2005 smo daljše trajanje vodenih MKF opazili pri koinokulacijah MKB. Spotana MKF se je v letniku 2005 začela veliko prej kot v letniku 2004, vendar v nobenem primeru ni bila zaključena v opazovanem obdobju.

S primerjavo vsebnosti višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin v mladih vinih sauvignon letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C8) smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike pri veliki večini aromatičnih spojin. Statistično neznačilne razlike so se pri posameznih od petih primerjanih vinifikacijah pokazale pri šestih spojinah; 2-fenil etanolu, etil in metil laktatu, izoamil acetatu, diacetilu in acetoinu. Pri večini vinifikacij pa je bila statistično neznačilna razlika določena pri dveh, metil laktatu in 2-fenil etilacetatu. Glede na različen potek MKF pri obeh letnikih smo določili različne vsebnosti etil laktata. Vsebnosti citronske kisline v moštih obeh letnikov sta bili primerljivi, vendar smo med vinifikacijami letnika 2004 v večini mladih vinih iduciranih MKF določili večje vsebnosti diacetila kot v letniku 2004. To je bilo presenetljivo, saj je bila količina razgrajene citronske kisline med vinifikacijami letnika 2004 manjša kot pri letniku 2005. Popolne razgradnje citronske kisline nismo opazili med nobeno vinifikacijo obeh letnikov.

S primerjavo zorenih vin sauvignon letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C4) na osnovi kemijskih parametrov smo sicer pri večini parametrov ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike, vendar manj kot pri mladih vinih. Statistično neznačilne razlike so bile pri večini vinifikacij

značilne za vsebnosti jabolčne in jantarne kisline ter saharoze. Pojavile so se tudi pri posameznih vinifikacijah pri vrednostih pH, vsebnostih citronske kisline in glukoze.

Primerjava zorenih vin sauvignon letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C8) na osnovi vsebnosti hlapnih spojin je razkrila zelo podobne rezultate kot pri mladih vinih. Statistično zelo visoko značilne razlike so bile ugotovljene za veliko večino analiziranih spojin. Statistično neznačilne razlike so se pri posameznih od petih primerjanih vinifikacijah pokazale pri dveh: diacetilu in acetoinu. Pri večini vinifikacij pa je bila statistično neznačilna razlika določena pri metil laktatu, 2-fenil etanolu in 2-fenil etilacetatu.

### **Primerjava vin laški rizling**

S primerjavo kemijskih parametrov mladih vin laški rizling letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C5) smo v veliki večini parametrov ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike, kot pri sorti sauvignon. Statistično neznačilne razlike so obstajale pri večini vinifikacij le v vsebnostih hlapnih kislin in jantarne kisline. Pojavile so se tudi pri posameznih vinifikacijah v vsebnostih alkohola in saharoze. Pri letniku 2005 so se med vodenimi MKF pojavile motnje, tako v začetku kot v poteku. To ni bilo značilno za letnik 2004, ki je imel malo višji pH ter več titrabilnih kislin in jabolčne kisline. V nobenem primeru vodene MKF v letniku 2005 se razgranja jabolčne kisline ni zaključila v opazovanem obdobju, v letniku 2004 pa v vseh. Pri letniku 2004 nismo opazili razlik v začetku in trajanju (izjema IN2) razgradnje jabolčne kisline pri vodenih MKF med koinokulacijami in inokulacijami MKB. Pri koinokulacijah MKB letnika 2005 pa je bil začetek vodene MKF presenetljivo dolgo zamaknjen, celo za en mesec. Spotana MKF se je v letniku 2004 začela veliko prej in bila v opazovanem obdobju tudi zaključena v primerjavi z letnikom 2005.

S primerjavo vsebnosti hlapnih spojin v mladih vinih laški rizling letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C9) smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike pri veliki večini analiziranih spojin. Statistično neznačilne razlike so se pri posameznih od petih primerjanih vinifikacijah pokazale pri dveh; etil laktatu in acetoinu. Pri večini vinifikacij pa je bila statistično neznačilna razlika določena prav tako pri dveh spojinah, metil laktatu in 2-fenil etilacetatu. Glede na večje vsebnosti mlečne kisline v mladih vinih letnika 2004 v večini primerov (izjema KIN1) nismo določili pričakovano večje vsebnosti etil laktata. Mošt letnika 2004 je vseboval skoraj dvakratno količino citronske kisline v primerjavi z letnikom 2005. Nepričakovano smo v mladih vinih letnika 2004 določili polovico manjše vsebnosti diacetila, kljub temu da je bila v nasprotju z letnikom 2005 razgradnja citronske kisline popolna. Razglo je potek MKF, ki je bil pri vodenih MKF letnika 2004 hitrejši in se je diacetil že pretvoril v acetoin, katerega vsebnosti so bile večje v vzorcih letnika 2004.

S primerjavo zorenih vin sorte laški rizling letnikov 2004 in 2005 iste vinifikacije (priloga C5) na osnovi rezultatov kemijskih analiz smo ugotovili statistično zelo visoko značilne razlike pri večini obravnavanih parametrov. Statistično neznačilne razlike so bile pri večini vinifikacij značilne za vsebnosti hlapnih kislin, jantarne kisline, reducirajočih sladkorjev in alkohola. Pojavile so se tudi pri posameznih vinifikacijah pri vsebnostih fruktoze in glicerola.

Primerjava vin laški rizling letnikov 2004 in 2005 po dvomesečnem zorenju iste vinifikacije (priloga C9) na osnovi vsebnosti višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin je tudi v tem primeru ugotovila zelo podobne rezultate kot pri mladih vinih. Statistično zelo visoko značilne razlike so se pokazale pri veliki večini aromatičnih spojin. Statistično neznačilne razlike so se pri posameznih od petih primerjanih vinifikacijah pokazale zgolj v vsebnostih 1-propanola, medtem ko je bila statistično neznačilna razlika v vseh petih vinifikacijah značilna za vsebnosti 2-fenil etilacetata, ker ga nismo določili v nobenem izmed zorenih vin sorte laški rizling obeh letnikov.

## 4.4 RAZPRAVA

Tema doktorske disertacije je bilo proučevanje MKF v slovenskih belih vinih z namenom izboljšanja kemijskih lastnosti, senzorične kakovosti vin in povečanja mikrobiološke stabilnosti. V poskus sta bili vključeni po dve sorti iz dveh podnebno različnih vinorodnih področij. Sorti chardonnay in malvazija sta bili iz vinorodne dežele Primorska, ter sauvignon in laški rizling pa iz vinorodne dežele Podravje. Predvsem smo se osredotočili na razlike med vini, pridelanimi z uporebo dveh tržnih sterterških kultur MKB vrste *Oenococcus oeni* in času njihovega dodatka: koinokulacija v mošt in inokulacija v mlado vino. Zanimal nas je tudi vpliv temperature in fermentacijske prostornine na izvedbo MKF.

### 4.4.1 pH

pH je eden izmed štirih najpomembnejših dejavnikov, ki vplivajo na MKF. V našem dvoletnem poskusu na štirih belih sortah v 28 L fermentacijski prostornini se je jabolčna kislina popolnoma razgradila v vseh primerih vodenih MKF letnika 2004 in 2005, z izjemo sorte laški rizling, če primerjamo njeno vsebnost v moštih z zorenimi vini. Potek vrednosti pH med vinifikacijami je sledil poteku MKF (priloga A5, B5). pH se je pri popolni razgradnji jabolčne kisline med vodenimi MKF od mošta do zorenega vina povečal v intervalu od 0,22 do 0,45, kar je bilo odvisno od sorte in letnika. Glede na literaturne podatke, naj bi se pH zaradi dokončanja MKF povečal od 0,2 do 0,3 enote. K povečanju pH med vinifikacijo je prispeval tudi nastanek kalijevega hidrogentartrata (Fleet, 2003; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; de Revel in sod., 1999; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995). V primeru vodene MKF pri sorti chardonnay iz hladnejšega pridelovalnega območja, kjer je mošt vseboval jabolčne kisline 5,01 g/L, se je pH povečal v intervalu od 0,24 do 0,26 enote v primerih koinokulacije in inokulacije kvasovk in MKB (Jussier in sod., 2006). V primeru izvedbe in dokončanja MKF po končani AF v vinu chardonnay iz toplejšega pridelovalnega območja, kjer je vino vsebovalo jabolčne kisline 2,53 g/L, se je pH povečal prav tako za 0,26 enote. V primerih koinokulacij in inokulacij MKB pri sorti malvazija se je pH nahajal med 3,44 in 3,49 (Muhar, 2005; Muhar in Košmerl, 2005).

Čas dodatka in uporabljena starterska kultura MKB nista vplivala na pH po zaključenih MKF. Prav tako nismo opazili razlik v vrednosti pH glede med spontanimi in vodenimi MKF. V našem poskusu so bile vrednosti pH v vinih sort chardonnay in malvazija pred in po zorenju ugodne za razvoj kvarljivcev MKB, saj so presegale pH 3,5. Pri omenjenih dveh sortah so bile razlike v pH mladih in zorenih vinih med letnikoma najmanjše. V primeru vinifikacij teh dveh sort letnika 2004 smo opazili največje povečanje pH, celo za 0,45 enote. Med vinifikacijami sorte laški rizling letnika 2004 smo določili najmanjše povečanje pH, za 0,22 enote. Največje povečanje pH ni bilo povezano z vsebnostjo jabolčne kisline, saj smo jo v moštih chardonnay in malvazija obeh letnikov določili najmanj. Vrednosti pH v mladih vinih so vplivale na ustrezno žveplanje, saj smo v primeru najvišjih pH dodali največ  $K_2S_2O_5$  za doseg prostega  $SO_2$  v vsebnosti 50 mg/L (prilogi D1, D2). MKF, tako vodena kot spontana, je vplivala tudi na vsebnosti preostalih treh kislinskih parametrov; titrabilnih in skupnih kislin ter pufrne kapacitete.

### 4.4.2 ORGANSKE KISLINE

Pretvorba jabolčne kisline v mlečno kislino in  $CO_2$  je sicer glavna kemijska reakcija MKF, vendar MKB metabolizirajo tudi druge organske kisline. S spremljanjem vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami posameznih sort (priloge A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4) smo nepričakovano odkrili, da naj bi MKB hitreje porabljale jantarno kot jabolčno kislino. Razgradnja citronske kisline je nastopila z zamikom za jabolčno kislino. Posledica razgradnje jabolčne kisline je bilo povečanje vsebnosti mlečne kisline. MKB v svoj metabolizem niso vključile vinske in šikimske kisline. Če je način

vinifikacije vplival na vsebnost organskih kislin, je vplival tudi na vrednost pH vendar v manjši meri, ker zvezo med vrednostjo pH in vsebnostjo titrabilnih kislin določa purfna kapaciteta.

Iz jantarne kisline so MKB najverjetneje tvorile dietil sukcinat (Poza-Bayón in sod., 2005; Swiegers in sod., 2005; Ugliano in Moio, 2005; Jackson, 2000; Maicas in sod., 1999; Herjavec in Tupajič, 1998), ki ga v našem poskusu nismo določali. Drugi avtorji (Fleet, 2002) trdijo, da MKB ne vključujejo jantarne kisline v svoj metabolizem in da ima vlogo kompetitivnega inhibitorja. V našem primeru je vil potek razgradnje jantarne kisline hitrejši v večini primerov uporabe starterske kulture MKB1 kot MKB2, vendar le pri letniku 2004, kjer smo v moštih določili vsebnosti jantarne kisline od 303 do 511 mg/L. Pri letniku 2005 je bila razgradnja jantarne kisline z uporabo MKB1 hitrejša le pri inokulacijah MKV v malvazijo ter koinokulacijah in inokulacijah MKB v laški rizling. V vseh ostalih primerih je bila počasnejša. V moštih letnika 2005 smo določili jantarno kislino v nižjem intervalu, med 123 in 301 mg/L. V primeru spontane MKF se je njen počasnejši potek pokazal tudi v prisotnosti jantarne kisline v mladih vinih sort sauvignon letnika 2004 ter chardonnay, sauvignon in laški rizling letnika 2005. Po dvomesečnem zorenju v nobenem izmed vin obeh letnikov, z izjemo LR KON letnika 2005, nismo določili jantarne kisline. Iz tega lahko sklepamo na nadaljevanje aktivnosti MKB po pretoku in žveplanju mladih vin. Pričakovane mikrobiološke stabilnosti vin torej nismo dosegli.

Med letniki smo opazili velike razlike v vsebnosti jabolčne kisline v moštih iste sorte, ki so tudi presegle dolgoletna povprečja. Mošti letnika 2004 so vsebovali skoraj dvakrat več omenjene kisline, od 4,38 do 5,89 g/L, v primerjavi z mošti letnika 2005, kjer smo določili od 1,95 do 2,29 g/L. Vsebnost nerazgrajene jabolčne kisline v mladih vinih je bila odvisna od začetka in hitrosti poteka MKF, tako vodene kot spontane. Kot smo že zapisali, je razgradnja jabolčne kisline potekala s časovnim zamikom za jantarno kislino. Pri vseh vodenih MKF letnika 2004 in pri veliki večini vodenih MKF letnika 2005 je razgradnja jabolčne kisline potekala hitreje z uporabo starterske kulture MKB1 kot MKB2. V mladih vinih vodenih MKF letnika 2004 smo določili prisotnost jabolčne kisline le v vinih sauvignon, čeprav smo v moštu določili za 0,14 g/L jabolčne kisline manj kot pri sorti laški rizling. V mladih vinih vodenih MKF letnika 2005 smo določili prisotnost jabolčne kisline pri chardonnayu (inokulacija MKB) in laškem rizlingu. Navkljub manjši vsebnosti jabolčne kisline v moštih letnika 2005 kot 2004 ter skoraj teden dni krajšemu opazovanemu obdobju vinifikacij letnika 2005, je razgradnja jabolčne kisline potekala hitreje pri letniku 2004. Jussier in sod. (2006) poročajo, da se je razgradnja jabolčne kisline hitreje zaključila v primeru koinokulacije kvasovk in MKB v mošt kot inokulacije MKB v vino ter da je bila MKF v primerih inokulacije MKB nepopolna. Prav tako Rosi in sod. (2003) priporočajo za hiter zaključek MKF inokulacijo MKB v mošt ali mlado vino, saj so najpočasnejši potek MKF ugotovili pri inokulaciji MKB med AF.

Statistične razlike v vsebnosti citronske kisline smo določili tako med sortami kot tudi letniki. Vsebnosti citronske kisline so v moštih letnika 2004 obsegale interval od 348 do 635 mg/L, medtem ko so pri moštih letnika 2005 obsegale ožji interval, med 368 in 479 mg/L. Med obravnavanimi organskimi kislinami so MKB vrste *O. oeni* v svoj metabolizem kot zadnjo vključile citronsko kislino, za jantarno in jabolčno kislino. Produkti razgradnje citronske kisline med MKF so številni, vendar sta med njimi za kakovost vina najpomembnejša diacetil in očetna kislina (Bartowsky in Henschke, 2004; Rozés in sod., 2003; Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000; Fugelsang, 1997). Pri spremljanju poteka razgradnje citronske kisline nismo opazili vpliva časa ali vrste dodane MKB. V mladih vinih letnika 2004 nismo določili citronske kisline v vseh vodenih MKF z izjemami chardonnaya (KIN1) in vseh vodenih vinifikacij sauvignona. V mladih vinih letnika 2005 smo prisotnost citronske kisline določili v veliki večini vzorcev v intervalu od 56 do 450 mg/L. Nadaljevanje aktivnosti MKB po pretoku, žveplanju in znižanju temperature na 8 °C mladih vin, še posebej vin letnika 2005, so potrdile zmanjšane vsebnosti citronske kisline v vinih po dvomesečnem zorenju. Večjo hitrost poteka MKF pri letniku 2004 kot 2005 je potrdila tudi dinamika razgradnje citronske kisline pri posameznih vinifikacijah vodenih MKF. Rezultati poteka razgradnje citronske kisline v našem poskusu so bili primerljivi z literaturnimi podatki (Nielsen in Richelieu, 1999).

Na osnovi rezultatov našega poskusa ne moremo trditi, da šikimska kislina lahko služi kot parameter avtentičnosti belih vin, kot to ugotavljajo nekateri avtorji (Fischerleitner in sod., 2005; Mardones in sod., 2005; Holbach in sod., 2001). V moštih obeh letnikov so bile vsebnosti omenjene kisline primerljive glede na vinogradniško območje, vendar so se vsebnosti z izjemo sauvignona razlikovale znotraj sorte med letnikoma. Vsebnost šikimske kisline se je povečala med vsemi vinifikacijami, ne glede na potek in dokončanje vodenih ali spontane MKF. Razlike v vsebnosti šikimske kisline med posameznimi vzorci vin iste sorte pred in po zorenju so bile zanemarljive. Ponovno smo opazili primerljive vsebnosti med vzorci iz istega pridelovalnega območja.

#### 4.4.3 Hlapne kisline

Ocetna kislina je prevladujoča med hlapnimi kisljinami vin in je produkt delovanja tako kvasovk kot MKB. Med MKF nastaja iz več substratov, vendar je citronska kislina najpomembnejši. Pri MKB očetna kislina ni končni produkt pretvorbe citronske kisline. Do povečanih vsebnosti hlapnih kislin pride v primerih okužbe z očetnokislinskimi bakterijami ali delovanju MKB vrste *O. oeni*. Vrsta MKB *L. hilgardii*, ki se tudi uporablja kot starterska kultura MKB, ne more koristiti citronske kisline. Literatura navaja, da pričakovane povečane vsebnosti hlapnih kislin zaradi poteka MKF predstavljajo vsebnost okrog 0,2 g/L (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Fugelsang, 1997).

V našem poskusu so se vsebnosti hlapnih kislin v moštih razlikovale med sortami, medtem ko smo znotraj sorte med letniki ugotovili razliko le pri chardonnayu in laškem rizlingu (priloga C1). V moštih smo določili hlapne kisline v intervalu od 0,08 do največ 0,36 g/L, na kar je vplivala dozorelost in zdravstveno stanje grozdja. Z izjemo laškega rizlinga, so bile vsebnosti hlapnih kislin večje pri letniku 2004 kot 2005. Vpliv časa in uporabljene starterske kulture MKB smo opazili le pri posameznih letnikih, sortah in vodenih MKF. Glede na razlike v vsebnosti citronske kisline znotraj iste sorte med letnikoma, so bile razlike v vsebnosti hlapnih kislin v mladih vinih vseh sort značilne ali neznačilne, odvisno od posamezne vinifikacije. Korelacije med vsebnostjo citronske in očetne kisline pri MKF nismo potrdili (priloga C10). V primeru kontrolne vinifikacije laškega rizlinga, kjer potekla spontana MKF, smo že v mladem vinu določili zelo povečano vsebnost hlapnih kislin. Nadaljevanje aktivnosti MKB med zorenjem vin je potrdila tudi spremenjena vsebnost hlapnih kislin v zorenih vinih. V ostalih vinih, smo določili manjše vsebnosti hlapnih kislin, kot jih predpisuje zakonodaja Republike Slovenije za bela vina (Pravilnik o pogojih ..., 2004), to je največ 1 g/L. Raziskave so potrdile, da na vsebnost očetne kisline vpliva čas dodatka MKB: na začetku, med ali po koncu AF (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000). Sočasen dodatek kvasovk in MKB v mošt je imel za posledico večje vsebnosti očetne kisline ter boljšo korelacijo med citrónsko in očetno kislino kot pri inokulaciji MKB po končani AF (Jussier in sod., 2006). V sintetičnem mediju so fenolne spojine vplivale na povečano porabo citronske kisline in posledično na povečane vsebnosti očetne kisline (Rozés in sod., 2003).

#### 4.4.4 Sladkorji

Potrebno energijo za rast in razvoj MKB pridobivajo s koriščenjem sladkorjev in ne z razgradnjo jabolčne kisline. Bakterije vrste *O. oeni* so heterofermentativne in fruktofilne (Fleet, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000; Fugelsang, 1997). Na osnovi vsebnosti reducirajočih sladkorjev so vsa mlada vina spadala v razred suhih vin z izjemo spontanih vinifikacij malvazije in chardonnaya letnika 2004 (Pravilnik o pogojih ..., 2004). Nedoseženo mikrobiološko stabilnost so potrdile tudi razlike v vsebnostih reducirajočih sladkorjev, glukoze in fruktoze, med mladimi in zorenimi vini. Med vini iste sorte in vinifikacije različnega letnika smo ugotovili razlike, saj so bile vsebnosti reducirajočih sladkorjev v mladih vinih letnika 2005 večje kot letnika 2004. Mošti letnika 2004 so vsebovali dvakrat večjo vsebnost jabolčne kisline, zato so MKB potrebovale več energije. V primeru zaključenih vodenih MKF so vina vsebovala manj fruktoze kot glukoze. V mladih vinih, kjer je potekla vodena MKF, smo določili fruktozo v intervalu med 0,23 in 0,83 g/L. Pri poskusu letnika 2004 smo pri

inokulacijah MKB določili manjše vsebnosti fruktoze, z izjemo sauvignona. Pri poskusu letnika 2005 nismo opazili vpliva časa ali uporabljenih starterskih kultur MKB na vsebnost fruktoze in glukoze. Vsebnosti glukoze v mladih vinih so bile od 0,36 do 1,36 g/L. Izvedba in potek MKF na vsebnost saharoze nista imela vpliva.

#### 4.4.5 SKUPNI EKSTRAKT

Skupni ekstrakt predstavljajo nehlapne sestavine vina, predvsem glicerol, kisline, sladkorji in organske soli. Med vinifikacijo se vsebnost skupnega ekstrakta zmanjšuje, predvsem na račun izločanja kalijevega hidrogentartrata (Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Jackson, 2000; Boulton in sod., 1996; Zoecklein in sod., 1995). Dokazali smo, da je MKF imela velik in značilen vpliv na vsebnost skupnega ekstrakta v mladih vinih. Vpliv časa inokulacije je bil izrazitejši v primerjavi z vplivom uporabljene starterske kulture MKB. V vseh inokulacijah MKB smo določili večje vsebnosti skupnega ekstrakta kot pri koinokulacijah, kar ni bilo značilno za vinifikacije malvazije letnika 2003 (Muhar, 2005; Muhar in Košmerl, 2005). Večje vsebnosti skupnega ekstrakta smo opazili v primerih uporabe starterske kulture MKB2, kar je bilo značilno tudi za vinifikacije malvazije letnika 2003 (Muhar, 2005; Muhar in Košmerl, 2005). Razlika skupnega ekstrakta in reducirajočih sladkorjev predstavlja sladkorja prosti ekstrakt, katerega vsebnost v vinih različnega kakovostnega razreda predpisuje slovenska zakonodaja (Pravilnik o pogojih ..., 2004). Na njegovi osnovi bi se večina mladih vin iz našega poskusa uvrstila v razred vrhunskih vin, z izjemo malvazije letnikov 2004 in 2005, kjer smo določili najmanjše vsebnosti skupnega ekstrakta. Vsebnosti skupnega ekstrakta so bile po dvomesečnem zorenju pričakovano manjše v primerjavi z vsebnostmi v mladih vinih.

#### 4.4.6 VIŠJI ALKOHOLI IN DRUGE H LAPNE SPOJINE

Višji alkoholi in druge hlapne spojine, predvsem estri pomembno prispevajo k aromi vina. MKF vključuje številne substrate, katerih produkti zelo vplivajo na senzorične karakteristike vina po MKF. Diacetil, etil laktat in očetna kislina so glavni aromatični produkti delovanja MKB. Diacetil je v bistvu najpomembnejša aromatična spojina MKF in je vmesni produkt razgradnje citronske kisline. V manjši vsebnostih kot med MKF, nastaja tudi med AF. MKB v svoj metabolizem vključujejo tudi acetaldehid (Swiegers in sod., 2005; Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000; Boulton in sod., 1996; Martineau in Henick-Kling, 1995c). Pri določenih višjih alkoholih in hlapnih spojinah smo opazili vpliv časa dodatka in/ali uporabljenih starterskih kultur MKB.

Vsebnosti diacetila so bile različne v vinih pred in po zorenju, kar je potrdilo nadaljevanje razgradnje citronske kisline. Vsebnosti diacetila v mladih vinih in vinih po dvomesečnem zorenju spontanah ali vodenih MKF niso presegle vsebnosti 3,5 (mlada vina) oz. 3,4 mg/L (zorena vina). Najmanjša določena vsebnost diacetila je znašala 0,4 mg/L. V belih vinih je zgornja priporočena vsebnost diacetila po končani MKF 5 mg/L. Vsebnosti diacetila, ki presegajo 10 mg/L pomenijo kvar vina, torej poslabšanje kakovosti vina (Bartowsky in Henscke, 2004; Bauer in Dicks, 2004; Bartowsky in sod., 2002; Liu, 2002; Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Med vsebnostmi citronske kisline in diacetila v vinih nismo opazili korelacije (priloga C10). V našem poskusu čas dodatka in uporabljena starterska kultura MKB nista vplivala na vsebnost diacetila v vzorcih mladih vin. Večji je bil vpliv poteka MKF oz. razgradnje citronske kisline. Nielsen in Richelieu (1999) navajata, da so vsebnosti diacetila po zaključenih vodenih MKF v vinih chardonnay presegle vsebnost 10 mg/L, kljub temu da je vino pred MKF vsebovalo samo 0,35 g/L citronske kisline. Nekoliko starejše raziskave navajajo prav tako vsebnosti diacetila v vinih chardonnay, sicer iz toplejšega vinorodnega območja, po končani MKF v nizkem intervalu, med 0,005 in 1,7 mg/L (Martineau in sod., 1995a), druge pa ponovno več kot 10 mg/L (Martineau in Henick-Kling, 1995c) in celo skoraj 16 mg/L (de Revel in sod., 1999).

Diacetil, vmesni produkt razgradnje citronske kisline, se v nadaljevanju pretvori najprej v acetoin in v 2,3-butandiol, ki imata v primerjavi z diacetilom veliko nižji prag zaznave. Vsebnosti acetoina v



mladih in zorenih vinih niso potrdile vpliva časa ali uporabljene starterske kulture MKB ali celo korelacije s citronsko kislino (priloga C10). V mladih vinih vodenih MKF smo določili acetoin v intervalu med 6,0 in 8,5 mg/L, medtem ko so bile vsebnosti v zorenih vinih med 5,9 in 10,3 mg/L. Acetoin, tako kot diacetil, med AF tvorijo tudi kvasovke, tako endogene kot inokulirane (Romano in sod., 2003; Romano in sod., 2000; Romano in Suzzi, 1993). De Revel in sod. (1999) navajajo vsebnosti acetoina v vinih chardonnay od 2,55 do 5,15 mg/L.

Ester etil laktat je tudi zelo pomemben produkt delovanja MKB, ki značilno vpliva na aromatične značilnosti vin, v katerih je potekla MKF. V primeru poteka MKF so se njegove vsebnosti v vinih zelo povečale. Po nekaterih virih se vsebnost etil laktata poveča za faktor od štiri- do sedemkrat in doseže največjo vsebnost 235 mg/L (Pozo-Bayon in sod., 2005). Po navedbah drugih avtorjev (Ugliano in Moio, 2005) se je vsebnost etil laktata nahajala v intervalu od 1217 do 1285 µg/L. Spet drugi vir navaja vsebnosti etil laktata po končani MKF v višjem intervalu, od 9,91 do 14,83 mg/L (Maica in sod., 1999). Tvorba etil laktata je odvisna tudi od vrste MKB (Pozo-Bayon in sod., 2005). V naših vinih, kjer je potekla vodena MKF, smo določili vsebnosti etil laktata v intervalu od 2,0 do 31,5 mg/L. V posameznih primerih smo opazili vpliv časa in/ali uporabljenih starterskih kultur MKB. V nekaterih primerih se je vsebnost etil laktata med zorenjem vina povečala, v drugih zmanjšala.

Acetaldehid, vmesni produkt pri nastanku etanola, tvorijo med AF kvasovke. V primeru oksidacije vina se pojavi v večjih vsebnostih in povzroči spremembo barve in arome vina. Iz določenih literaturnih podatkov je razvidno, da so se vsebnosti acetaldehida med MKF zmanjšale, pri čemer sta nastala očetna kislina in etanol (Fleet, 2002; Osborne in sod., 2000; Morneau in de Orduña, 2005). Iz naših podatkov so razvidne večje vsebnosti acetaldehida v vinih vodenih MKF letnika 2004, od 25,6 do 89,3 mg/L, kot letnika 2005, od 7,4 do 43,1 mg/L. K temu je prispevala sedem dni daljša vinifikacija opazovanja. Večje vsebnosti acetaldehida smo določili tudi v zorenih vinih letnika 2004. Pri letniku 2004 smo določili več acetaldehida pri vinih malvazija in sauvignon kot chardonnay in laški rizling. V posameznih primerih vinifikacij smo opazili vpliv časa in/ali uporabljenih starterskih kultur MKB. Na osnovi dobljenih rezultatov nismo mogli potrditi zmanjšanje vsebnosti acetaldehida zaradi poteka MKF. Vpliv MKF, torej časa in uporabljenih starterskih kultur MKB, na vsebnost preostalih višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin smo ugotovili le pri posameznih spojinah.

#### 4.4.7 AMINOKISLINE IN PROSTI AMINOKISLINSKI DUŠIK

Dušikove spojine, med katere sodijo tudi AK, so zelo pomemben dejavnik, ki vplivajo na potek tako AF kot tudi MKF (Fernández in de Nadra, 2006; Fleet, 2002; Fugelsang, 1997). Za kvasovke in tudi MKB predstvaljajo vir dušika, ter omogočajo nemoten potek fermentacij (Fernández in de Nadra, 2006; Remize in sod., 2005; Saguir in sod., 2002; de Orduña in sod., 2001). AK so pomembne tudi kot izvirne spojine za nastanek višjih alkoholov in estrov, ki vplivajo na aromatične značilnosti vina (Ardö, 2006; Hernández-Orte in sod., 2005a, 2005b; Hernández-Orte in sod., 2002; Pripis-Nicolau in sod., 2000). AK pa so tudi izvirne spojine bezaželenih biogenih aminov in etil karbamata; spojin, ki so škodljive za zdravje (Herbert in sod., 2005; Pripis-Nicolau in sod., 2004; Moreno-Arribas in sod., 2003; Guerrini in sod., 2002a; Torrea in Ancín, 2002; Lonvaud-Funel, 2001a; de Orduña in sod., 2000a; Leitão in sod., 2000; Pripis-Nicolau in sod., 2000; Liu in Pilone, 1998; Bauza in sod., 1995; Kodama in sod., 1994). FAN je oznaka za prosti aminokislinski dušik v moštih in vinih ter poleg amonijaka zajema šestih najbolj zastopanih AK grozdja, mošta in vina: arginin, alanin, treonin, serin, glutaminsko in asparaginsko kislino (Košmerl in Kač, 2004). Kot smo že zapisali, so bile razlike v vsebnosti FAN med mošti značilne za sorto in letnik, z izjemo chardonnaya. Opazili smo tudi vpliv pridelovalnega območja. Ker so omenjene AK kvasovke koristile med AF kot vir dušika, je bila posledično vsebnost FAN v mladih in zorenih vinih manjša. Najmanjše vsebnosti FAN v vinih smo, tako kot pri moštih obeh letnikov, določili pri sortah malvazija in chardonnay. Večina zorenih vin je zaradi avtolize prisotnih kvasovk vsebovala več FAN kot mlada vina.

Na področju MKF in AK je narejenih veliko raziskav, vendar so podatki o dinamiki vsebnosti AK med MKF zelo skopi. Največ raziskav je osredotočenih na arginin, ki je poleg prolina ena izmed najbolj zastopanih AK v moštu. Pozo-Bayón in sod., (2005) poročajo o nespremenjeni vsebnosti Asp pred in po MKF, medtem ko so se vsebnosti večine AK (Glu, Asn, Ser, Gln, Gly, Thr, Tyr, Val, Trp, Phe, Ile, Leu, Orn, Lys) povečale po končani MKF, ki so jo vodile MKB vrste *O. oeni*. Le v primerih Arg, Met, Trp so se vsebnosti po končani MKF zmanjšale. Naši podatki so zelo primerljivi s podatki iz prej omenjenega vira. V našem poskusu smo dokazali vpliv vodene MKF na aminokislinsko sestavo vin, čeprav je bil vpliv sorte in pridelovalnega območja večji. Vsebnost posameznih AK se je med mošti različnih sort pričakovano razlikovala, vendar smo ugotovili primerljivost moštov glede na pridelovalno območje. Vsebnosti nekaterih izmed 21 analiziranih prostih AK so bile v mladih vinih po končanih vodenih MKF večje, drugih manjše kot v vzorcih, kjer je spontana MKF potekla ali ni potekla. Mošt sauvignon letnika 2005 je izstopal po veliki vsebnosti arginina in majhni vsebnosti prolina. Med 21 AK z izjemo sorte laški rizling, smo pri preostalih treh sortah določili vsebnost Lys šele v mladih vinih.

#### 4.4.8 SPREMLJANJE ODDAJANJA CO<sub>2</sub>

Kot smo zapisali že predhodno so interakcije med selekcioniranimi kvasovkami in MKB dejavnik, ki vpliva na MKF. V primeru koinokulacije kvasovk in MKB pride do antagonizma. Kvasovke med AF hitreje porabljajo hranilne snovi, tvorijo etanol, SO<sub>2</sub> in maščobne kisline, kar vse negativno vpliva na razvoj populacije MKB. Količina omenjenih produktov kvasovk je odvisna od vrste in seva kvasovk ter MKB. Ob koncu AF se zaradi avtolize sproščajo AK, peptidi, dušikove spojine in vitamini, katere MKB potrebujejo za dokončanje MKF (Comitini in sod., 2005; Hervé in sod., 2004; Larsen in sod., 2003; Fleet, 2003; Costello in sod., 2003; Guilloux-Benatier in sod., 1998; Guzzo in sod., 1998).

S spremljanjem poteka fermentacije z oddajanjem CO<sub>2</sub> pri poskusu letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini smo ugotovili večje razlike med sortami kot med vinifikacijami znotraj sorte (prilogi A11, A12). Vpliv sorte je bil pomembnejši kot vpliv časa in uporabljenih starterskih kultur MKB. Pri koinokulacijah smo 5. dan AF opazili manjšo ali večjo količino oddanega CO<sub>2</sub> v primerjavi s kontrolno vinifikacijo. Pri koinokulacijah sorte chardonnay je bila količina oddanega CO<sub>2</sub> manjša, pri sauvignonu pa večja v primerjavi s kontrolno vinifikacijo. Pri vinifikacijah sort malvazija in laški rizling smo ugotovili večje ali manjše količine oddanega CO<sub>2</sub> v primerjavi s kontrolo med samimi koinokulacijami. Tako smo pri malvaziji opazili manjšo količino oddanega CO<sub>2</sub> pri KIN1 in večjo pri KIN2 v primerjavi s kontrolo, medtem ko je bilo za sorto laški rizling značilno ravno obratno. Iz tega lahko zaključimo, da se je v nekaterih primerih MKF začela sočasno z AF, v drugih pa ne. V novejših raziskavah avtorji ugotavljajo (Alexandre in sod., 2004; Rosi in sod., 2003), da se je tudi v primeru koinokulacije kvasovk in MKB MKF začela z nekajdnevni zamikom za AF. Primerjava količine oddanega CO<sub>2</sub> 5. dan po inokulaciji MKB po zaključeni AF je pokazala ravno tako večje ali manjše količine oddanega CO<sub>2</sub> v primerjavi s kontrolo. Pri vinifikacijah sorte chardonnay smo pri inokulacijah določili manjše, pri sorti sauvignon pa večje količine oddanega CO<sub>2</sub> v primerjavi s kontrolno vinifikacijo, enako kot pri koinokulacijah. V primeru vinifikacij IN1 smo tako pri sorti malvazija kot laški rizling določili manj oddanega CO<sub>2</sub> in pri IN2 več v primerjavi s kontrolno vinifikacijo. Vzrok za to je bil pri malvaziji najverjetneje slabši prehranski status z dušikovimi spojinami in pri laškem rizlingu nizek pH ter visoka vsebnost skupnih kislin. Ne smemo tudi pozabiti, da je v primeru kontrolne vinifikacije stekla spontana MKF, ki se je v opazovanem obdobju popolnoma zaključila pri sortah chardonnay in malvazija. V končni količini oddanega CO<sub>2</sub> po 28 dneh med vinifikacijami znotraj sorte ni bilo značilnih razlik. Količine oddanega CO<sub>2</sub> so bile pri posameznih vinifikacijah sorte chardonnay od 53,15 do 54,24 g/L, malvazije od 48,67 do 49,34 g/L, sauvignona od 47,87 do 49,61 g/L in laškega rizlinga od 45,50 do 46,25 g/L. Pri sorti sauvignon je bil interval količine oddanega CO<sub>2</sub> največji, ker je bil potek spontane MKF v primeru kontrolne vinifikacije počasnejši kot potek vodenih

MKF. Ta se je začela tudi v primeru vinifikacije PS, vendar je bila količina oddanega CO<sub>2</sub> večja kot pri kontrolni vinifikaciji, najverjetneje zaradi delovanja dodatnega prehranskega sredstva.

#### 4.4.9 SPREMLJANJE RASTI KVASOVK IN MLEČNOKISLINSKIH BAKTERIJ

S spremljanjem dinamike rasti MKB med vinifikacijami sort letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini nismo ugotovili pričakovanega zelo opaznega vpliva interakcij med kvasovkami vrste *Saccharomyces bayanus* in MKB. Pri koinokulacijah sort chardonnay in malvazija smo opazili nekoliko manjše populacije kvasovk kot kontrolni vinifikaciji že 1. dan po dodatku starterskih kultur. Opazili smo tudi razlike med uporabljenima starterskima kulturama MKB. V primerih KIN1 so bile populacije kvasovk nekoliko manjše pri vseh sortah kot pri KIN2. Največje razlike med kontrolno vinifikacijo in koinokulacijama MKB v velikosti populacij kvasovk smo opazili pri sorti laški rizling; manjša je bila pri koinokulacijah MKB. Največje razlike med uporabljenima vrstama MKB so bile značilne za sorto chardonnay, kjer je bila populacija kvasovk večja v primeru KIN1 od KIN2. V primeru inokulacij MKB po končani AF so bile velikosti populacij kvasovk 1. in 7. dan zelo primerljive s populacijo kvasovk kontrolne vinifikacije pri vseh sortah. 42. dan spremljanja dinamike rasti smo opazili nekoliko manjše populacije kvasovk pri inokulacijah MKB kot pri koinokulacijah. Razlike v velikosti populacij kvasovk med posameznimi vinifikacijami so bile premajhne, da bi lahko iz njih sklepali na antagonizem MKB do uporabljenih kvasovk vrste *Saccharomyces bayanus*.

Potek razgradnje jabolčne in tvorbe mlečne kisline je bil povezan z dinamiko rasti MKB. Med posameznima dodanima starterskima kulturama MKB ni bilo razlik v dinamiki njihove rasti, tako pri koinokulacijah kot inokulacijah. Dinamika rasti MKB je bila, z izjemo laškega rizlinga, podobna pri ostalih treh sortah. Zelo primerljiva je bila dinamika rasti MKB pri sortah chardonnay in malvazija. Med vinifikacijami je bila pričakovano izjema le spontana vinifikacija. Ugotovili smo majhne razlike med rastjo MKB pri koinokulaciji in inokulaciji MKB. Pri koinokulacijah MKB so bakterije v začetku rastle nekoliko počasneje, vendar smo določili največjo populacijo. Razlog je najverjetneje antagonizem kvasovk vrste *Saccharomyces bayanus*, ki v našem primeru ni bil zelo izrazit. Iz spremljanja dinamike rasti MKB smo ugotovili večji vpliv časa inokulacije, ne pa uporabljene starterske kulture MKB na dinamiko rasti MKB. V primerih spontanah MKF smo določili primerljive populacije endogenih MKB kot pri uporabi starterskih kultur MKB, vendar je bila njihova rast pričakovano počasnejša. Izjema je bila sorta laški rizling, kjer smo prvič populacijo endogenih MKB določili komaj 21. dan spontane vinifikacije.

Kot poročajo drugi avtorji (Fleet, 2003; Rauhut in sod., 2001), smo tudi z našim eksperimentom ugotovili vpliv pH na razvoj populacij MKB. Vrednost pH pa je bila v našem primeru odvisna od sorte in pridelovalnega območja. Na populacijo MKB lahko vpliva tudi sama sorta (Gockowiak in Henschke, 2003). Po navedbah drugih (G-Alegría in sod., 2004) je vrsta *O. oeni* tolerantna na nizke pH do 3,2 in tako naj bi se MKB hitro prilagodile na nizek pH v moštu ali vinu. Večje populacije MKB v primeru vodenih MKF tako koinokulacij kot inokulacij MKB smo določili pri sortah z višjim pH. S spremljanjem populacij kvasovk in MKB so dobili ponovljive rezultate in značilne razlike med časom dodatka in uporabljeno startersko kulturo MKB. Iz rezultatov smo opazili večji vpliv kvasovk na MKB kot pa MKB na kvasovke, kar so ugotovili tudi Taillandier in sod. (2002).

#### 4.4.10 VPLIV TEMPERATURE IN FERMENTACIJSKE PROSTORNINE

Temperatura je eden izmed štirih najpomembnejših dejavnikov poteka MKF. V intervalu med 20 in 25 °C je najprimernejša za izvedbo MKF tako s stališča hitrosti razgradnje jabolčne kisline kot tudi z vidika vrste in količine posameznih produktov delovanja MKB (Fleet, 2002; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Reguant in sod. (2005b) niso potrdili vpliva temperature med AF na potek MKF, medtem ko so to dokazali Delaquis in sod. (2000).

Izvedba poskusa vpliva temperature na potek MKF in posledično na kemijsko sestavo mladih vin malvazija letnikov 2004 in 2005 v 500 mL fermentacijskih stekleničkah je potrdila pomemben vpliv temperature na vrednosti posameznih obravnavanih parametrov. Vpliv temperature je bil značilen tako za koinokulacijo kot inokulacijo MKB, medtem ko iz rezultatov nismo ugotovili vpliva uporabljenih MKB. Značilne razlike so obstajale v pH in preostalih treh kislinskih parametrih. Vrednosti pH so bile višje v primerih vinifikacije pri 20 °C, saj je MKF potekala hitreje kot pri 14 °C. V primerih koinokulacije pri 20 °C se je jabolčna kislina popolnoma razgradila, medtem ko smo jo pri 14 °C določili v intervalu med 0,38 in 0,40 g/L, torej še nismo dosegli mikrobiološke stabilnosti vina. Več jabolčne kisline smo določili tudi pri inokulaciji pri 14 °C kot pri 20 °C. S stopnjo razgradnje jabolčne kisline pri določeni temperaturi so sovpadale tudi vsebnosti jantarne in citronske kisline. Vsebnosti hlapnih kislin so bile večje v primeru vinifikacije pri višji temperaturi in uporabi MKB1 pri tej temperaturi. Vsebnosti reducirajočih sladkorjev so bile večje pri koinokulacijah pri nižji temperaturi, medtem ko so bile razlike v vsebnostih pri različnih temperaturah inokulacije neznailne. Pričakovano večje vsebnosti skupnega ekstrakta smo določili le pri koinokulacijah, ne pa tudi inokulacijah pri nižji temperaturi. vsebnosti glukoze in fruktoze so bile večje pri koinokulacijah in inokulacijah pri 14 °C. Tako kot na vsebnost šikimske kisline, temperatura ni vplivala tudi na vsebnost saharoze. Temperatura je vplivala tudi na vsebnosti glicerola, produkt delovanja kvasovk in skupne fenole. Večje vsebnosti 1-propanola in metanola so bile značilne za mlada vina, vinificirana pri 20 °C, medtem ko so bile vsebnosti izoamil alkohola, izobutanola in 2-fenil etanola večje pri nižji temperaturi. Pri višji temperaturi vinifikacije smo določili večje vsebnosti acetaldehida, izoamil in etil acetata ter etil in metil laktata. Več diacetila, acetoina in 2-fenil etilacetata smo določili v mladih vinih, kjer je vinifikacija potekala pri 14 °C.

Vpliv velikosti fermentacijske prostornine smo izvajali z letnikom 2004. Primerjali smo kemijsko sestavo mladih vin sort malvazija, sauvignon in laški rizling v 500 mL in 28 L fermentacijski prostornini. Potrdili smo vpliv velikosti fermentacijske prostornine na potek MKF, vendar je tako vodena kot spontana MKF potekala hitreje v manjši kot večji prostornini.

#### 4.4.11 KORELACIJE

Zaradi poteka vodene ali spontane MKF ter z njo povezanimi metabolnimi procesi MKB in kemijskimi reakcijami, smo pričakovali korelacije med posameznimi kemijskimi parametri in hlapnimi spojinami v 92 vzorcih mladih in zorenih vin letnikov 2004 in 2005. Na osnovi izračuna linearne regresije smo določili regresijski koeficient ( $r$ ) ter njegovo statistično značilnost ( $P$ ) med posameznimi pari parametrov in hlapnih spojin (priloga C10). Nekatere pričakovane korelacije med posameznimi pari parametrov niso bile tesne, čeprav so bile statistično značilne, najverjetneje zaradi razlik med sortami in letniki.

Posledica mikrobiološkega razkisa oz. aktivnosti MKB je povečanje vrednosti pH. Med pH ter titrabilnimi ( $r=-0,87$ ) in skupnimi kisljinami ( $r=-0,87$ ), vinsko ( $r=-0,73$ ) in jabolčno kislino ( $r=-0,85$ ) so obstajale pričakovane tesne negativne korelacije, ki so bile statistično zelo visoko značilne. Opazili smo sicer statistično visoko značilni negativni korelaciji pH s citronsko ( $r=-0,49$ ) in jantarno kislino ( $r=-0,42$ ), ki pa nista sta bili tesni. Statistično zelo visoko značilno pozitivno korelacijo, ki pa ni bila tesna, smo ugotovili med pH in mlečno kislino ( $r=0,29$ ), glavnim produktom razgradnje jabolčne kisline. Statistično zelo visoko značilno negativno korelacijo smo ugotovili med pH in pufrno kapaciteto ( $r=0,29$ ), vendar ni bila tesna. Med MKF so se vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin ter posameznih organskih kislin zmanjšale. Tako smo ugotovili pozitivne tesne korelacije titrabilnih in skupnih kislin z vinsko in jabolčno kislino (TK1:VK  $r=0,78$ ; TK1:JBK  $r=0,78$ ; TK2:VK  $r=0,75$ ; TK2:JBK  $r=0,78$ ), ki so bile statistično zelo visoko značilne. Zaradi razgradnje jabolčne kisline, ki v vseh vzorcih ni bila popolnoma zaključena, smo med jabolčno in mlečno kislino ugotovili negativno korelacijo ( $r=-0,63$ ), ki ni bila tesna, čeprav je bila statistično zelo visoko značilna. Med MKF smo opazili poleg zmanjšanja jabolčne kisline tudi zmanjšanje vsebnosti citronske kisline in

nepričakovano zmanjšanje jantarne kisline. Med jabolčno kislino ter citronsko ( $r=0,78$ ) in jantarno kislino ( $r=0,81$ ) smo ugotovili tesni pozitivni korelaciji, ki sta bili statistično zelo visoko značilni. Pozitivna tesna statistično zelo visoko značilna korelacija je obstajala med jabolčno kislino in skupnim ekstraktom ( $r=0,81$ ), katerega vsebnost se je v vinih vodenih MKF značilno zmanjšala. Med hlapnimi kislinami in citronsko kislino smo pričakovali negativno tesno korelacijo, ki pa je bila statistično neznačilna in ni bila tesna ( $r=-0,13$ ). Kljub dejstvu, da MKB iz citronske kisline sicer lahko tvorijo majhne količine mlečne kisline, smo med njima ugotovili tesno negativno korelacijo ( $r=-0,82$ ), ki je bila statistično zelo visoko značilna. Ker je vmesni produkt razgradnje citronske kisline diacetil, smo pričakovali negativno tesno korelacijo, ki pa je bila statistično neznačilna in ni bila tesna ( $r=-0,08$ ). Enako smo ugotovili med citronsko kislino in acetoinom ( $r=-0,09$ ), naslednjim razgradnim produktom citronske kisline. Najverjetnejši razlog netesnih in statistično neznačilnih korelacij med citronsko kislino ter diacetilom in acetoinom v naših poskusih je ta, da sta bila diacetil in acetoin vmesna produkta metabolizma citronske kisline. Etil laktat je pomembna aromatična spojina, značilna za MKF. Tako smo med mlečno kislino in etil laktatom pričakovali tesno korelacijo, čemur v našem poskusu ni bilo tako, saj ni bila tesna, čeprav je bila statistično visoko značilna ( $r=0,22$ ). Ugotovili pa smo zelo tesno negativno korelacijo med mlečno kislino in estrom izoamil acetatom ( $r=-0,90$ ), ki je bila statistično zelo visoko značilna. Med mlečno kislino in etil acetatom smo prav tako ugotovili tesno negativno korelacijo ( $r=-0,88$ ), ki je bila statistično zelo visoko značilna. Nasprotno nismo ugotovili korelacije med hlapnimi kislinami ter izoamil acetatom ( $r=-0,11$ ) in etil acetatom ( $r=-0,14$ ), ki sta bili statistično neznačilni. MKB pridobivajo energijo za rast z metabolizem sladkorjev, vendar so fruktofilne. Med reducirajočimi sladkorji in fruktozo smo ugotovili tesno pozitivno statistično zelo visoko značilno korelacijo ( $r=0,83$ ), medtem ko je bila korelacija med reducirajočimi sladkorji in fruktozo statistično zelo visoko značilna, vendar ni bila tesna ( $r=0,64$ ).

## 5 SKLEPI

Na osnovi rezultatov opravljenih raziskav smo prišli do naslednjih pomembnih zaključkov.

Jabolčno-mlečnokislinska fermentacija (MKF) pomembno vpliva na kemijsko sestavo in senzorične lastnosti posameznih sortnih belih vin iz Slovenije. Potrdili smo, da ima vodena MKF z uporabo starterskih kultur mlečnokislinskih bakterij (MKB) v primerjavi z nepredvideno spontano MKF prednosti.

Z vsebnostjo jabolčne kisline v moštih različnih letnikov kot tudi sort, je bila povezana količina razgrajene jabolčne kisline oz. potek MKF. V poskusu letnika 2004 je vodena MKF trajala v povprečju sedem dni dlje kot v poskusu letnika 2005. V primerih večje vsebnosti jabolčne kisline smo v mladih vinih in vinih po zorenju določili njene različne vsebnosti. S tem je bila povezana vrednost/vsebnost kislinskih parametrov in vsebnost drugih organskih kislin, predvsem mlečne in citronske kisline, pa tudi jantarne. Različna količina razgrajene jabolčne kisline je vplivala na vsebnost hlapnih kislin, reducirajočih sladkorjev, glukoze in fruktoze ter skupnega ekstrakta. Dokazali smo, da na vsebnost šikimske kisline MKF ni vplivala.

V okviru uporabljenih dveh tržnih starterskih kultur MKB so bile opazne redke in manjše razlike v poteku MKF, predvsem v začetku in trajanju. Na razlike je vplival tudi letnik. Med koinokulacijo in inokulacijo MKB so bile razlike v začetku in trajanju MKF povezane s sorto in letnikom, torej z vsebnostjo jabolčne kisline in vrednostjo pH. Pri chardonnayu in malvaziji iz toplejšega vinogradniškega področja, ki sta vsebovala manj jabolčne kisline in imela višji pH, sta bila hitrejši začetek in dokončanje MKF značilna za koinokulacijo MKB. Pri sauvignonu in laškem rizlingu iz hladnejšega vinogradniškega področja, za katera sta bila značilna večja vsebnost jabolčne kisline in nižji pH, med koinokulacijo in inokulacijo MKB nismo ugotovili značilnega vpliva. Hitrejši začetek tako pri vodenih kot spontanih MKF smo opazili pri letniku 2005 kot 2004, saj so bili pogoji za izvedbo MKF primernejši. Motnje v začetku in poteku MKF smo opazili med vinifikacijami sort sauvignon 2004 in laški rizling 2005.

Pri spremljanju vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami smo v vzorcih letnika 2005, kjer je potekla tako vodena kot spontana MKF, ugotovili tik pred začetkom zmanjševanja vsebnosti jabolčne kisline njeno manjše povečanje vsebnosti. Vzrok za to je bila najverjetneje tvorba jabolčne kisline med ciklom trikarboksilnih kislin. Pri poteku MKF smo opazili najprej nepričakovano zmanjševanje vsebnosti jantarne kisline, sledila je razgradnja jabolčne in nato tudi citronske kisline. V vseh vinih, kjer je bila razgradnja jabolčne kisline popolnoma končana, nismo določili jantarne kisline. Najverjetneje se je iz nje tvoril ester dietil sukcinat.

Uporaba različnih tržnih starterskih kultur MKB ni vplivala le na potek MKF, temveč tudi na kemijsko sestavo tako mladih kot zorenih vin. Uporabljena starterska kultura MKB v primerih vodenih MKF med posameznimi sortami vin ni zelo izrazito vplivala na vsebnosti višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin ter aminokislin, vendar so razlike obstajale. Statistično značilne razlike smo ugotovili tudi v vsebnosti skupnih fenolov. Tržna starterska kultura MKB2 naj bi bila bolj odporna na težje pogoje MKF, torej nižji pH in temperaturo ter večjo vsebnost alkohola. V primerih vinifikacij sort sauvignon letnika 2004 in laški rizling 2005, ki sta imela pH pod 3,20, se to ni izkazalo.

Ugotovili smo, da sta imela na vsebnost višjih alkoholov in drugih hlapnih spojin večji vpliv sorta in letnik kot čas dodatka dodatka in uporabljena starterska kultura MKB. Pri posameznih analitih smo znotraj sorte vina opazili vpliv časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB.

Čas dodatka ali uporabljena starterska kultura MKB na rast kvasovk nista vplivala. Med vodenimi vinifikacijami nismo opazili razlik v rasti kvasovk tako znotraj sorte kot med sortami. Izjema je bila le rast kvasovk med spontano vinifikacijo. Potek razgradnje jabolčne in tvorbe mlečne kisline je bil povezan z dinamiko rasti MKB. Med posameznima dodanima starterskima kulturama MKB ni bilo razlik, tako pri koinokulaciji kot inokulaciji MKB. Iz spremljanja dinamike rasti MKB smo ugotovili majhen vpliv časa dodatka, ne pa uporabljene starterske kulture MKB na rast MKB. Dinamika rasti MKB je bila, z izjemo laškega rizlinga, podobna pri vseh sortah. Ponovno je bila izjema rast MKB med spontano vinifikacijo, kjer pa smo določili primerljive populacije endogenih MKB kot pri uporabi starterskih kultur MKB.

Vodena MKF je vplivala na aminokislinsko sestavo vin. V večini vinifikacij z letnikom 2005 nismo opazili vpliva časa dodatka ali uporabljene starterske kulture MKB na vsebnosti aminokislin. Izjema so bila mlada vina malvazija, kjer smo ugotovili vpliv uporabljene starterske kulture MKB. Različna aminokislinska sestava moštov različnih sort je bila pričakovana, vendar smo ugotovili primerljivost moštov glede na pridelovalno območje. S spremljanjem vsebnosti aminokislin med MKF smo dopolnili zelo skope podatke o metabolizmu aminokislin med MKF. Vsebnosti nekaterih AK so bile v mladih vinih po končanih vodenih MKF večje, drugih manjše kot v vzorcih, kjer je spontana MKF potekla ali ni potekla. Mošt sauvignon letnika 2005 je izstopal po veliki vsebnosti arginina in majhni vsebnosti prolina. Med 21 AK z izjemo sorte laški rizling, smo pri preostalih treh sortah določili vsebnost lizina šele v mladih vinih.

S spremljanjem količine oddanega CO<sub>2</sub> smo ugotovili večji vpliv sorte, zlasti na račun dozorelosti grozdja in verjetno tudi zaradi vsebnosti dušikovih spojin kot pa časa dodatka in uporabljenih starterskih kultur MKB. Potek oddajanja CO<sub>2</sub> pri različnih vinifikacijah je bil znotraj sorte zelo primerljiv.

S potekom vinifikacije v različnih fermentacijskih prostorninah poskusa letnika 2004 smo na osnovi določevanja vrednosti pH, posameznih organskih kislin in sladkorjev ugotovili vpliv fermentacijske prostornine na MKF. Hitrejši potek MKF smo ugotovili v manjši fermentacijski prostornini.

S poskusom na sorti malvazija letnikov 2004 in 2005 smo potrdili velik vpliv temperature na potek MKF. Razgradnja jabolčne kisline je bila pri višji temperaturi popolnejša. Temperatura ni vplivala zgolj na potek MKF, temveč tudi na kemijsko sestavo mladih vin.

Ugotovili smo, da je vodena MKF izboljšala kakovost vin vseh štirih proučevanih sort: chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling. Vendar po dvomesečnem zorenju vin nismo dosegli pričakovane mikrobiološke stabilnosti vin zaradi nepopolne razgradnje jabolčne kisline, zlasti pri sortah sauvignon in laški rizling. 50 mg/L prostega SO<sub>2</sub> se je izkazalo kot premajhna vsebnost za ustrezno zaščito vina po MKF. To je vplivalo tudi na nižje senzorične ocene zorenih vin v primerjavi z mladimi vini.

Z dvoletnim poskusom na štirih belih sortah iz dveh podnebno različnih vinorodnih dežel Slovenije smo potrdili kompleksnost jabolčno-mlečnokislinske fermentacije in njen odločujoč vpliv na kakovost in stil vina. Toda doprinos vodene MKF k izboljšani kakovosti vin je bil večji v vinih iz hladnejšega vinogradniškega področja kot v vinih iz toplejšega področja.

## 6 POVZETEK

### 6.1 POVZETEK

Jabolčno-mlečnokislinska fermentacija (MKF) je sekundarna fermentacija v vinarstvu. Za kakovost vina je odločilnega pomena, saj jo lahko izboljša ali poslabša. MKF navadno poteče spontano po zaključeni alkoholni fermentaciji (AF), če so izpolnjeni ustrezni pogoji. MKF vodijo mlečnokislinske bakterije (MKB), med katerimi so bakterije vrste *Oenococcus oeni* najbolj zaželeno ter prevladujejo v tržnih starterskih kulturah MKB. MKB ostalih dveh rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus* uvrščamo med kvarljivce. Osnovni namen MKF je zmanjšanje kislosti, kar je zlasti zaželeno v vinih, bogatih s kislinami. Zato je MKF zelo pogosta v vinih iz hladnejših pridelovalnih območij. Vina iz toplejših območij imajo značilno manj kislin in/ali visoke vrednosti pH, kar ima lahko v primeru izvajanja MKF za vino neugodne posledice. V belih vinih je v primerjavi z rdečimi MKF bistveno manj pogosta in njena uporaba je vezana predvsem na sorto in vinorodno področje. Vodena MKF se vse pogosteje uporablja kot način izboljšanja arome in mikrobiološke stabilnosti vina, ne pa za zmanjšanje kislosti, tudi v vinih iz toplejših vinorodnih območij. Z MKF se zmanjša učinek rastlinskih not in poudari sadne note tako v vonju kot okusu. MKF zaradi številnih in raznolikih biokemijskih reakcij, ki vključujejo organske kisline, sladkorje, polirole, aldehide, ketone, glikozide, fenolne kisline, estre, aminokisline, amine idr., zagotovo ni zgolj samo način za doseg zmanjšanja kislosti. Novi trendi v tehnologiji vinifikacij belih in rdečih vin vključujejo tudi vodeno MKF z vidika izboljšanja kakovosti vina. V nekaterih slovenskih vinih navadno MKF steče spontano, če zanjo vladajo ustrezne razmere. To pa je vzrok za nestalno kakovost med letniki. Žal trg ponuja tudi vina, pri katerih je MKF potekla ali poteka v stekleničenem vinu, kar je nezaželeno. Začetek, potek, dokončanje in vodenje celotne inducirane MKF so bistveno bolj predvidljivi in kontrolirani v primerjavi s spontano MKF. Samo kontrolirana in vodena MKF je osnova za doseg večje kakovosti vina.

V dvoletnem poskusu smo izvajali vodene MKF v slovenskih belih vinih. Poskusi so potekali na Biotehniški fakulteti, Oddelku za živilstvo. V obdobju preizkušanja MKF smo v časovnih intervalih spremljali številne kemijske, mikrobiološke in senzorične parametre. V poskus smo vključili po dve sorti iz dveh slovenskih vinorodnih dežel, Primorske in Podravja, torej toplejšega in hladnejšega vinorodnega področja. Odločili smo se za najbolj razširjeni slovenski, malvazija in laški rizling ter klasični svetovni sorti chardonnay in sauvignon. Grozdje posamezne sorte je bilo pridelano po načinu integrirane pridelave grozdja v vinogradih vinskih kleti Vinakoper in Ptujске kleti vinarstvo. Mikrovinifikacija posameznih sort letnikov 2004 in 2005 je potekala v 28 L vinskih posodah iz nerjavnega jekla. Sočasno smo z letnikom 2004 izvedli vinifikacije tudi v 500 mL fermentacijskih stekleničkah, kjer smo spremljali oddajanje CO<sub>2</sub>. Pri dveh temperaturah, 20 in 14 °C, smo izvedli poskus na sorti malvazija obeh letnikov v 500 mL fermentacijski prostornini. V moštih smo najprej opravili analize številnih kemijskih parametrov, kot kasneje v vinu. Izvedba vinifikacij je vključevala koinokulacijo mošta in inokulacijo mladega vina po zaključeni AF z dvema tržnima starterskima kulturama MKB vrste *Oenococcus oeni*. Vinifikacije induciranih MKF smo izvedli v primerjavi s kontrolnima vinifikacijama, kontrolno z in spontano brez inokulacije starterske kulture kvasovk vrste *Saccharomyces bayanus*. Med mikrovinifikijskim poskusom v 28 L fermentacijski prostornini smo spremljali potek MKF z določevanjem vsebnosti posameznih organskih kislin (vinske, jabolčne, mlečne, citronske, jantarne, šikimske kisline), sladkorjev (glukoza, fruktoza, saharoza), glicerola, pH in hlapnih kislin. Metodo HPLC za določevanje organskih kislin in sladkorjev smo modificirali. Med mikrovinifikijskim poskusom z letnikom 2005 smo med potekom vinifikacij določevali vsebnosti 21 prostih aminokislin (Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, Ala, Tyr, Cys, Val, Met, Trp, Phe, Ile, Leu, Lys, Hyp, Pro). Med fermentacijskim poskusom z malvazijo letnika 2004 smo v 500 mL



fermentacijski prostornini izvajali mikrobiološke preiskave, s katerimi smo določevali skupno število mikroorganizmov, kvasovk in MKB. V poskusu z letnikom 2005 smo med vinifikacijami v 28 L fermentacijski prostornini spremljali dinamiko rasti kvasovk in MKB. Po zaključenih fermentacijah smo v mladih vinih določili kemijske parametre (pH, skupne in titrabilne kisline, pufrno kapaciteto, hlapne kisline, organske kisline, sladkorje, druge hlapne spojine, aminokisline, reducirajoče sladkorje, skupni ekstrakt, etanol, glicerol, skupne fenole, FAN). Mlada vina iz 28 L fermentacijske prostornine smo pretočili iz usedline, jim na osnovi linije vezave SO<sub>2</sub> dodali ustrezno količino K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, tako da so vina vsebovala 50 mg/L prostega SO<sub>2</sub>. Po dveh mesecih zorenja pri konstantni temperaturi 8 °C smo ponovno opravili analize predhodno naštetih parametrov. Vina pred in po zorenju letnika 2005 smo tudi senzorično ocenili. S statistično obdelavo dobljenih rezultatov smo poskušali poiskati značilne razlike med fermentacijskimi poskusi in kemijskimi parametri.

Rezultati poskusa so potrdili nekatere hipoteze ter podali nekatere nove ugotovitve. Na osnovi parametrov šikimske kisline in aminokislin smo ugotovili podobnosti med mošči iz istega vinorodnega območja. Mošči letnikov 2004 in 2005 so se zelo razlikovali v vsebnosti jabolčne kisline, glavnega substrata MKB. Vsebnosti jabolčne kisline so bile v moštih letnika 2004 skoraj dvakrat večje kot v moštih letnika 2005. Razlike v kemijskih parametrih moštov različnih sort so vplivale na potek MKF in kemijsko sestavo vin. Vsebnosti jabolčne kisline v moštih različnih sort in letnikov so zelo vplivale na začetek, potek in trajanje MKF. V poskusu letnika 2004 je inducirana MKF trajala v povprečju sedem dni dlje kot v poskusu letnika 2005. Daljšo MLF smo pričakovali zaradi večje vsebnosti jabolčne kisline. Na osnovi različne količine razgrajene jabolčne kisline smo ugotovili nekatere razlike v kemijskih parametrih vin. Za kakovost vina najpomembnejši parametri so bili pH, skupne kisline, hlapne kisline, posamezne organske kisline (jabolčna, mlečna, citronska in vinska kislina), glukoza, fruktoza, glicerol, skupni ekstrakt, acetaldehid, etil acetat, etil laktat in diacetil. Inducirana MKF ni vplivala na vsebnost vinske kisline in glicerola, kar je bil znak neprisotnosti MKB kvarljivcev. Dokazali smo, da MKF ni vplivala na vsebnost šikimske kisline. Med potekom MKF smo opazili zmanjšanje vsebnosti treh organskih kislin v naslednjem časovnem zaporedju: jantarna, jabolčna in citronska kislina. V nasprotju s predvidevanji smo med induciranimi in spontanimi MKF opazili razgradnjo jantarne kisline, ki je bila v primerih zaključene MKF popolnoma porabljena. Med induciranimi vinifikacijami letnika 2004 so MKB popolnoma izkoristile citronsko kislino, kar pri letniku 2005 ni bilo pravilo. Navkljub temu, da so bile vsebnosti diacetila in etil laktata primerljive med letniki vin iste sorte z inducirano MKF, smo v vinih letnika 2004 določili večje vsebnosti acetaldehida. Vina z inducirano MKF so vsebovala manj acetaldehida v primerjavi z vini kontrolnih vinifikacij. Na vsebnost višjih alkoholov in preostalih hlapnih spojin sta bolj vplivala sorta in letnik kot čas dodatka in uporabljena starterska kultura MKB. V okviru uporabljenih dveh tržnih starterskih kultur MKB so bile opazne redke in manjše razlike v poteku MKF, predvsem v začetku in trajanju, k čemer je prispeval tudi letnik. V začetku in trajanju MKF med koinokulacijo in inokulacijo MKB so bile razlike vezane na sorto in letnik, torej na vsebnost jabolčne kisline in pH. Pri chardonnayu in malvaziji (toplejše vinogradniško območje), ki sta vsebovala manj jabolčne kisline in imela višji pH, sta bila hitrejši začetek in dokončanje MKF značilna za koinokulacijo MKB. Pri sauvignonu in laškem rizlingu (hladnejše vinogradniško območje), za katera je bila značilna večja vsebnost jabolčne kisline in nižji pH, med koinokulacijo in inokulacijo MKB nismo ugotovili značilnega vpliva. Hitrejši začetek tako pri induciranih kot spontanih MKF smo opazili pri letniku 2005 kot 2004, saj so bili pogoji za izvedbo MKF primernejši. Motnje v začetku in poteku MKF so bile značilne za sauvignon 2004 in laški rizling 2005. Z mikrobiološkimi preiskavami smo ugotovili majhne razlike med rastjo MKB pri koinokulacijah in inokulacijah MKB. Pri koinokulacijah MKB so bakterije v začetku rasle nekoliko počasneje, vendar smo določili največjo populacijo. Razlog je najverjetneje antagonizem kvasovk vrste *Saccharomyces bayanus*, ki v našem primeru ni bil zelo izrazit. Iz spremljanja dinamike rasti MKB smo ugotovili večji vpliv časa inokulacije, ne pa uporabljene starterske kulture MKB. V primerih spontanih MKF smo

določili primerljive populacije endogenih MKB kot pri uporabi starterskih kultur MKB, vendar je bila njihova rast pričakovano počasnejša. Ugotovili smo vpliv induciranih MKF na vsebnost in aminokislinsko sestavo vin. Po 1/3 poteka AF so se vsebnosti AK pričakovano zelo zmanjšale, vendar so se v nadaljevanju njihove vsebnosti povečale. Večje vsebnosti nekaterih posameznih AK pri določenih sortah smo določili v mladem vinu kot moštu. Mošt sauvignon letnika 2005 je izstopal po veliki vsebnosti arginina in majhni vsebnosti prolina. Med 21 AK z izjemo sorte laški rizling, smo pri preostalih treh sortah določili vsebnost lizina šele v mladih vinih. S spremljanjem oddanega CO<sub>2</sub> smo ugotovili manjši vpliv časa dodatka in uporabljene starterske kulture MKB ter večji vpliv sorte. Potek oddajanja CO<sub>2</sub> pri različnih vinifikacijah znotraj sorte je bil zelo podoben. Višja temperatura vinifikacije je pričakovano vplivala na hitrejši potek tako induciranih kot spontaninih MKF. V nasprotju s predvidevanji je MKF potekala hitreje v manjši fermentacijski prostornini. Vendar pa po dvomesečnem zorenju vin nismo dosegli pričakovane mikrobiološke stabilnosti vin zaradi nedokončane MKF, zlasti pri sortah sauvignon in laški rizling, navkljub žveplanju v količini, ki naj bi zagotovila zaustavitev MKF. To se je odrazilo tudi v senzoričnih ocenah zorenih vin, ki so bile nižje kot v mladih vinih. Rezultati dvoletnega poskusa na štirih belih sortah iz dveh klimatsko različnih pridelovalnih območij so potrdili kompleksnost MKF in njen velik vpliv na kakovost vina. Za vsa vina se je vodena MKF izkazala kot priporočljiv način izboljšanja kakovosti, vendar pa je bil njen doprinos k izboljšani kakovosti vin večji v vinih iz hladnejšega vinogradniškega področja.

## 6.2 SUMMARY

Malolactic fermentation (MLF) is a secondary fermentation in winemaking. Because of its positive and also negative effects, MLF is crucial for wine quality. MLF usually occurs spontaneously after the completion of alcoholic fermentation if the conditions are suitable. MLF is conducted by lactic acid bacteria (LAB) and *Oenococcus oeni*, the most desired and prevailing LAB starters. LAB of *Pediococcus* and *Lactobacillus* genera are not appropriate for MLF, as they are responsible for wine spoilage. The basic purpose of MLF is acidity reduction, which is highly recommended in wines with high acidity. That is why MLF occurs very often in wines from cooler winegrowing regions. Wines from warmer winegrowing regions have typically less acidity and/or high pH values. In the case of MLF occurrence, it can have negative effects on wine quality. Occurrence of MLF is connected to the cultivar and especially to the winegrowing region. Nowadays, induced MLF is more often used as a tool for improving the aromatic characteristics and the microbiological stability and not as a way to reduce acidity, also in wines from warmer climates. MLF reduces vegetative notes and improves the fruitiness of odor and taste. MLF is surely not only a way to reduce acidity, as it includes numerous and heterogeneous chemical reactions of many wine compounds, such as organic acids, sugars, polyols, aldehydes, ketones, glycosides, phenolic acids, esters, amino acids and amines. New trends in the vinification of red and also white wine include MLF as a manner of wine quality improvement, especially the aromatic profile and the microbiological stability. In some Slovenian wines, MLF occurs spontaneously if conditions are suitable. That is the reason for unstable wine quality between vintages. Markets also offer bottled wines, where MLF was completed or is still running, which is highly unsuitable for wine quality. The beginning, the course, the termination and the managing of induced MLF are much more predictable and controlled than in the case of spontaneous MLF. Only controlled and induced MLF is the ground for wine quality improvement.

In our experiment, we conducted induced MLF on two vintages of white Slovenian wines. Trials were carried out at the University of Ljubljana, the Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology. We decided on two cultivars, classical and local, from two winegrowing regions: Chardonnay and Malvasia from Primorska, Sauvignon and Welsh Riesling from Podravje. Grapes were produced by an integrated system of grape production in the vineyards of the wine cellars

Vinakoper and Ptujška klet vinarstvo. During the trial period, chemical, microbiological and sensorial parameters were periodically analyzed. The first analyses of grape musts were conducted. Microvinifications of individual cultivars of 2004 and 2005 vintages were carried out in 28 L stainless steel fermentation glass. Simultaneously, we performed the vinification of the 2004 vintage also in 500 mL fermentation flasks, where we observed the dynamics of released CO<sub>2</sub>. For cultivar Malvasia of both vintages, vinifications at two different temperatures, 20 and 14°C, were carried out. Vinification performance included coinoculation of grape must and inoculation of young wine after complete alcoholic fermentation with two commercial LAB starters, both *Oenococcus oeni* species. Vinifications of induced MLF were performed in comparison to controlled vinifications, with or without inoculation of a yeast starter. The course of MLF during the trial in 28 L fermentation volume was observed with regard to the kinetics of organic acids (tartaric, malic, lactic, citric, succinic and shikimic acid), sugars (glucose, fructose, sucrose), glycerol, pH value and volatile acids. The HPLC method for the determination of organic acids and sugars was modified. During the trial of the 2005 vintage, we observed also the kinetics of 21 free amino acids (Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, Ala, Tyr, Cys, Val, Met, Trp, Phe, Ile, Leu, Lys, Hyp, Pro). During the trial of the Malvasia 2004 vintage in 500 mL fermentation flasks, microbiological analyses on the number of LAB, yeasts and total microorganisms were conducted. During the vinifications of the 2005 vintage in 28 L fermentation volume, the kinetics of yeast and LAB growth were observed. After the complete fermentation, many chemical parameters in young wines were analyzed (pH value, titratable and total acidity, buffer capacity, volatile acids, organic acids, sugars, higher alcohols, volatile compounds, amino acids, reducing sugars, total extract, ethanol, glycerol, total phenols, FAN). Young wines were racked off from the lees. On the basis of SO<sub>2</sub> consumption trials, suitable amounts of K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> were added, so the level of free SO<sub>2</sub> was 50 mg/L. After two months of ageing at a constant temperature of 8°C, chemical parameters, as described above, were analyzed again. In the trial of the 2005 vintage, young and aged wines were sensorially analyzed. The results of our experiment were also statistically analyzed in order to look for typical differences between fermentation trials and chemical parameters.

The results of individual parameters confirmed some hypothesis and made some new ascertainties. On the basis of the concentrations of shikimic and amino acids of grape musts, similarities of grape musts from the same winegrowing regions were found. In grape musts of 2004 and 2005 vintages, important differences in the concentration of malic acid, the main substrat of LAB, were noticed. Concentrations of malic acid in grape musts of 2004 vintage were almost twice as high in comparison to grape musts of 2005 vintage. The different chemical composition of grape musts had an impact on the MLF course and on the chemical composition of wines of both vintages. The concentration of malic acid in grape musts of different vintages and cultivars had a great influence on the beginning, the course and the duration of MLF. MLF in the trial of the 2004 vintage lasted in average seven days longer than in the trial of the 2005 vintage. The longer duration of MLF was expected due to higher concentrations of malic acid. Due to different concentrations of degraded malic acid, a different chemical composition of wines was established. pH value, total and volatile acidity, organic acids (malic, lactic, citric and tartaric acid), glucose, fructose, total extracts, glycerol, acetaldehyde, ethyl acetate, ethyl lactate and diacetyl were the most important parameters for wine quality. Induced MLF had no impact on the concentrations of tartaric acid and glycerol and that confirmed the absence of spoiling LAB. We proved that MLF had no impact on the concentrations of shikimic acid. Observations of MLF kinetic revealed the degradation of three organic acids in the following time sequence: succinic, malic and citric acid. In contrast to our forecast, degradation of succinic acid was noticed during induced and spontaneous MLF. Complete degradation of succinic acid was confirmed in cases of complete MLF. Citric acid was completely degraded by LAB during the vinification of 2004 vintage, where as during vinifications of 2005 vintage it was not confirmed. In

spite of the fact that concentrations of diacetyl and ethyl lactate of induced MLF of the same cultivar in both vintages were comparable, the wines of vintage 2004 that we analyzed had higher concentrations of acetaldehyde. Wines with induced MLF had less acetaldehyde than wines of controlled vinifications. On the other hand, the concentration of higher alcohols and volatile compounds was more affected by cultivar and vintage than by inoculation time and used LAB starters. Due to different commercial LAB starters, rare and minor differences in the course of MLF were noticed, especially in the beginning and in the duration but also the vintage had a major impact. Differences in onset and duration of MLF between coinoculation and inoculation of LAB were connected with cultivar and vintage, therefore with the concentration of malic acid and the pH value. During the vinification of Chardonnay and Malvasia (from warmer winegrowing region), which had lower concentrations of malic acid and a higher pH value, a quicker onset and a shorter duration of MLF were characteristic of LAB coinoculation. During the vinification of Sauvignon and Welsh Riesling (from cooler winegrowing region), which had higher concentrations of malic acid and a lower pH value, no impact was noticed between coinoculation and inoculation of LAB. Because of more suitable MLF conditions, a quicker onset of induced as well as of spontaneous MLF were noticed for the trial of 2005 vintage in comparison to 2004. Interruptions in onset and course of induced MLF were noticed during vinification of Sauvignon, vintage 2004 and Welsh Riesling, vintage 2005. Microbiological analyses revealed small differences in LAB growth between coinoculation and inoculation of LAB. For the coinoculation of LAB, a slower growth of LAB was noticed at the beginning of MLF but then a higher LAB population was detected. Antagonism of yeast species *Saccharomyces bayanus* was the most probable reason, although it was not so distinctive. During the observation of LAB growth, it was established that inoculation time had a greater impact than the LAB starters used. In cases of spontaneous MLF, comparable populations of endogenous LAB, rather than LAB starters, were established but their growth was expectedly slower. The impact of induced MLF was shown also in the wine amino acid composition. After 1/3 of the alcoholic fermentation, concentrations of individual amino acids were expectedly reduced but were later on increased. Higher concentrations of individual amino acids were determined in young wines as in grape musts. Grape must of cultivar sauvignon of 2005 vintage was an exception because of a high concentration of arginine and a lower concentration of proline. Among 21 free amino acids, the presence of lysine was determined in young wines with the exception of the Welsh Riesling. Also in the case of released CO<sub>2</sub>, the impact of cultivar was more noticeable in comparison to the impact of time and LAB starters used. The kinetics of released CO<sub>2</sub> during vinifications of the same cultivar were very similar. The stimulative influence of a higher temperature on the course of induced and spontaneous MLF was confirmed. Contrary to our hypothesis, a quicker course of MLF was established in a smaller fermentation volume. But the expected microbiological stability of aged wines, after the concentration of free SO<sub>2</sub> in young wines was adjusted to 50 mg/L, was not achieved due to uncompleted MLF, especially at cultivars Sauvignon and Welsh Riesling. The unachieved microbiological stability was reflected in the sensorial evaluations, which were lower for aged wines in comparison to young ones. The results of two years of experiments, on four cultivars from two Slovenian winegrowing regions with different climates and of two vintages, confirmed MLF complexity and its great influence on wine quality. For the wine of all four cultivars of both vintages, induced MLF has proved a recommended method for wine quality improvement. But in wines from cooler winegrowing regions, the contribution of induced MLF was greater in comparison to the wines from warmer winegrowing regions.

## 7 VIRI

- Alexandre H., Costello P.J., Remize F., Guzzo J., Guilloux-Benatier M. 2004. *Saccharomyces cerevisiae* - *Oenococcus oeni* interactions in wine: current knowledge and perspectives. *International Journal of Food Microbiology*, 93: 141-154.
- Ardö Y. 2006. Flavour formation by amino acid catabolism. *Biotechnology Advances*, 24: 238-242.
- Arena M.E., de Nadra M.C.M. 2005. Influence of ethanol and low pH on arginine and citrulline metabolism in lactic acid bacteria from wine. *Research in Microbiology*, 156: 858-864.
- Arena M.E., Saguir F.M., de Nadra M.C.M. 1999. Arginine, citrulline and ornithine metabolism by lactic acid bacteria from wine. *International Journal of Food Microbiology*, 52: 155-161.
- Arnink K., Henick-Kling T. 2005. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* and *Oenococcus oeni* strains on successful malolactic conversion in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56: 228-237.
- Bae S., Fleet G.H., Heard G.M. 2004. Occurrence and significance of *Bacillus thuringiensis* on wine grapes. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 301-312.
- Barbagallo R.N., Spagna G., Palmeri R., Torriani S. 2003. Assessment of  $\beta$ -glucosidase activity in selected wild strains of *Oenococcus oeni* for malolactic fermentation. *Enzyme and Microbiological Technology*, 34: 292-296.
- Bartowsky E.J. 2005. *Oenococcus oeni* and malolactic fermentation - moving into the molecular arena. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11: 174-187.
- Bartowsky E.J., Francis I. L., Bellon J.R., Henschke P.A. 2002. Is buttery aroma preception in wines predictable from the diacetyl concentration? *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8: 180-185.
- Bartowsky E.J., Henschke P.A. 2004. The "buttery" attribute of wine-diacetyl-desirability, spoilage and beyond. *International Journal of Food Microbiology*, 96: 235-252.
- Bauer R., Dicks L.M.T. 2004. Control of malolactic fermentation in wine. A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 25: 74-88.
- Bauer R., Nel H.A., Dicks L.M.T. 2003. Pediocin PD-1 as a method to control growth of *Oenococcus oeni* in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54: 86-91.
- Bauer R., Volschenk H., Dicks L.M.T. 2005. Cloning and expression of the malolactic gene of *Pediococcus damnosus* NCFB1832 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 118: 353-362.
- Bauza T., Blaise A., Daumas F., Cabanis J.C. 1995. Determination of biogenic amines and their precursor amino acids in wines of the Vallée du Rhône by high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization and fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A*, 707: 373-379.
- Bordons A., Masqué M.C., Vidal M. 1998. Isolation and selection of malolactic bacteria and effect of pesticides. V: The management of malolactic fermentation and wine quality. *Les Entretiens Scientifiques Lallemand, Verona*, 16.-17.4.1998. Verona, Lallemand: 9-16.
- Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, Chapman&Hall: 604 str.

- Campos F.M., Couto J.A., Figueiredo A.R., Tóth I.V., Rangel A.O.S.S., Hogg T.A. 2005. Cell membrane damage induced by phenolic acids on wine lactic acid bacteria. *American Journal of Enology and Viticulture*, 65: 314A-315A.
- Carreté R., Vidal M.T., Bordons A., Constantí M. 2002. Inhibitory effect of sulfur dioxide and other stress compounds in wine on the ATPase activity of *Oenococcus oeni*. *FEMS Microbiology Letters*, 211: 155-159.
- Cavazza A., Vavassori G.L., Volonteri G. 1999. Impiego di colture di batteri lattici selezionati in vinificazione: inoculo diretto o riattivazione? *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 52: 41-52.
- Clarke R.J., Bakker J. 2004. *Wine flavour chemistry*. Oxford, Blackwell Publishing: 324 str.
- Comitini F., Ferretti R., Clementi F., Mannazzu I., Ciani M. 2005. Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and malolactic bacteria: preliminary characterization of a yeast proteinaceous compound(s) active against *Oenococcus oeni*. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 105-111.
- Compendium of international methods of analysis of wine and musts. 2006. Vol. 2., Ed. 2006, Paris, International Organisation of Vine and Wine. (2006).  
<http://www.oiv.int/> (march 2005): 321 str.
- Costello P.J., Henschke P.A., Markides A.J. 2003. Standardised methodology for testing malolactic bacteria and wine yeast compatibility. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 127-137.
- de Nadra M.C.M., Fariás M.E., Moreno-Arribas M.V., Pueyo E., Polo M.C. 1997. Proteolytic activity of *Leuconostoc oenos*. Effect on proteins and polypeptides from white wine. *FEMS Microbiology Letters*, 150: 135-139.
- de Nadra M.C.M., Fariás M.E., Pueyo E., Polo M.C. 2004. Protease activity of *Oenococcus oeni* viable cells on red wine nitrogenous macromolecular fraction in presence of SO<sub>2</sub> and ethanol. *Food Control*, 16: 851-854.
- de Orduña R.M., Liu S.-Q., Patchett M.L., Pilone G.J. 2000a. Ethyl carbamate precursor citrulline formation from arginine degradation by malolactic wine lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 183: 31-35.
- de Orduña R.M., Liu S.-Q., Patchett M.L., Pilone G.J. 2000b. Kinetics of the arginine metabolism of malolactic wine lactic acid bacteria *Lactobacillus buchneri* CUC-3 and *Oenococcus oeni* Lo111. *Journal of Applied Microbiology*, 89: 547-552.
- de Orduña R.M., Patchett M.L., Liu S.-Q., Pilone G.J. 2001. Growth and arginine metabolism on the wine lactic acid bacteria *Lactobacillus buchneri* and *Oenococcus oeni* at different pH values and arginine concentrations. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 1657-1662.
- de Revel G., Bloem A., Augustin M., Lonvaud-Funel A., Bertrand A. 2005. Interaction of *Oenococcus oeni* and oak wood compounds. *Food Microbiology*, 22: 569-575.
- de Revel G., Martin N., Pripis-Nicolau L., Lonvaud-Funel A., Bertrand A. 1999. Contribution to the knowledge of malolactic fermentation influence on wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4003-4008.
- Delaquis P., Cliff M., King M., Girard B., Hall J., Reynolds A. 2000. Effect of two commercial malolactic cultures on the chemical and sensory properties of Chancellor wines vinified with different yeasts and fermentation temperatures. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51: 42-48.

- Delfini C., Cersosimo M., del Perte V., Strano M., Gaetano G., Pagliara A., Ambrò S. 2004. Resistance screening assay of wine lactic acid bacteria on lysozyme: efficacy of lysozyme in unclarified grape musts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1861-1866.
- Dicks L.M.T., Dellaglio F., Collins M.D. 1995. Proposal to reclassify *Leuconostoc oenos* as *Oenococcus oeni* [corrig.] gen. nov., comb. nov.. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45: 395-397.
- Dicks L.M.T., Schoeman H., Vivier M.A., Pretorius I.S. 1998. Taxonomy of malolactic bacteria and biological control of spoilage micro-organisms in wine. V: The management of malolactic fermentation and wine quality. *Les Entretiens Scientifiques Lallemand, Verona*, 16.-17.4.1998. Verona, Lallemand: 9-16.
- D'Incecco N., Bartowsky E., Kassara S., Lante A., Spettoli P., Henschke P. 2004. Release of glycosidically bound flavour compounds of Chardonnay by *Oenococcus oeni* during malolactic fermentation. *Food Microbiology*, 21: 257-265.
- du Plessis H.W., Steger C.L.C., du Toit M., Lambrechts M.G. 2002. The occurrence of malolactic fermentation in brandy base wine and its influence on brandy quality. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 1005-1013.
- du Toit M. 2000. Biogenic amine production in wine. Stellenbosch, Stellenbosch University, Institute for Wine Biotechnology, Department of Viticulture and Oenology, (2000).  
[www.wynboer.co.za](http://www.wynboer.co.za) (februar 2006): 3 str.
- du Toit M., du Toit C., Krieling S., Pretorius I.S. 2002. Biopreservation of wine with antimicrobial peptides. *Bulletin de l' O.I.V.*, 75: 285-302.
- Fernández P.A.A., de Nadra M.C.M. 2006. Growth response and modifications of organic nitrogen compounds in pure and mixed cultures of lactic acid bacteria from wine. *Current Microbiology*, 52: 86-91.
- Fernández P.A.A., Saguir F.M., de Nadra M.C.M. 2004. Effect of dipeptides on the growth of *Oenococcus oeni* in synthetic medium deprived of amino acids. *Current Microbiology*, 49: 361-365.
- Fischerleitner E., Korntheuer K., Wendelin S., Eder R. 2005. Shikimisäure: ein neuer parameter zur Überprüfung der Authentizität verschiedener Rebsorten? V: ALVA Jubiläum - 60. Jahrestagung, Linz 23.-25. Mai 2005. Linz, Arbeitsgemeinschaft für Lebensmittel, Veterinär und Agrarwesen: 48-49.
- Flamini R., De Luca G., Di Stefano R. 2002. Changes in carbonyl compounds in Chardonnay and Cabernet sauvignon wines as a consequence of malolactic fermentation. *Vitis*, 41: 107-112.
- Flamini R., Vedova A.D. 2003. Glyoxal/glycolaldehyde: a redox system involved in malolactic fermentation of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2300-2303.
- Fleet G.H. 2002. *Wine microbiology and biotechnology*. London, Taylor & Francis: 289-326, 395-420.
- Fleet G.H. 2003. Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 86: 11-22.
- Fugelsang K.C. 1997. *Wine microbiology*. New York, Chapman & Hall: 3-47.
- G-Alegría E., López I., Ruiz J.I., Sáenz J., Fernández E., Zarazaga M., Dizy M., Torres C., Ruiz-Larrea F. 2004. High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol. *FEMS Microbiology Letters*, 230: 53-61.

- Gao Y. C., Zhang G., Krentz S., Darius S., Power J., Lagarde G. 2002. Inhibition of spoilage lactic acid bacteria by lysozyme during wine alcoholic fermentation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8: 76-83.
- Gao Y., Krentz S., Zhang G., Power J., Lagarde G. 2005. Efficacy of lysozyme in controlling histamine production by *Lactobacillus hilgardii* during winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56: 314a-315a.
- Gerbaux V., Villa A., Monamy C., Bertrand A. 1997. Use of lysozyme to inhibit malolactic fermentation and to stabilize wine after malolactic fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48: 49-54.
- Gockowiak H., Henschke P.A. 2003. Interaction of pH, ethanol concentration and wine matrix on induction of malolactic fermentation with commercial "direct inoculation" starter cultures. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 200-209.
- Granchi L., Ganucci D., Messini A., Vincenzini M. 2002. Oenological properties of *Hanseniaspora osmophila* and *Kloeckera corticis* from wines produced by spontaneous fermentations of normal and dried grapes. *FEMS Yeast Research*, 2: 403-407.
- Green G., Dicks L.M.T., Bruggeman G., Abdamme E.J., Chikindas M.L. 1997. Pediocin PD-1, a bacterial antimicrobial peptide from *Pediococcus damnosus* NCFB 1832. *Journal of Applied Microbiology*, 83: 127-132.
- Grimaldi A., Bartowsky E., Jiranek V. 2005a. Screening of *Lactobacillus* spp. and *Pediococcus* spp. for glycosidase activities that are important in oenology. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 1061-1069.
- Grimaldi A., Bartowsky E., Jiranek V. 2005b. A survey of glycosidase activities of commercial wine strains of *Oenococcus oeni*. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 233-244.
- Guerrini S., Mangani S., Granchi L., Vincenzini M. 2002a. Biogenic amine production by *Oenococcus oeni*. *Current Microbiology*, 44: 374-378.
- Guerrini S., Bastianini A., Granchi L., Vincenzini M. 2002b. Effect of oleic acid on *Oenococcus oeni* strains and malolactic fermentation in wine. *Current Microbiology*, 44: 5-9.
- Guilloux-Benatier M., Chassagne D. 2003. Comparison of components released by fermented or active dried yeasts after aging on lees in a model wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 746-751.
- Guilloux-Benatier M., le Fur Y., Feuillat M. 1998. Influence of fatty acids on the growth of wine microorganisms *Saccharomyces cerevisiae* and *Oenococcus oeni*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20: 144-149.
- Guzzo J., Jobin M.-P., Diviès C. 1998. Increase of sulfite tolerance in *Oenococcus oeni* by means of acidic adaptation. *FEMS Microbiology Letters*, 160: 43-47.
- Herbert P., Cabrita M.J., Ratola N., Laureano O., Alves A. 2005. Free amino acid and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage. *Journal of Food Engineering*, 66: 315-322.
- Herjavec S., Majdak A., Tupajić P., Redžepović S., Orlić S. 2003. Reduction in acidity by chemical and microbiological methods and their effect on Moslavac wine quality. *Food Technology and Biotechnology*, 41: 231-236.



- Herjavec S., Tupajić P. 1998. Changes in acidity, some aroma compounds and sensory properties of Frankovka wine after malolactic fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 36: 209-213.
- Hernández-Orte P., Ibarz M. J., Cacho J., Ferreira V. 2005a. Addition of amino acids to grape juice of the Merlot variety: effect on amino acid uptake and aroma generation during alcoholic fermentation. *Food Chemistry*, 98: 300-310.
- Hernández-Orte P., Ibarz M. J., Cacho J., Ferreira V. 2005b. Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine. *Food Chemistry*, 89: 163-174.
- Hernández-Orte P., Cacho J., Ferreira V. 2002. Relationship between varietal amino acid profile of grapes and wine aromatic composition. Experiments with model and wine aromatic composition. Experiments with model solutions and chemometric study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2801-2899.
- Hervé A., Costello P.J., Remize F., Guzzo J., Guilloux-Benatier M. 2004. *Saccharomyces cerevisiae-Oenococcus oeni* interactions in wine: current knowledge and perspectives. *International Journal of Food Microbiology*, 93: 141-154.
- Holbach B., Marx R., Zimmer M. 2001. Bedeutung der Shikimisäure und des Anthocyanpektrums für die Charakterisierung von Rebsorten. *Lebensmittelchemie*, 55: 32-34.
- Huang Y.-C., Edwards C.G., Peterson J.C., Haag K.M. 1996. Relationship between sluggish fermentations and the antagonism of yeast by lactic acid bacteria. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 1-10.
- Husnik J.I., Volschenk H., Bauer J., Colavizza D., Luo Z., van Vuuren H.J.J. 2006. Metabolic engineering of malolactic wine yeast. *Metabolic Engineering*, 8: 315-323.
- Ibarz M.J., Ferreira V., Hernández-Orte P., Loscos N., Cacho J. 2006. Optimization and evaluation of a procedure for the gas chromatographic-mass spectrometric analysis of the aromas generated by fast acid hydrolysis of flavor precursors extracted from grapes. *Journal of Chromatography A*, 1116: 217-229.
- Ilenderson J.W., Ricker R.D., Bidlingmeyer B.A. 2000. Rapid, accurate, sensitive and reproducible HPLC analysis of amino acids. Amino acid analysis using Zorbax Eclipse-AAA columns and the Agilent 1100 HPLC. Palo Alto, Agilent Technologies: 10 str.
- Jackson R.S. 2000. *Wine science: principles, practice, perception*. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego, Academic Press: 648 str.
- Jussier D., Morneau A.D., de Orduña R.M. 2006. Effect of simultaneous inoculation with yeasts and bacteria on fermentation kinetics and key wine parameters of cool-climate Chardonnay. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 221-227.
- Klein H., Leubolt R. 1993. Ion-exchange high-performance liquid chromatography in the brewing industry. *Journal of Chromatography A*. 650: 259-270.
- Koch A.L. 1994. Growth measurement. V: Methods for general and molecular bacteriology. Gerhardt P. (ed.). Washington, American Society for Microbiology: 248-277.
- Kodama S., Suzuki T., Fujinawa S., de la Teja P., Yotsuzuka F. 1994. Urea contribution to ethyl carbamate formation in commercial wines during storage. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45: 17-24.

- Kordiš Krapež M., Abram V., Kač M., Ferjančič S. 2001. Determination of organic acids in white wines by RP-HPLC. *Food Technology and Biotechnology*, 39: 93-99.
- Košmerl T., Vrščaj Vodošek T., Wondra M. 2006. Malolactic fermentation. Bericht ALVA-Jahrestagung 2006. "Tierische Lebensmittel im Spannungsfeld zwischen Genuss, Gesundheit und Risiko": Wien, 22.-23. Mai 2006, V: Bindner S. (ed.). Wien: Arbeitsgemeinschaft für Lebensmittel- Veterinär- und Agrarwesen, 36-37.
- Košmerl T., Kač M. 2004. Osnovne kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 2. izd. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.
- Košmerl T., Bavčar D. 2003. Malolactic fermentation of Slovenian white wines. *Viticulture & wine: symposium proceedings: I. Balkan and III. Macedonian symposium for vine growing and winemaking: Skopje, 26.-28. november 2003*, V: Petkov M. (ed.), Skopje: Ss. Cyril and Methodius University, Faculty of Agriculture, Department for Viticulture and Enology; [S.I.]: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ): 148-154.
- Košmerl T. 1999. Reološke lastnosti vina. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 121 str.
- Košmerl T., Kordiš Krapež M. 1996. Aromatične snovi v vinu. V: Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). 1. Slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo, Bled, 21.-25. april 1996. Ljubljana: Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: L 18-08.
- Larsen J.T., Nielsen J.-C., Kramp B., Richelieu M., Bjerring P., Riisager M.J., Arneborg N., Edwards C.G. 2003. Impact of different strains of *Saccharomyces cerevisiae* on malolactic fermentation by *Oenococcus oeni*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54: 246-251.
- Lehninger A.L., Nelson D.L., Cox M.M. 1993. Principles of biochemistry. 2<sup>nd</sup> ed. New York, Worth publishers: 359-597.
- Leitão M.C., Tixeira H.C., Crespo M.T.B., San Romão M.V. 2000. Biogenic amines occurrence in wine. Amino acid decarboxylase and proteolytic activities expression by *Oenococcus oeni*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 2780-2784.
- Liu S.-Q. 2002. Malolactic fermentation in wine - beyond deacidification. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 589-601.
- Liu S.-Q., Pilone G.J. 1998. Arginine metabolism in wine lactic acid bacteria and its practical significance. *Journal of Applied Microbiology*, 84: 315-327.
- Lonvaud-Funel A. 2001a. Biogenic amines in wines: role of lactic acids bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 199: 9-13.
- Lonvaud-Funel A. 2001b. Interactions between lactic acid bacteria of wine and phenolic compounds. V: Nutritional aspects II, Synergy between yeasts and bacteria. Les Entretiens Scientifiques Lallemand, Perugia, 27.-30.4.2001. Perugia, Lallemand: 27-32.
- Lonvaud-Funel A., 1999. Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 76: 317-331.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Billot J. 1990. Fruit phenolics. Boca Raton, CRC Press: 378 str.
- Maicas S., Gil J.-V., Pardo I., Ferrer S. 1999. Improvement of volatile composition of wines by controlled addition of malolactic bacteria. *Food Research International*, 32: 49-496.

- Mangani S., Guerrini S., Granchi L., Vincenzini M. 2005. Putrescine accumulation in wine: role of *Oenococcus oeni*. *Current Microbiology*, 51: 6-10.
- Mardones C., Hitschfeld A., Contreras A., Lepe K., Gutiérrez L., von Baer D. 2005. Comparison of shikimic acid determination by capillary zone electrophoresis with direct and indirect detection with liquid chromatography for varietal differentiation of red wines. *Journal of Chromatography A*, 1085: 285-292.
- Martín-Alvarez P.J., Marcobal A., Polo C., Moreno-Arribas M.V. 2006. Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. *European Food and Research Technology*, 222: 420-424.
- Martineau B., Henick-Kling T., Acree T.E. 1995a. Reassessment of the influence of malolactic fermentation on the concentration of diacetyl in wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46: 385-388.
- Martineau B., Acree T.E., Henick-Kling T. 1995b. Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Research International*, 28: 139-143.
- Martineau B., Henick-Kling T. 1995c. Formation and degradation of diacetyl in wine during alcoholic fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* strain EC1118 and malolactic fermentation with *Leuconostoc oenoc* strain MCW. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46: 442-448.
- Moreno-Arribas M.V., Polo M.C. 2005. Winemaking biochemistry and microbiology: current knowledge and future trends. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 265-286.
- Moreno-Arribas M.V., Polo M.C., Jorganes F., Muñoz R. 2003. Screening biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. *International Journal of Food Microbiology*, 84: 117-123.
- Morneau A.D., de Orduña R.M. 2005. Reduction of wine acetaldehyde levels by lactic acid bacteria. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56: 297a-298a.
- Muhar S.U., Košmerl T. 2005. The influence of malolactic fermentation on improved quality of Malvasia wine. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 58, 2/4: 109-117.
- Muhar S.U. 2005. Vpliv različnih enoloških sredstev na izboljšanje kakovosti in stabilnosti kraških vin. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 94 str.
- Nel H.A., Bauer R., Wolfaardt G.M., Dicks L.M.T. 2002. Effect of bacteriocins pediocin PD-1, plantaricin 423 and nisin on biofilms of *Oenococcus oeni* on a stainless steel surface. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 191-196.
- Nielsen J.C., Richelieu M. 1999. Control of flavor development in wine during and after malolactic fermentation by *Oenococcus oeni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 740-745.
- Osborne J.P., de Orduña R.M., Pilone G.J., Lui S.-Q. 2000. Acetaldehyde metabolism by wine lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 191: 51-55.
- Pasteris S.E., de Saad A.M.S. 2005. Aerobic glycerol catabolism by *Pediococcus pentosaceus* isolated from wine. *Food Microbiology*, 22: 399-407.
- Patynowski R.J., Jiranek V., Markides A.J. 2002. Yeast viability during fermentation and *sur lie* ageing of a defined medium and subsequent growth of *Oenococcus oeni*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8: 62-69.
- Pozo-Bayón M.A., Alegría E.G., Polo M.C., Tenorio C., Martín-Alvarez P.J., Calvo de la Banda M.T., Riuz-Larrea F., Moreno-Arribas M.V. 2005. Wine volatile and amino acid composition after

malolactic fermentation: effect of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* starter culture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8729-8735.

- Pravilnik o integrirani pridelavi grozdja in vina. 2002. Uradni list Republike Slovenije, 12, 63: 6733-6739.
- Pravilnik o postopku in načinu ocenjevanja mošta, vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina. 2000. Uradni list Republike Slovenije, 10, 32: 3857-3862.
- Pravilnik o spremembah in dopolnitvah pravilnika o postopku in načinu ocenjevanja mošta, vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina. 2001. Uradni list Republike Slovenije, 11, 99: 10140-10140.
- Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za predelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43: 5336-5358.
- Pripis-Nicolau L., de Revel G., Bertrand A., Lonvaud-Funel A. 2004. Methionine catabolism and production of volatile sulphur compounds by *Oenococcus oeni*. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 1176-1184.
- Pripis-Nicolau L., de Revel G., Bertrand A., Maujean A. 2000. Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3761-3766.
- Rauhut D., Jungwirth S., Krieger S., Grossmann M. 2001. Influence of the time of inoculation on the malolactic fermentation and the interactions between yeasts and bacteria. V: Nutritional aspects II, Synergy between yeasts and bacteria. *Les Entretiens Scientifiques Lallemand, Perugia*, 27.-30.4.2001. Perugia, Lallemand: 39-47.
- Reguant C., Bordons A., Arola L., Rozès N. 2000. Influence of phenolic compounds on the physiology of *Oenococcus oeni* from wine. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 1065-1071.
- Reguant C., Carreté R., Constantí M., Bordons A. 2005a. Population dynamics of *Oenococcus oeni* strains in a new winery and the effect of SO<sub>2</sub> and yeast strain. *FEMS Microbiology Letters*, 246: 111-117.
- Reguant C., Carreté R., Ferrer N., Bordons A. 2005b. Molecular analysis of *Oenococcus oeni* population dynamics and the effect of aeration and temperature during alcoholic fermentation on malolactic fermentation. *International Journal of Food Science and Technology*, 40: 451-459.
- Remize F., Augagneur Y., Guilloux-Benatier M., Guzzo J. 2005. Effect of nitrogen limitation and nature of the feed upon *Oenococcus oeni* metabolism and extracellular protein production. *Journal of Applied Microbiology*. 98: 652-661.
- Renouf V., Claisse O., Lonvaud-Funel A. 2005. Understanding the microbial ecosystem on the grape berry surface through numeration and identification of yeast and bacteria. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11: 316-327.
- Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A. 2000. Handbook of enology. Vol. 1. The microbiology of wine and vinifications. Chichester, John Wiley&Sons: 404 str.
- Romano P., Granchi L., Caruso M., Borra G., Palla G., Fiore C., Ganucci D., Caligiani A., Brandolini V. 2003. The species-specific ratios of 2,3-butanediol and acetoin isomers as a tool to evaluate wine yeast performance. *International Journal of Food Microbiology*, 86: 163-168.

- Romano P., Suzzi G. 2002. Acetoin production in *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast. FEMS Microbiology Letters, 108: 23-26.
- Romano P., Palla G., Caligiani A., Brandolini V., Maietti A., Salzano G. 2000. Evaluation of stereoisomers of 2,3-butanediol and acetoin to differentiate *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata* wine strains. Biotechnology Letters, 22: 1947-1951.
- Rosi J., Fia G., Canuti V. 2003. Influence of different pH values and inoculation time on the growth and malolactic activity of a strain of *Oenococcus oeni*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 9: 194-199.
- Rozés N., Arola L., Bordons A. 2003. Effect of phenolic compounds on the co-metabolism of citric acid and sugars by *Oenococcus oeni* from wine. Letters in Applied Microbiology, 36: 337-341.
- Ruediger G., Pardon K.H., Sas A.N., Godden P.W., Pollnitz A.P. 2005. Fate of pesticides during winemaking process in relation to malolactic fermentation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 3023-3026.
- Saguir F.M., de Nadra M.C.M. 2002. Effect of L-malic and citric acids metabolism on the essential amino acid requirements for *Oenococcus oeni* growth. Journal of Applied Microbiology, 93: 295-301.
- Selli S., Canbas A., Cabaroglu T., Erten H., Lepoutre J.-P., Gunata Z. 2006. Effect of skin contact on the free and bound aroma compounds of the white wine of *Vitis vinifera* L. cv. Narince. Food Control, 17: 75-82.
- Singleton P., Sainsbury D. 1993. Dictionary of microbiology and molecular biology. 2<sup>nd</sup> ed. Trowbridge, John Wiley & Sons: 1019.
- SIST ISO 4833, 2003. Mikrobiologija živil in krme - Horizontalna metoda za ugotavljanje števila mikroorganizmov - Tehnika štetja kolonij pri 30 °C: 9 str.
- Soufleros E.H., Bouloumpasi E., Tsarchopoulos C., Biliaderis C.G. 2003. Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage. Food Chemistry, 80: 261-273.
- Swiegers J.H., Bartowsky E.J., Henschke P.A., Pretorius I.S. 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. Australian Journal of Grape and Wine research, 11: 139-173.
- Taillandier P., Tataridis P., Strehaiano P. 2002. A quantitative study of antagonism between *Saccharomyces cerevisiae* and *Oenococcus oeni*. V: Yeast-bacteria interactions. Lallemand technical meetings, Biarritz, 20.-23.4.2002. Biarritz, Lallemand: 21-26.
- The microscopy facility. 2006. Logan, Utah State University. (2006). <http://bioweb.usu.edu/microscopy/> (junij 2006): 1 str.
- The R Project for Statistical Computing. 2006. Wien, Wirtschaftsuniversität Wien, Department of Statistics and Mathematics. (2006). [www.r-project.org](http://www.r-project.org) (marec 2006): 2882 str.
- Torrea D., Ancín C. 2002. Content of biogenic amines in a Chardonnay wine obtained through spontaneous and inoculated fermentations. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 4895-4899.
- Ugliano M., Genovese A., Moio L. 2003. Hydrolysis of wine aroma precursors during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51: 5073-5078.

- Ugliano M., Moio L. 2005. Changes in the concentration of yeast-derived volatile compounds of red wine during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 10134-10139.
- Uhan S. 2005. Določanje prostih aminokislin v vinih. Diplomsko delo. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerzitetni študijski program Biokemija: 43 str.
- Uthurry C.A., Suárez Lepe J.A., Lombardero J., García Del Hierro J.R. 2006. Ethyl carbamate production by selected yeasts and lactic acid bacteria in red wine. *Food Chemistry*, 94: 262-270.
- Versari A., Parpinello G.P., Cattaneo M. 1999. *Leuconostoc oenos* and malolactic fermentation in wine: a review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 23: 447-455.
- Vivas N., Lonvaud-Funek, Glories Y. 1997. Effect of phenolic acids and anthocyanins on growth, viability and malolactic activity of a lactic acid bacterium. *Food Microbiology*, 14: 291-300.
- Vrščaj Vodošek T., Košmerl T., Kralj Cigić I., Strlič M. 2006. Determination of free amino acids in Slovenian white wines during malolactic fermentation by HPLC coupled with DAD detection. Book of abstracts: 12th International Symposium on Separation Sciences: Lipica, 27.-29. september 2006, V: Strlič M. (ur.), Buchberger W. (ur.), Ljubljana: Slovensko kemijsko društvo, 2006, 286-287.
- Vrščaj Vodošek T., Košmerl T. 2006. Determination of shikimic acid in Slovenian white musts and young wines by HPLC coupled with UV-VIS detection. Book of abstracts: 12th International Symposium on Separation Sciences: Lipica, 27.-29. september 2006, V: Strlič M. (ur.), Buchberger W. (ur.), Ljubljana: Slovensko kemijsko društvo, 2006, 284-285.
- Vrščaj T. 2004. Vpliv načina vinifikacije na vsebnost dušikovih spojin v vinih malvazija in chardonnay. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 36-80.
- Vrščaj T., Hribar J., Golob T., Košmerl T. 2005. The impact of vinification method on contents of free amino nitrogen and proline in Malvasia wines. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 58, 2/4: 118-130.
- Wondra M. 1996. Odvisnost aromatičnih snovi vina od različnih sevov *Saccharomyces cerevisiae*. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 40-47.
- Wondra M., Berovič M. 2001. Analyses of aroma components of Chardonnay wine fermented by different yeast strains. *Food Technology and Biotechnology*, 39: 141-148.
- Yurdugül S., Bozoglu F. 2002. Studies on an inhibitor produced by lactic acid bacteria of wines on the control of malolactic fermentation. *European Food and Research Technology*, 215: 38-41.
- Zapparoli G., Torriani S., Malacrinò P., Suzzi G., Dellaglio F. 2003. Interactions between *Saccharomyces* and *Oenococcus oeni* strains from Amarone wine affect malolactic fermentation and wine composition. *Vitis*, 42: 107-108.
- Zhang D., Lovitt R. W. 2005. Studies of growth and metabolism of *Oenococcus oeni* on sugars and sugar mixtures. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 565-572.
- Zhang D., Lovitt R.W. 2006. Performance assessment of malolactic fermenting bacteria *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus brevis* in continuous culture. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 69: 658-664.
- Zoecklein B.W., Fugelsang K.C., Gump B.H, Nury F.S. 1995. Wine analysis and production. New York, Chapman&Hall: 621 str.

## ZAHVALA

Predsedniku uprave Vinakoper d.o.o. Neviju Pucerju in dekanu Biotehniške fakultete prof. dr. Janezu Hribarju se zahvaljujem za podporo in za pomoč v času doktorskega usposabljanja.

Doc. dr. Tatjani Košmerl se zahvaljujem za mentorstvo in za vso pomoč pri nastanku doktorske disertacije. Njeni napotki pri izvedbi celotnega dela in kritični pregled doktorske disertacije so bili nepogrešljivi.

Zahvala sometorici doc. dr. Barbari Jeršek za podroben pregled doktorske disertacije.

Doc. dr. Matiji Strliču se zahvaljujem za pomoč in za vodenje pri analizi aminokislin ter za pregled doktorske disertacije. Zahvala tudi dr. Ireni Kralj Cigić pri izvedbi analize aminokislin ter Tanji Trafela za pomoč pri statistični obdelavi rezultatov.

Prof. dr. Stanki Herjavec se zahvaljujem za pregled doktorske disertacije.

Doc. dr. Mojmiru Wondri in Zdenki Zupančič se zahvaljujem za podporo in za pomoč v laboratoriju. Mag. Miri Kordiš-Krapež hvala za nasvete pri HPLC analizah.

Sodelavcem v Vinakoper d.o.o. Zdenki, Mirandi, Darku in Jadranu se zahvaljujem za vso pomoč in za podporo. Enologu Bojanu Kobalu iz Ptujске kleti vinarstvo d.o.o. pa se zahvaljujem za mošt.

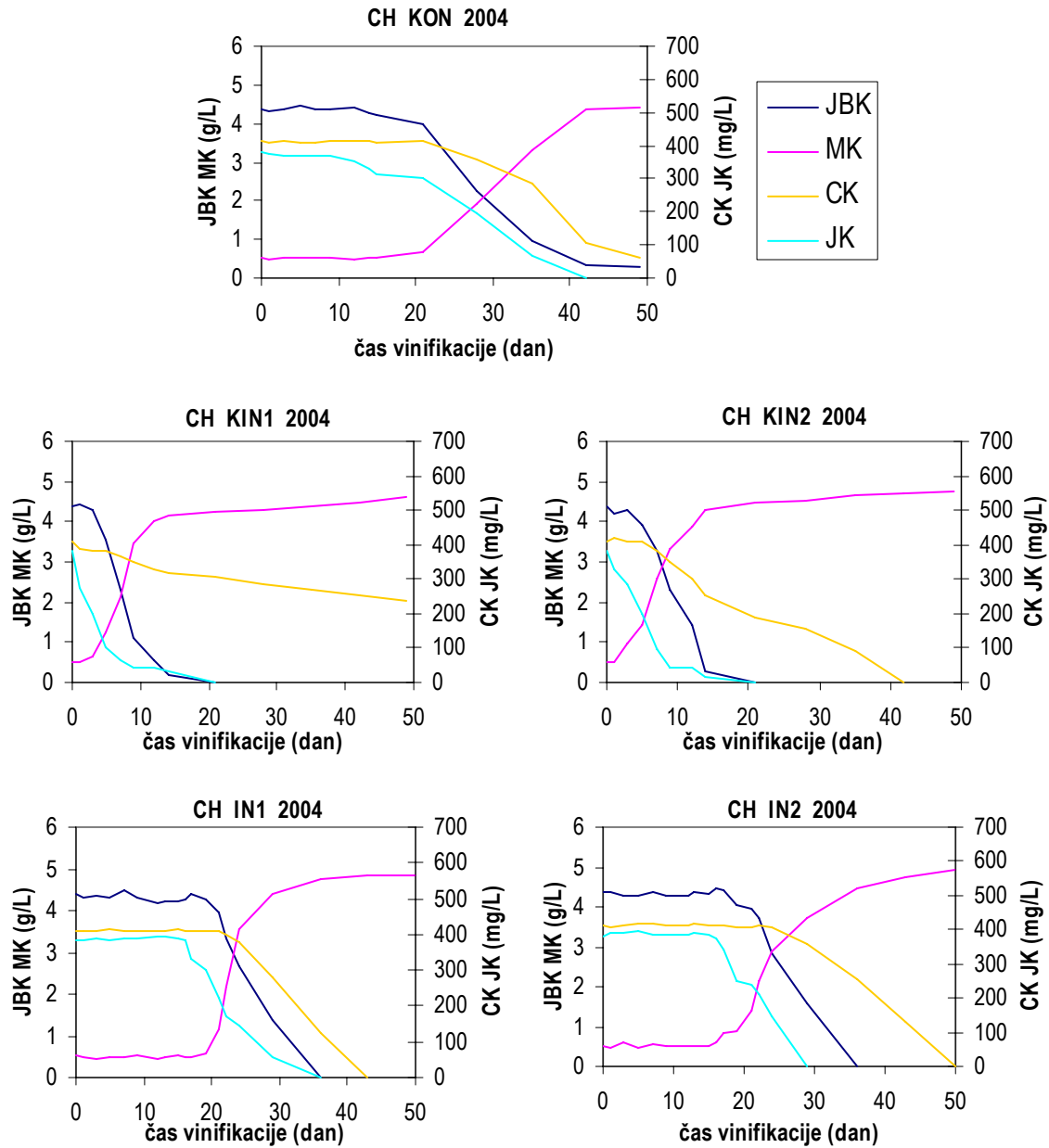
Zahvaljujem se tudi vsem zaposlenim na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete, ki so mi pomagali pri nastanku doktorske disertacije. Še posebej hvala doc. dr. Lei Gašperlin za pomoč pri statistični obdelavi rezultatov, doc. dr. Rajku Vidrihu za nasvete pri HPLC in GC analizah, Jani Avbelj za napotke pri izvajanju mikrobioloških analiz, Ivici Hočevar in Barbari Slemenik za pomoč pri iskanju in urejanju literature. Polona, Marija, Marinka, Tomaž in Tomaž, hvala vam za vse.

Zahvala mami in prijateljem Branki, Milojki in Dušanu, Karmen in Orjanu, Borutu, Nadi in Nevi, ki so spremljali moje delo ter me na moji poti podpirali in bodrili.

Jani, hvala ti za neomejeno podporo, razumevanje, odrekanje in pomoč. Bil si nepogrešljiv tako v slabih kot dobrih trenutkih. Prepričana sem, da bi bila moja pot brez tebe veliko težja in daljša.

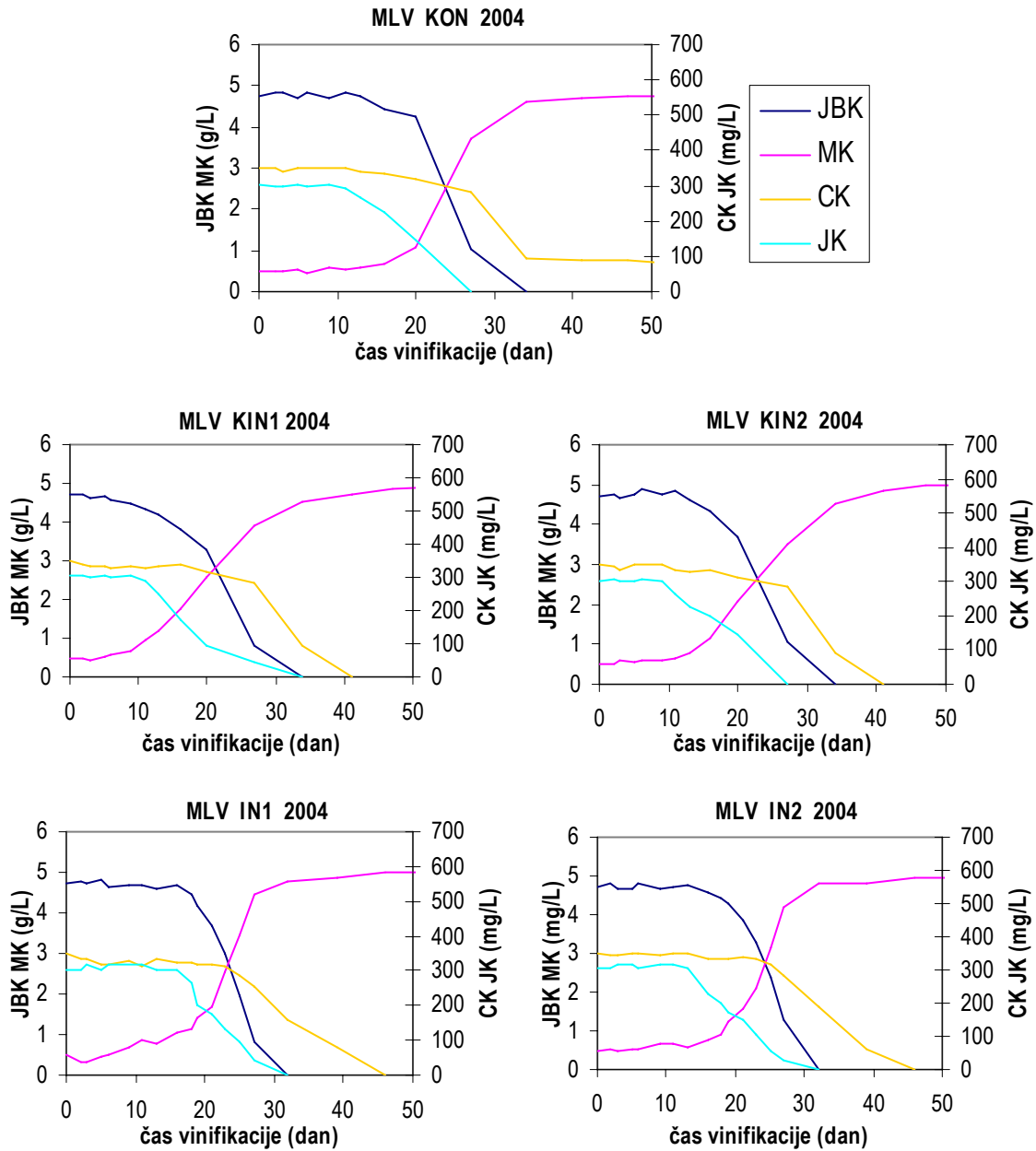
## PRILOGE

Priloga A1: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini

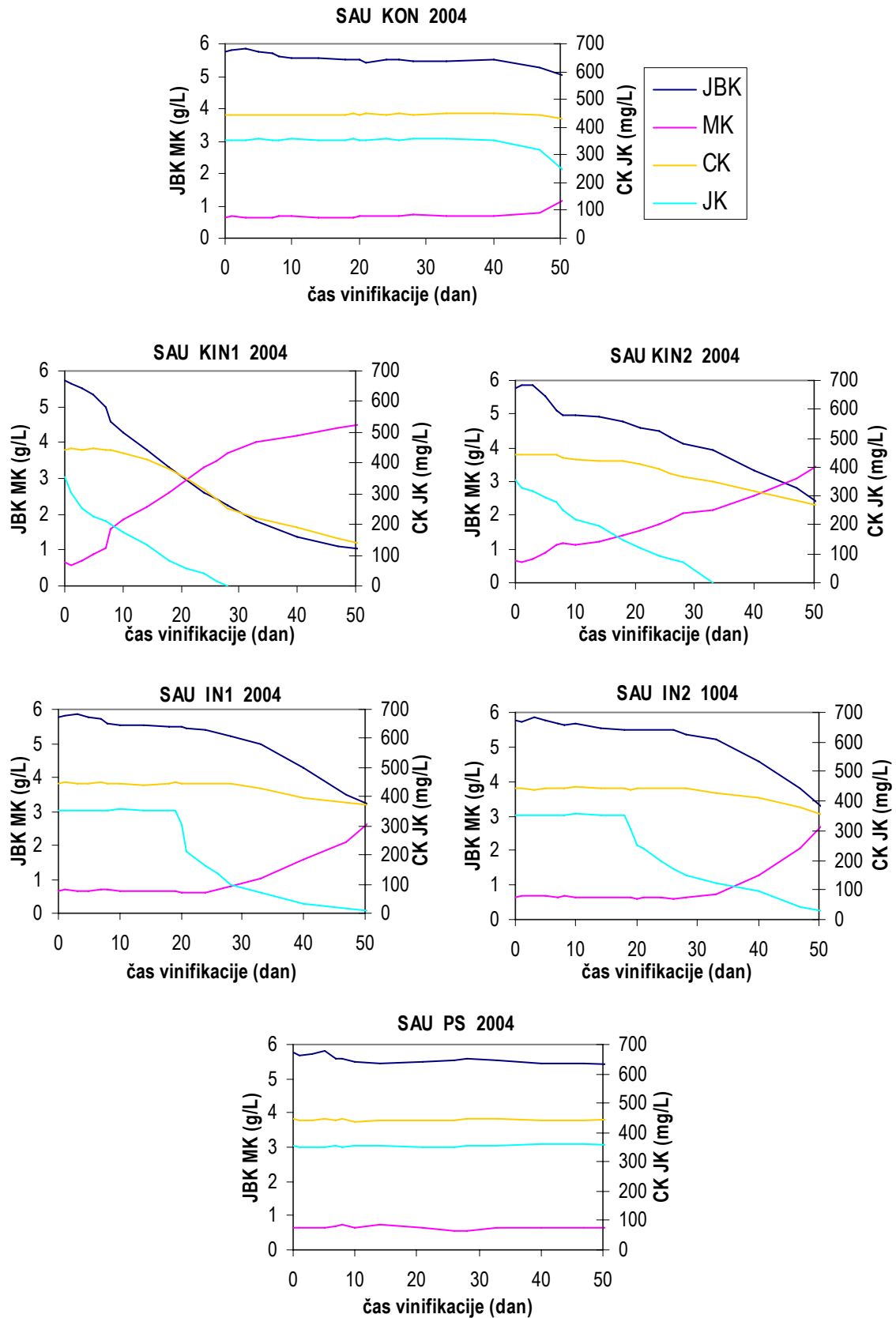




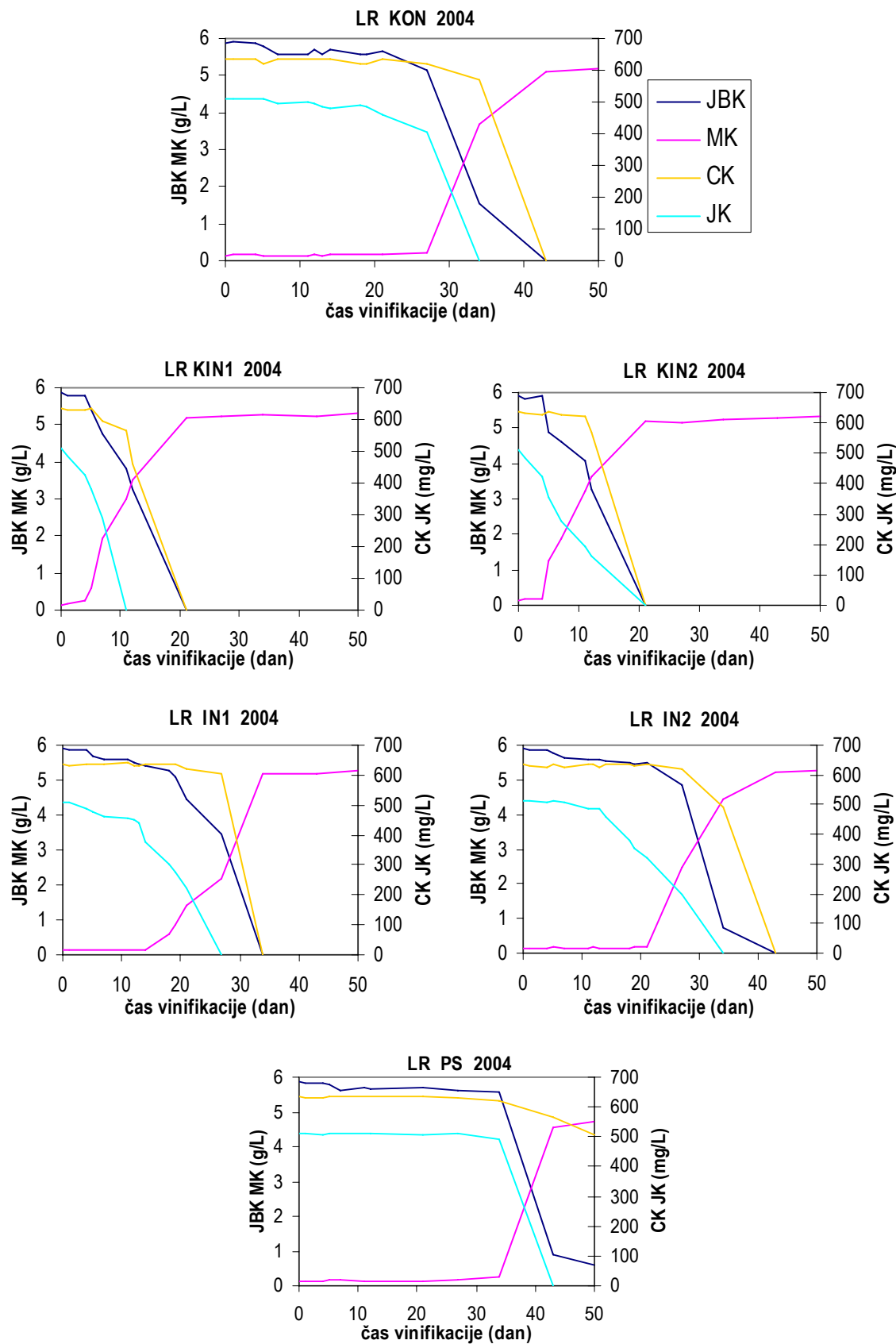
Priloga A2: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini



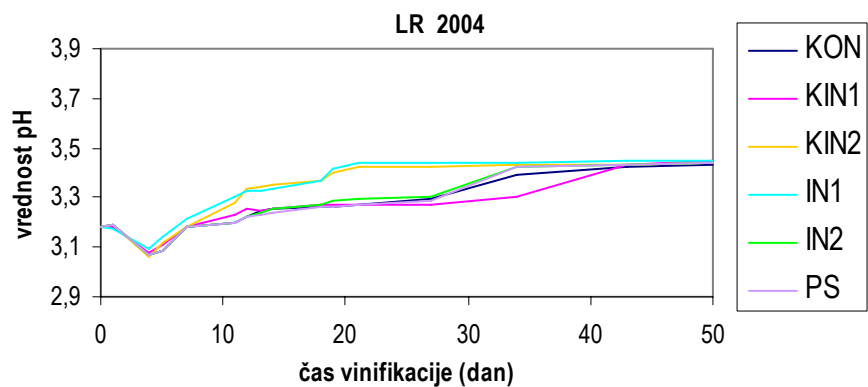
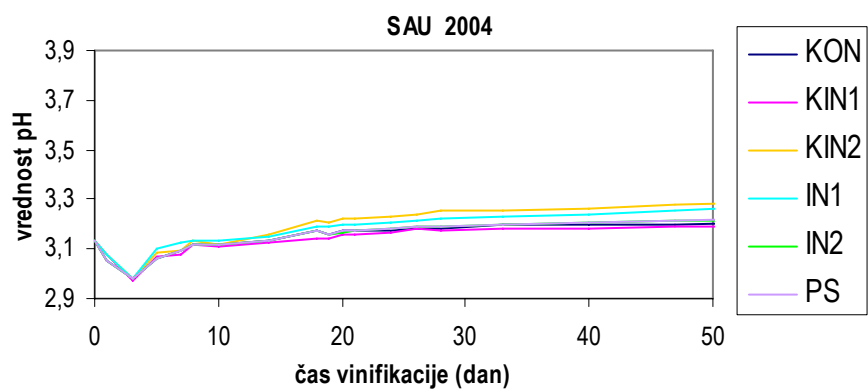
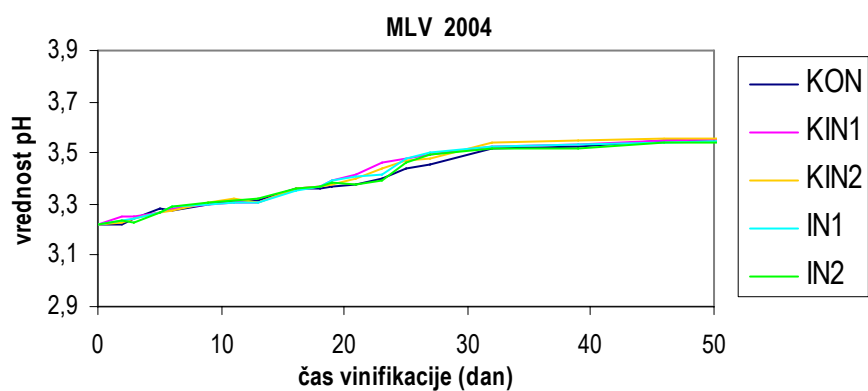
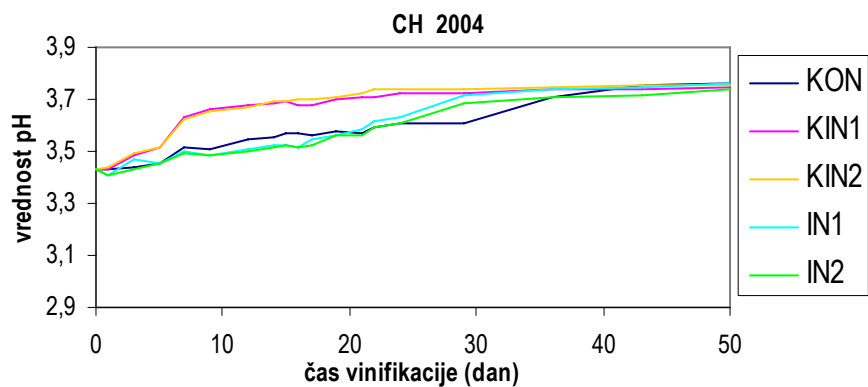
Priloga A3: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini



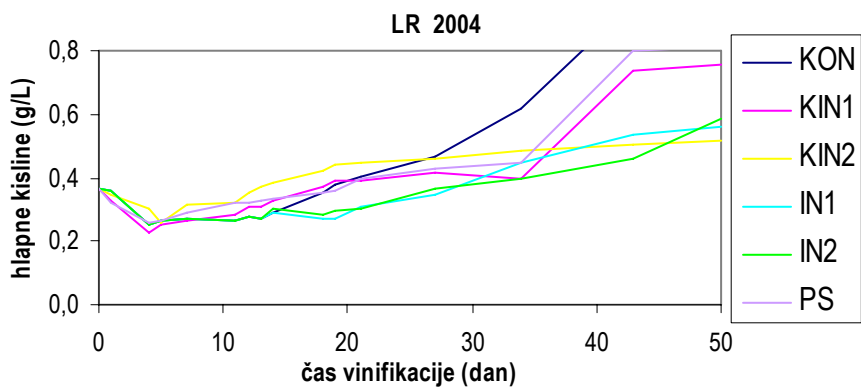
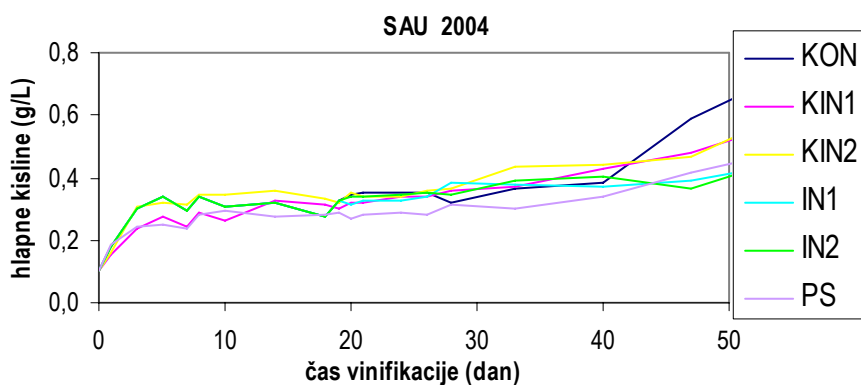
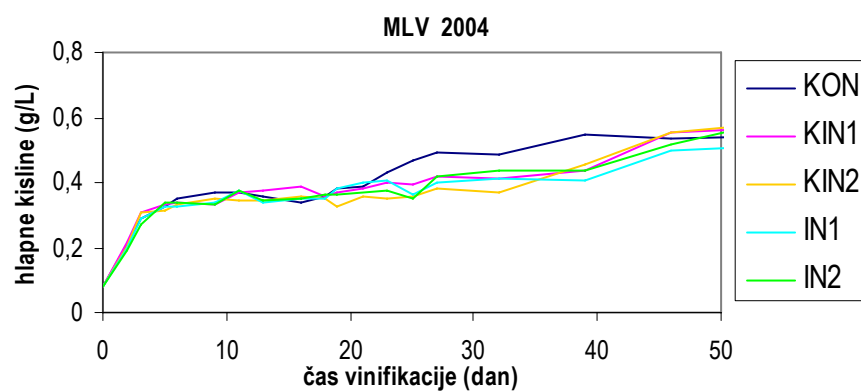
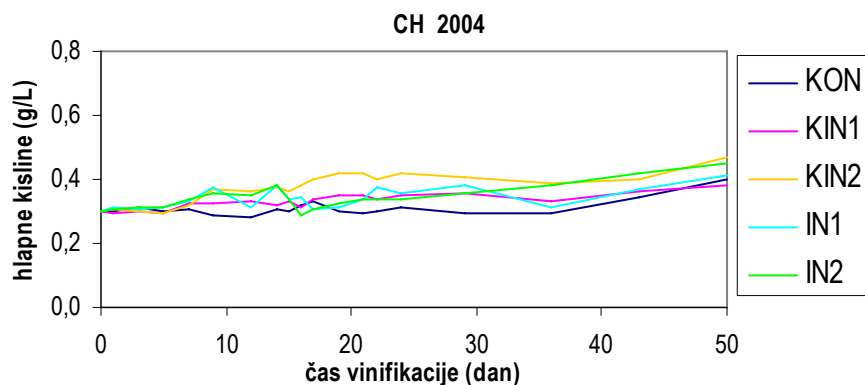
Priloga A4: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini



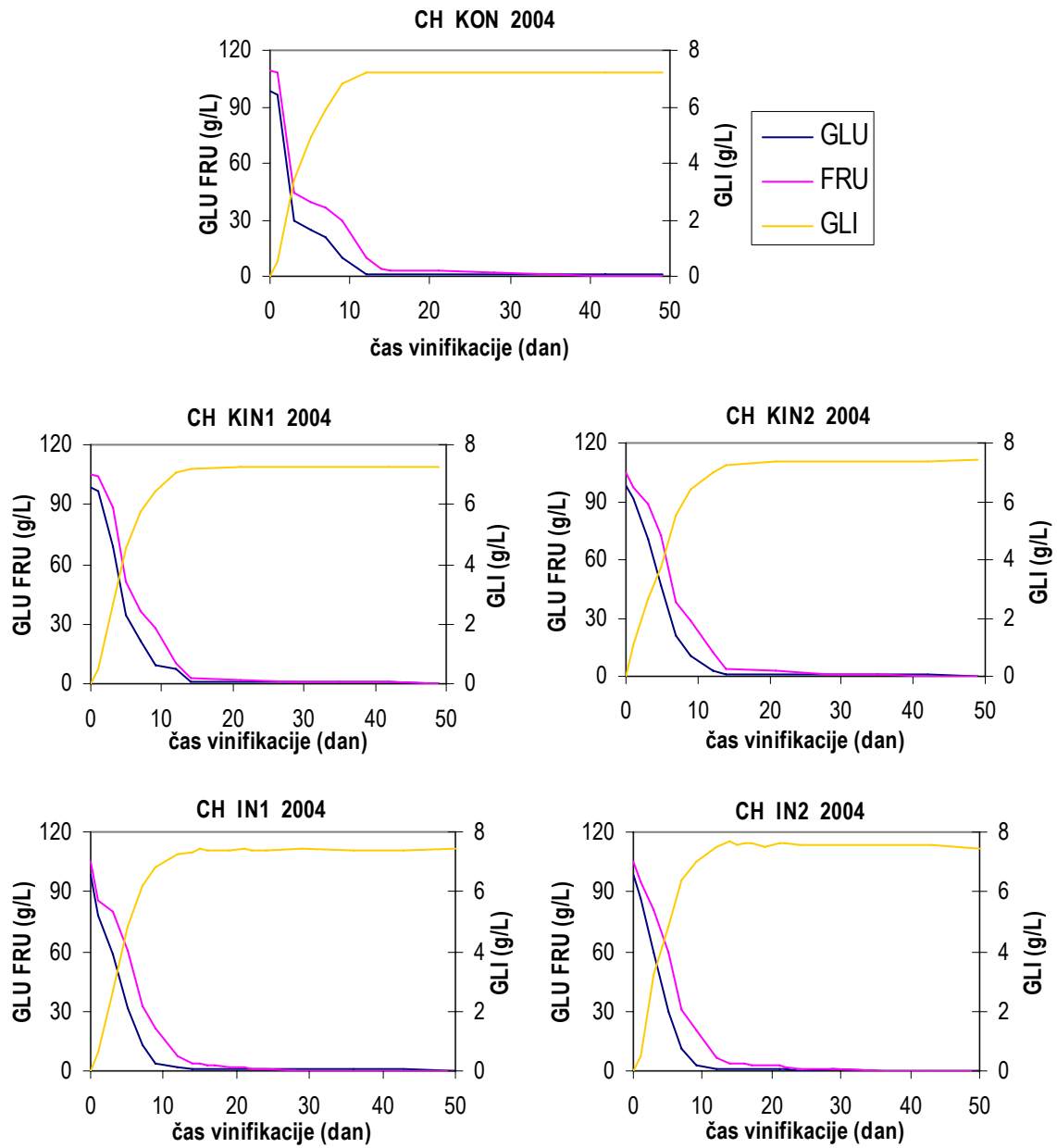
Priloga A5: Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2004  
v 28 L fermentacijski prostornini



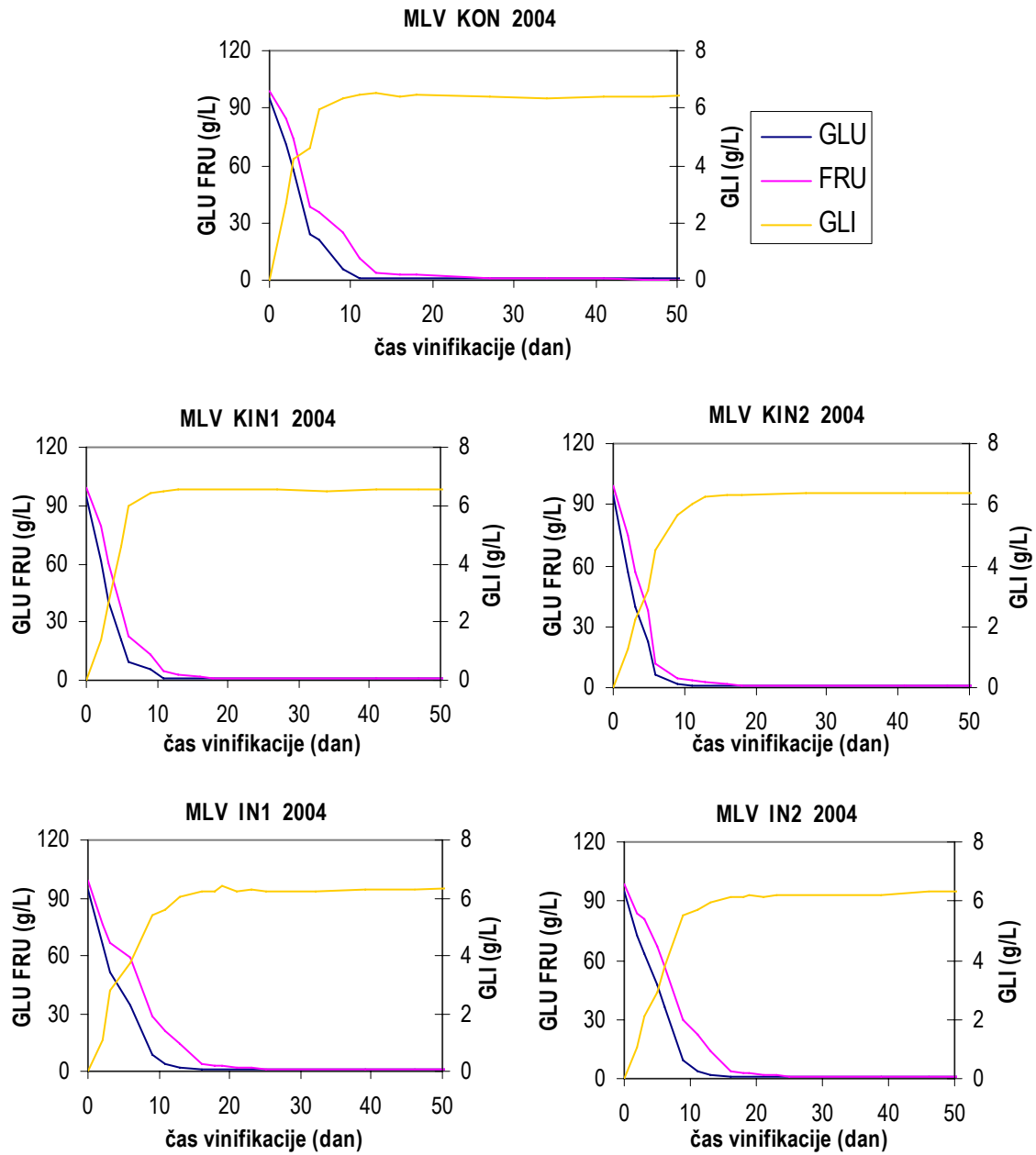
Priloga A6: Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini



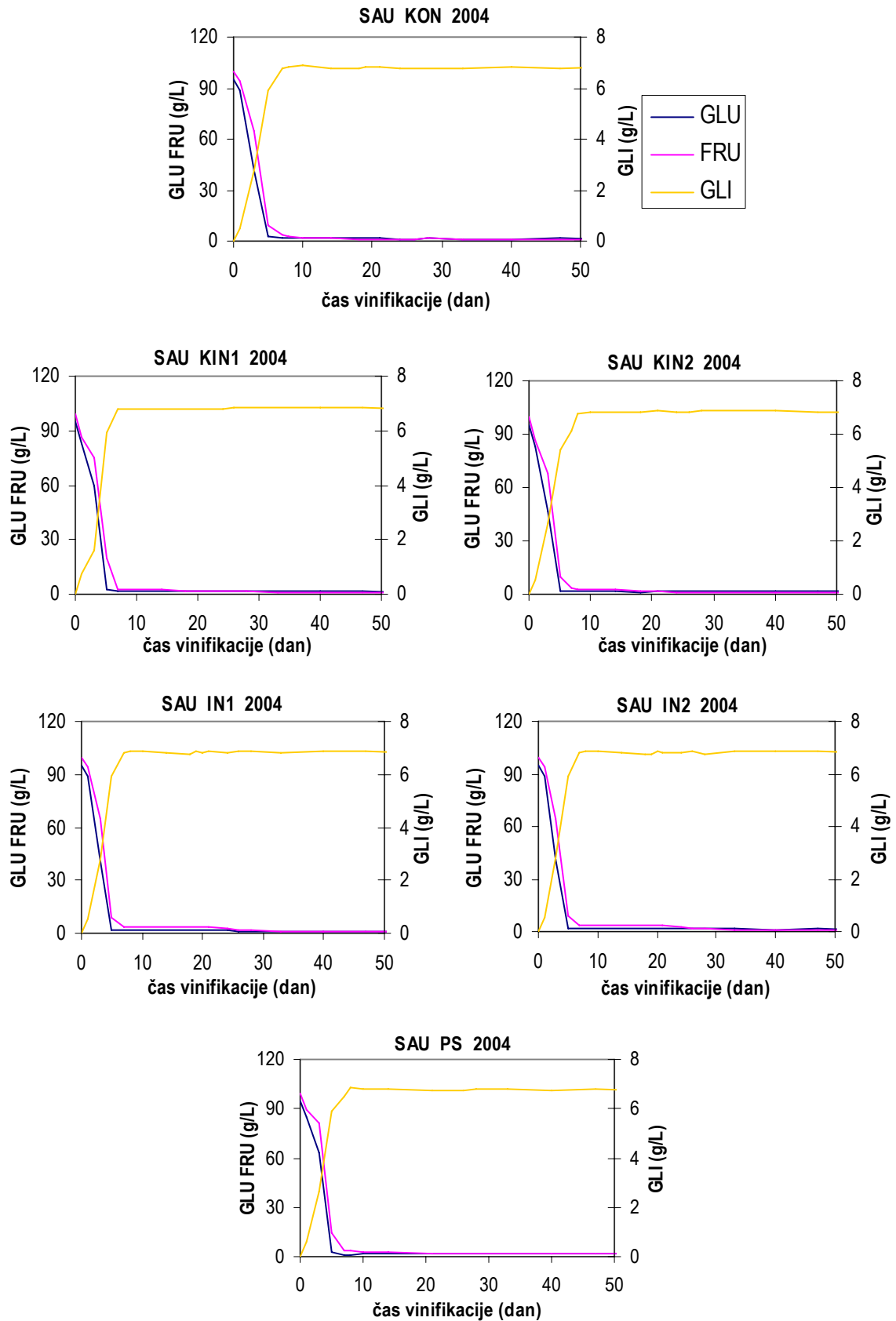
Priloga A7: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini



Priloga A8: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini

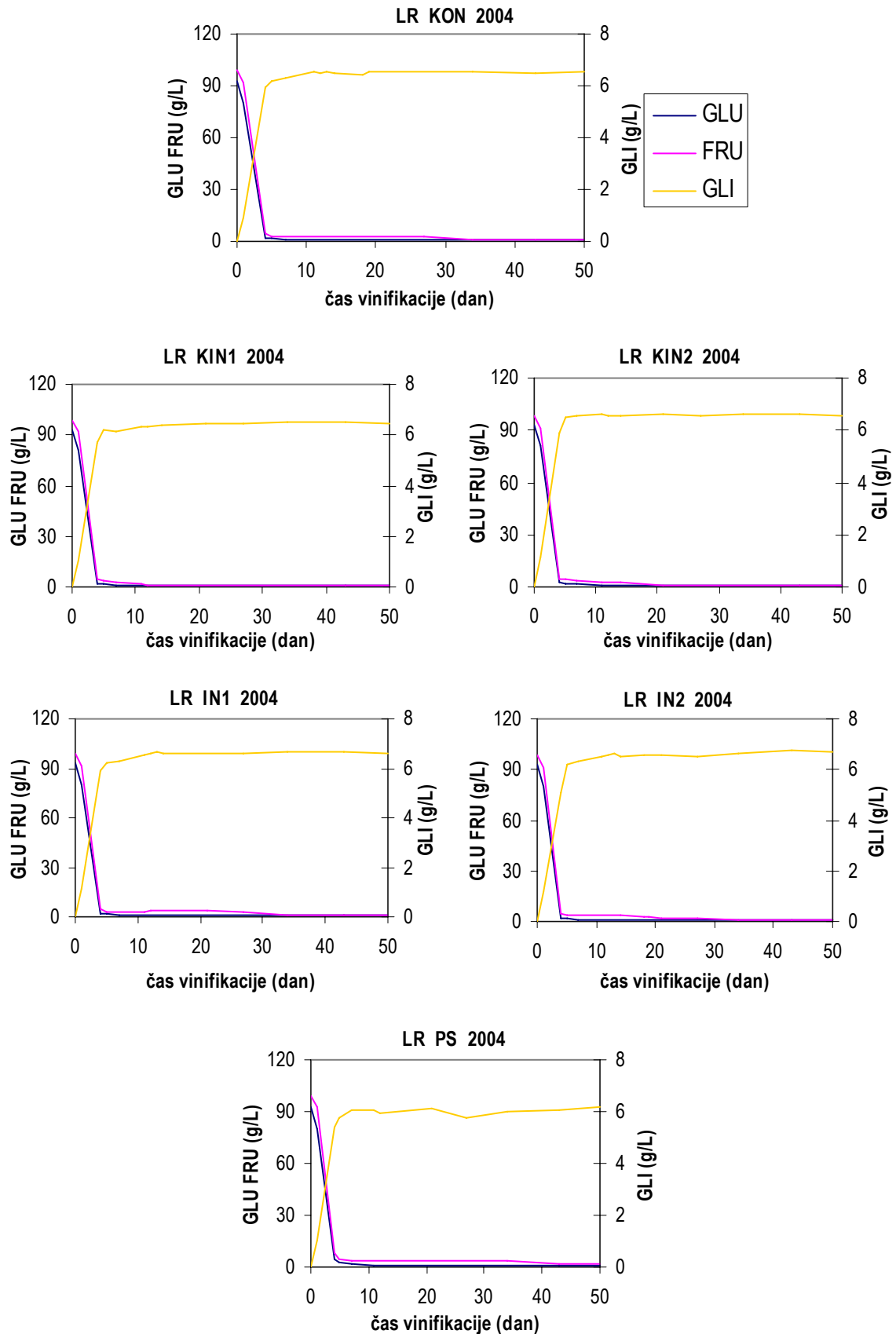


Priloga A9: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini

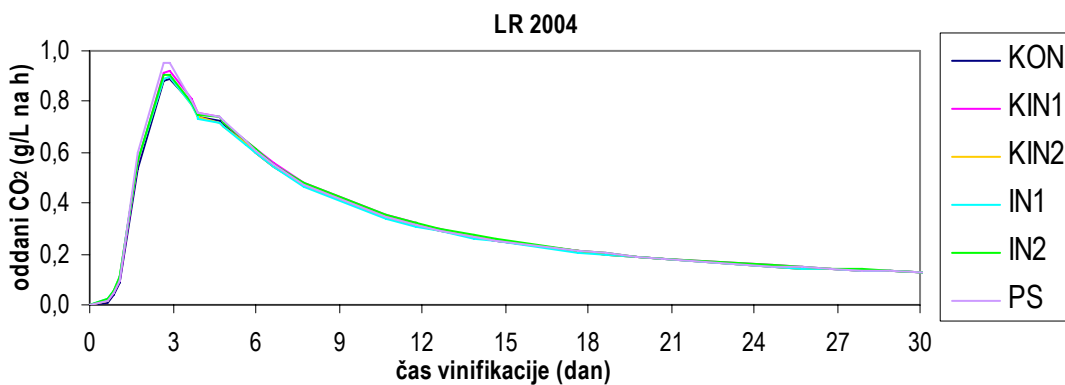
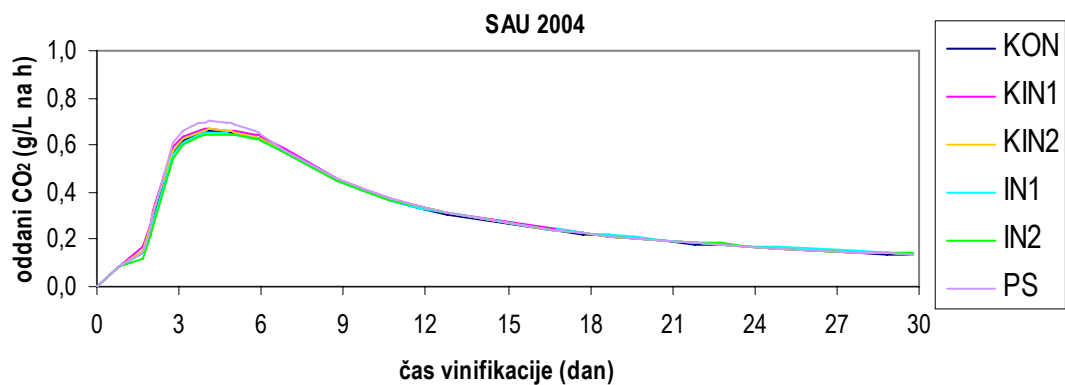
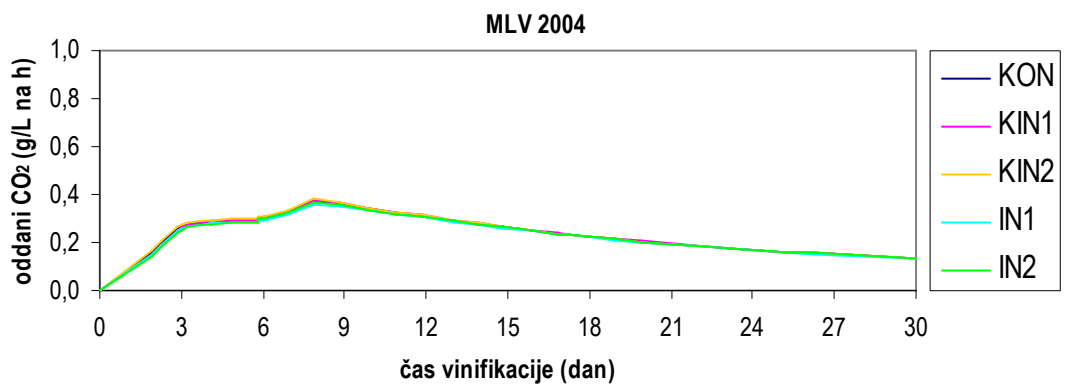
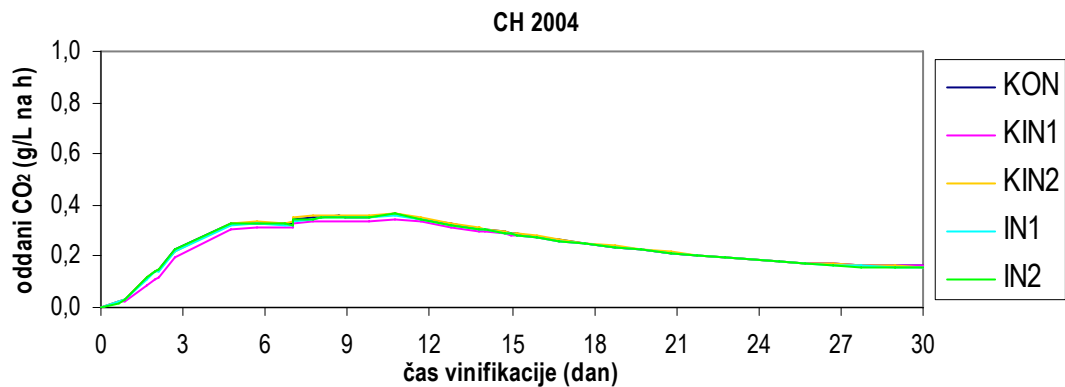




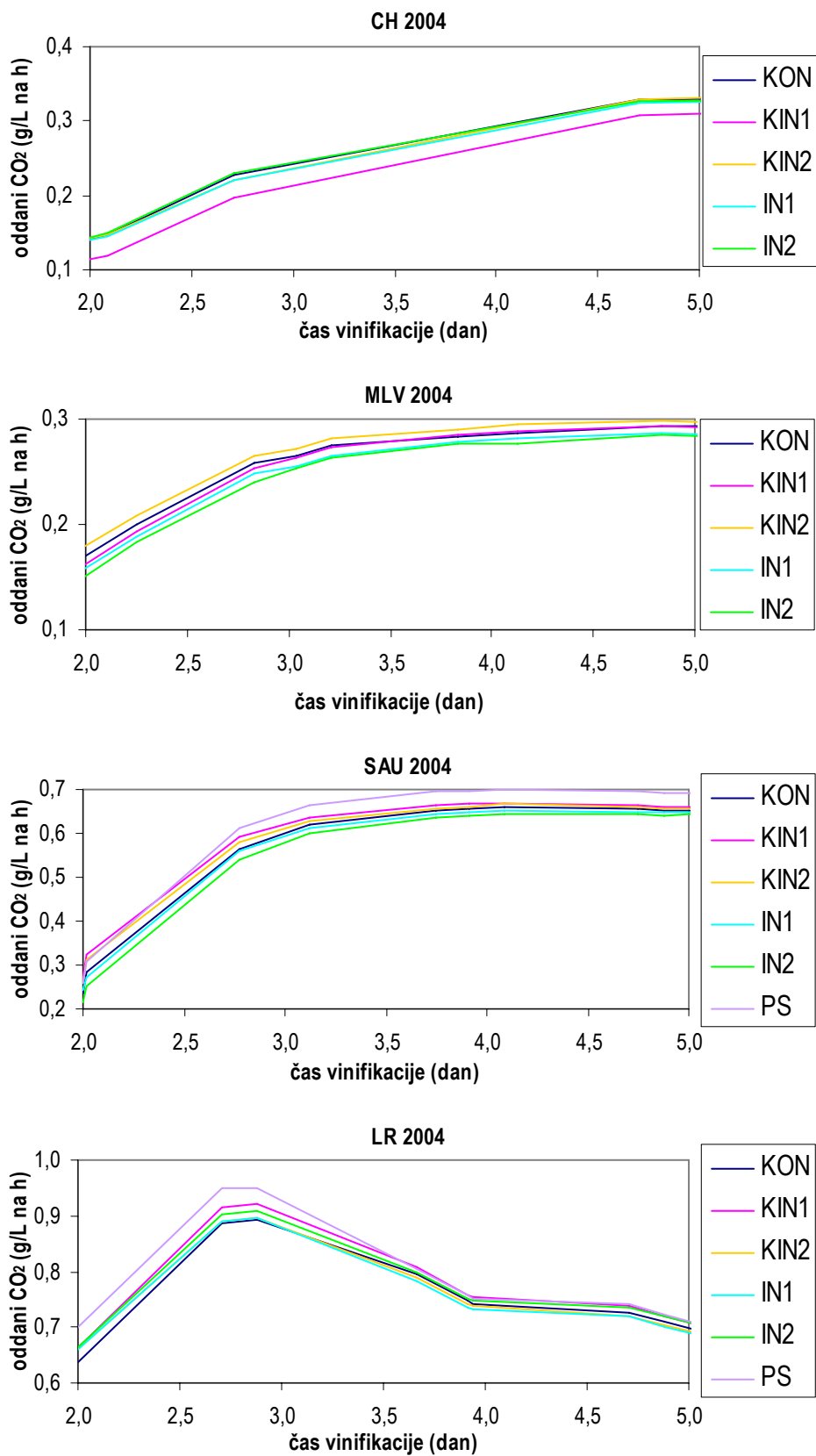
Priloga A10: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2004 v 28 L fermentacijski prostornini



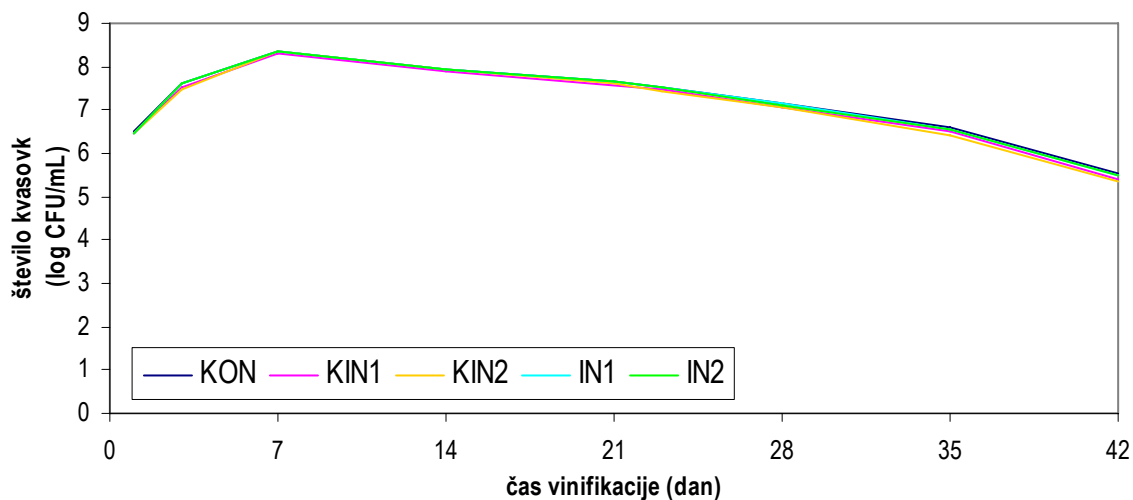
Priloga A11: Spremljanje oddajanja CO<sub>2</sub> med vinifikacijami sort chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini



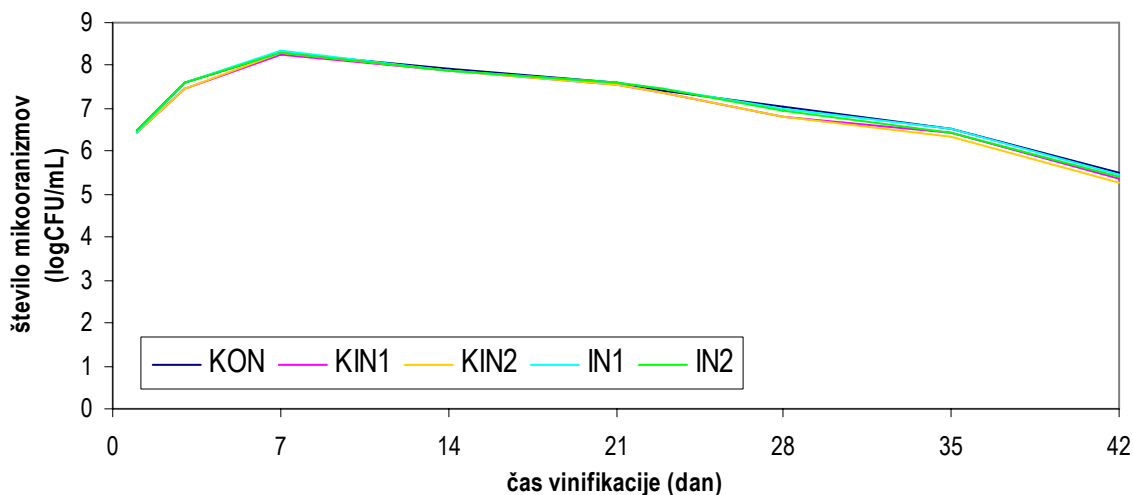
Priloga A12: Spremljanje oddajanja CO<sub>2</sub> med vinifikacijami sort chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini v času najbolj intenzivne alkoholne fermentacije



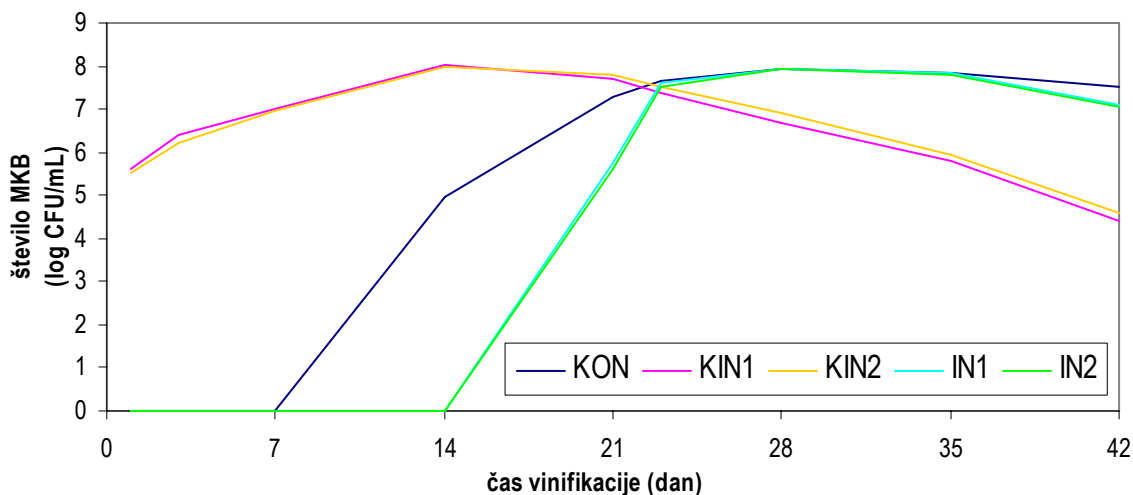
Priloga A13: Rast kvasovk med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini



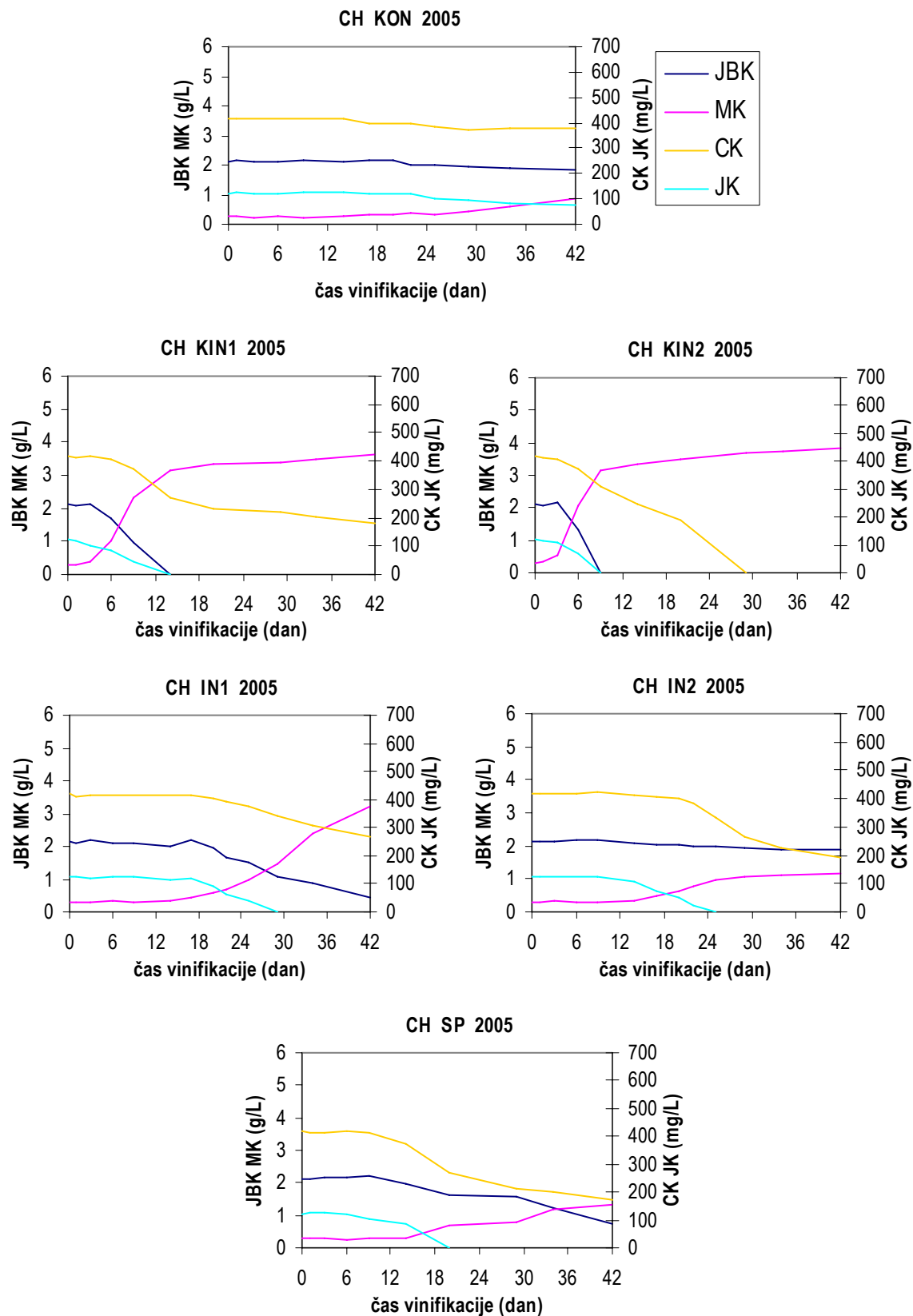
Priloga A14: Rast mikroorganizmov med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini



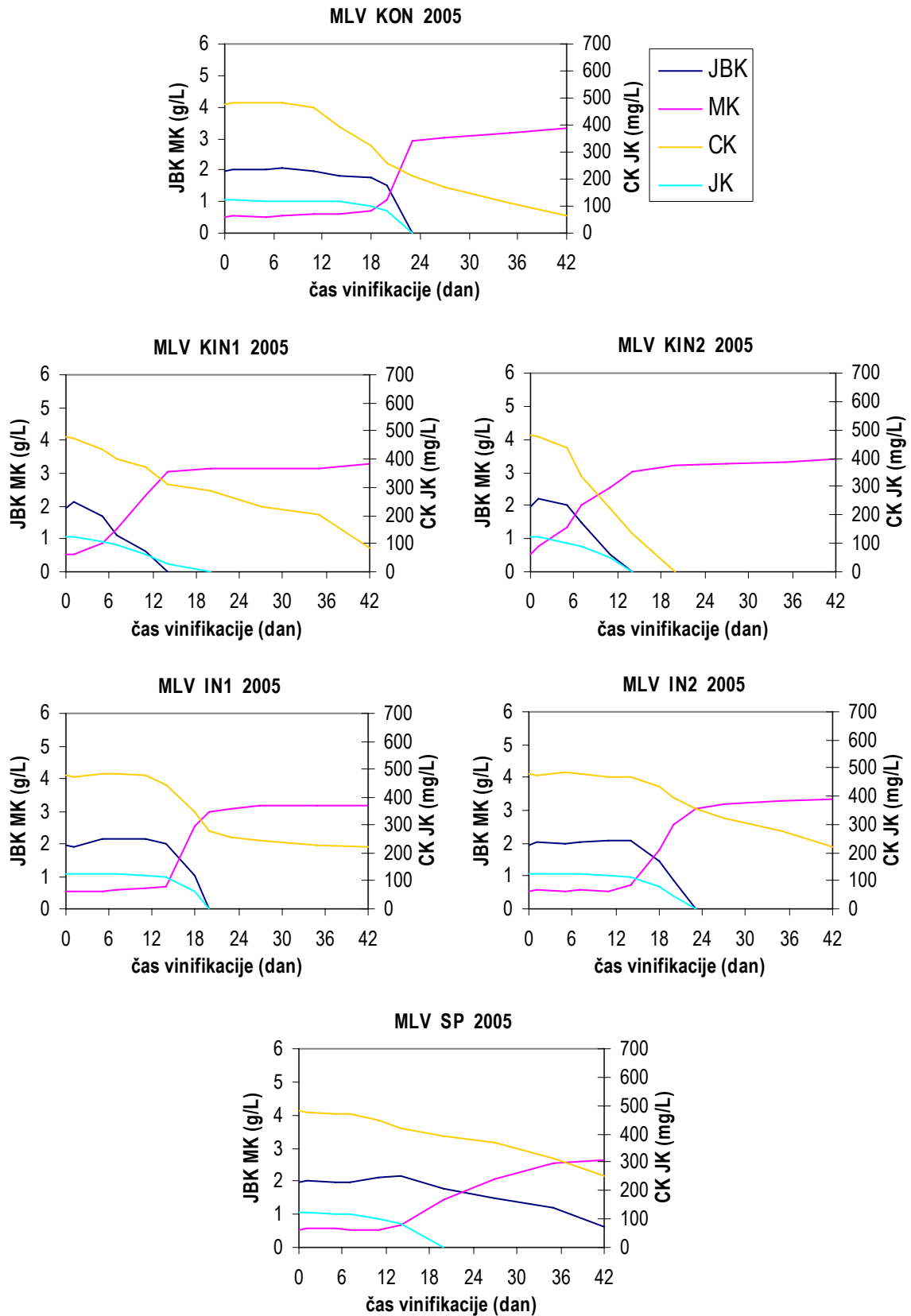
Priloga A15: Rast mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami vin malvazija letnika 2004 v 500 mL fermentacijski prostornini



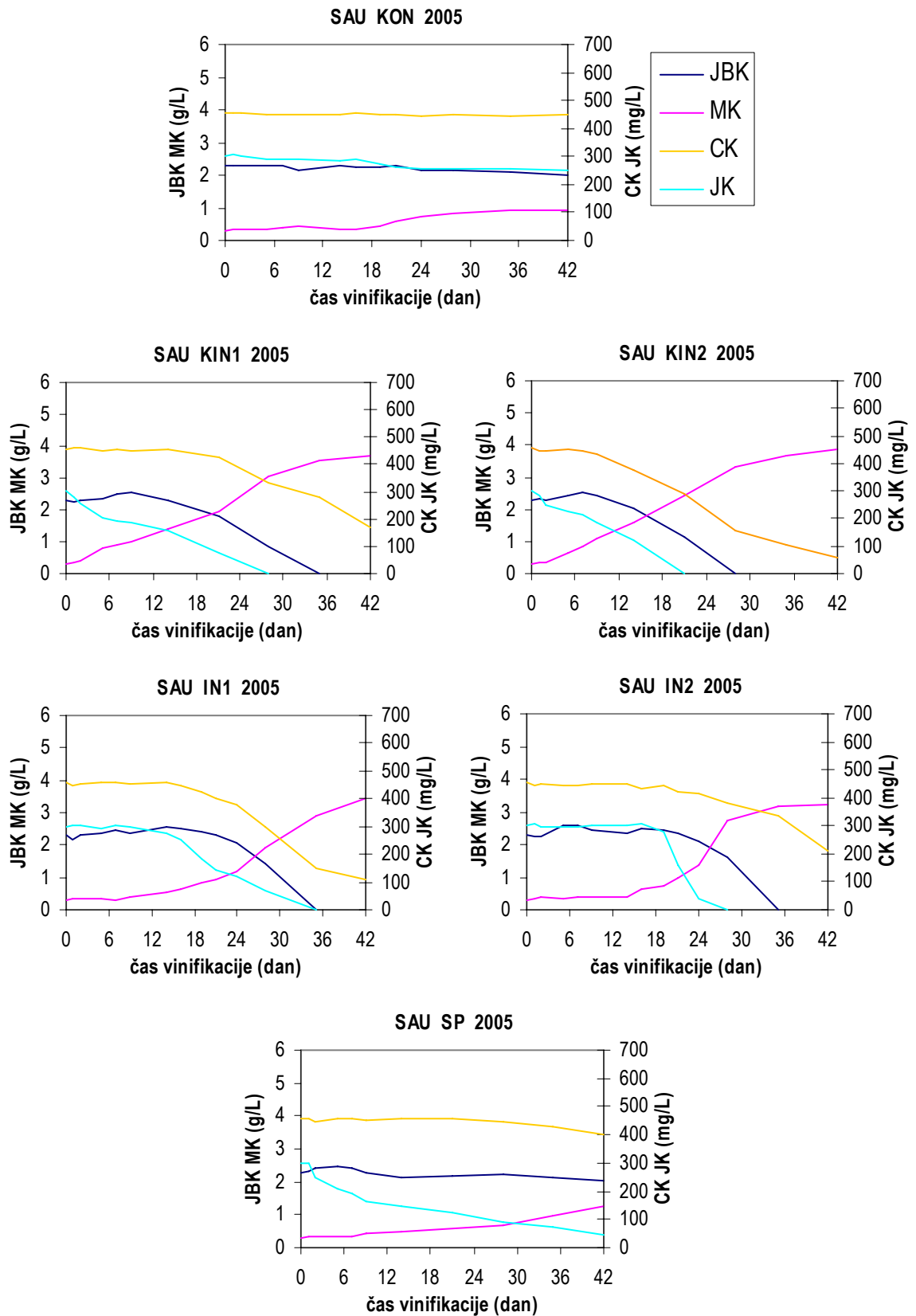
Priloga B1: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



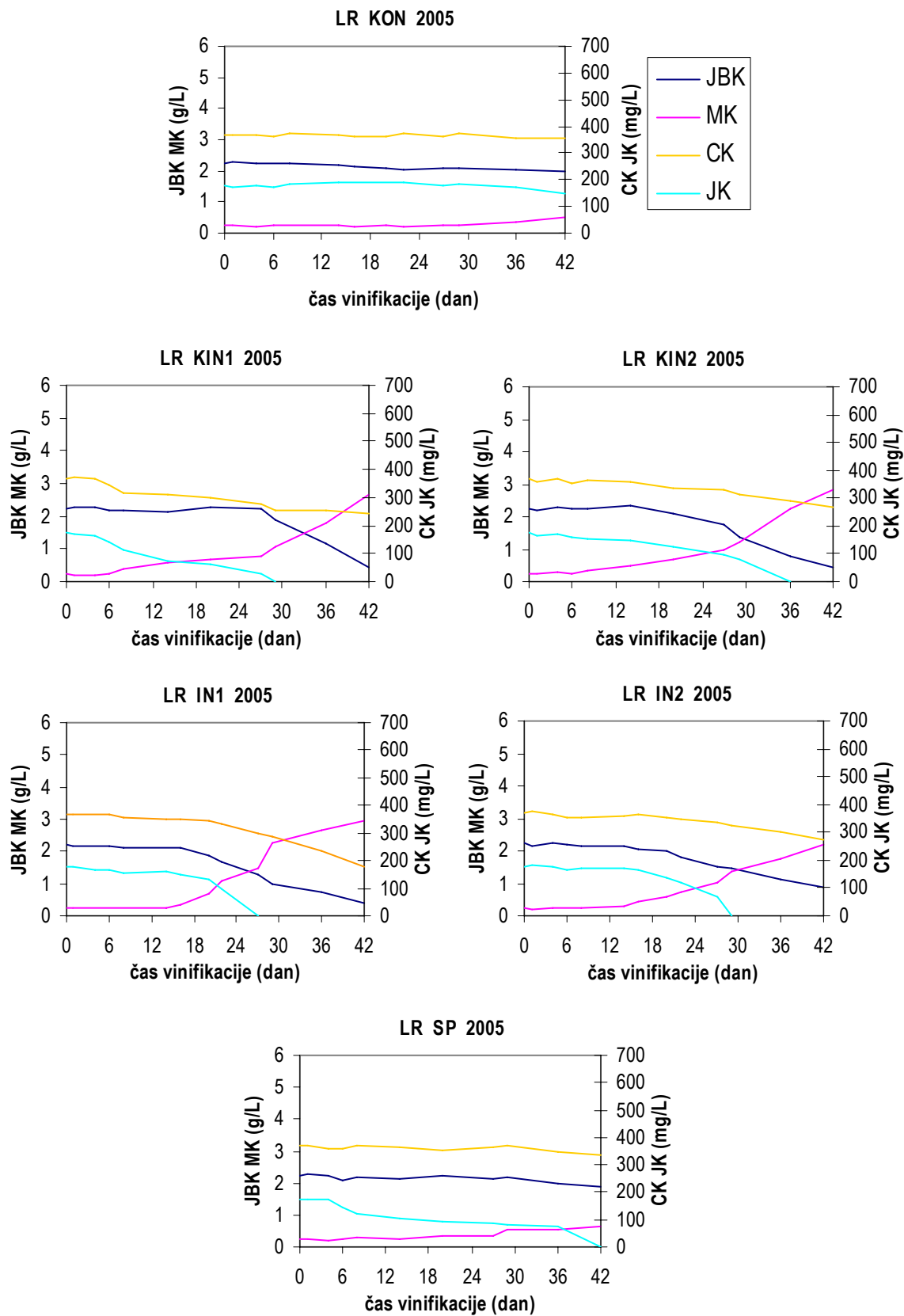
Priloga B2: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



Priloga B3: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

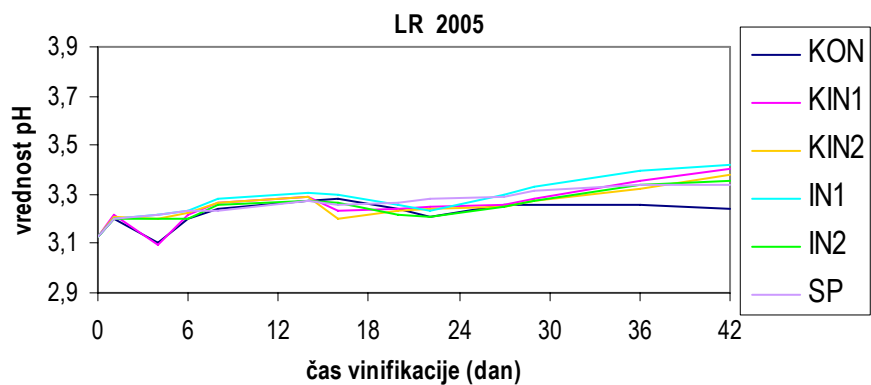
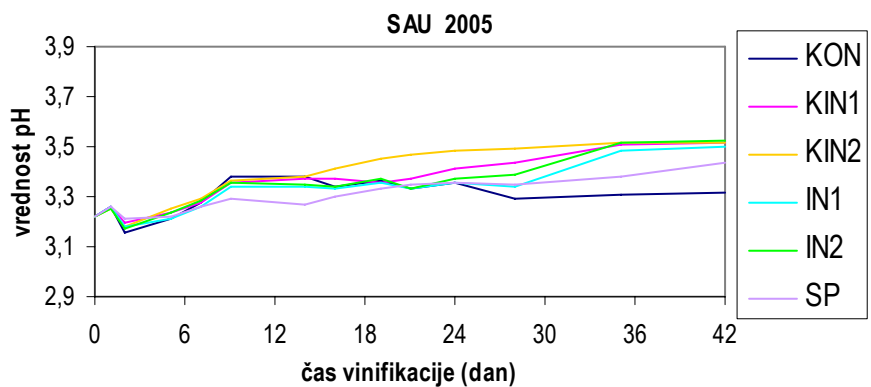
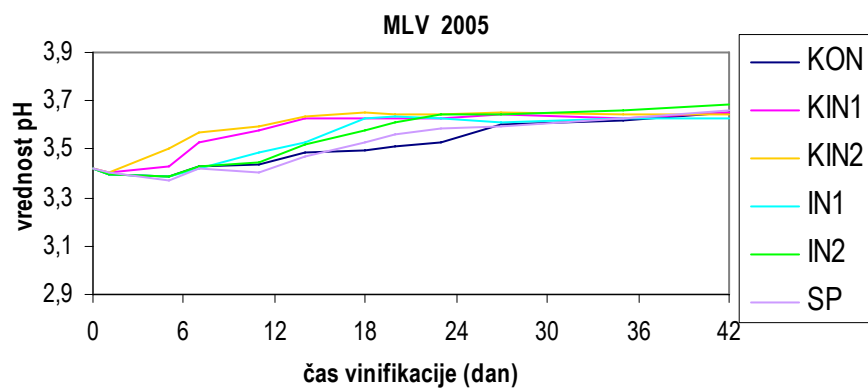
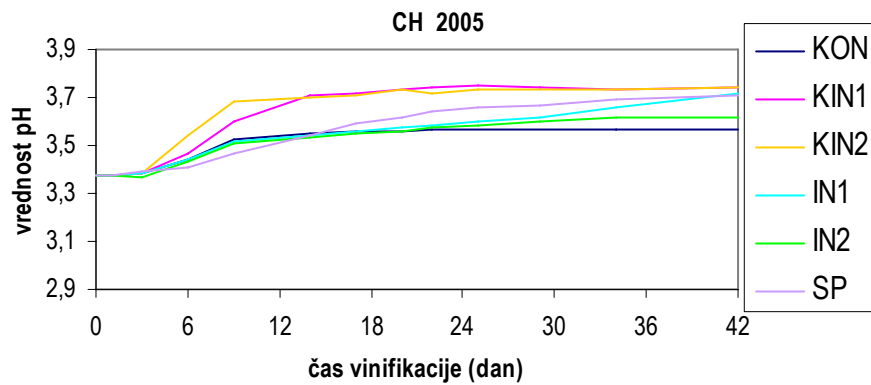


Priloga B4: Spremljanje vsebnosti organskih kislin med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

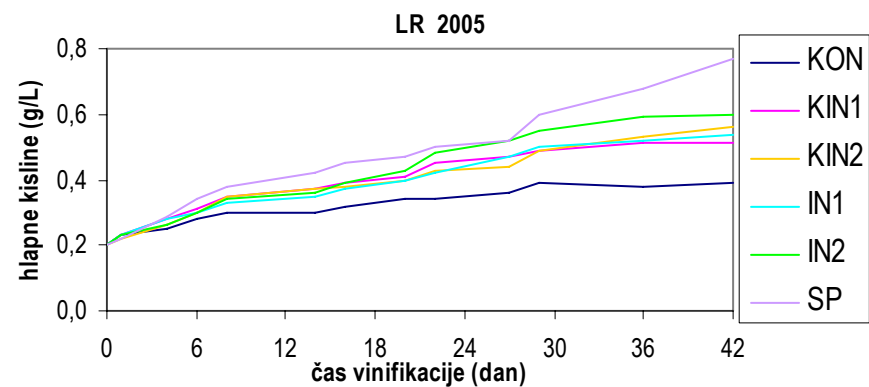
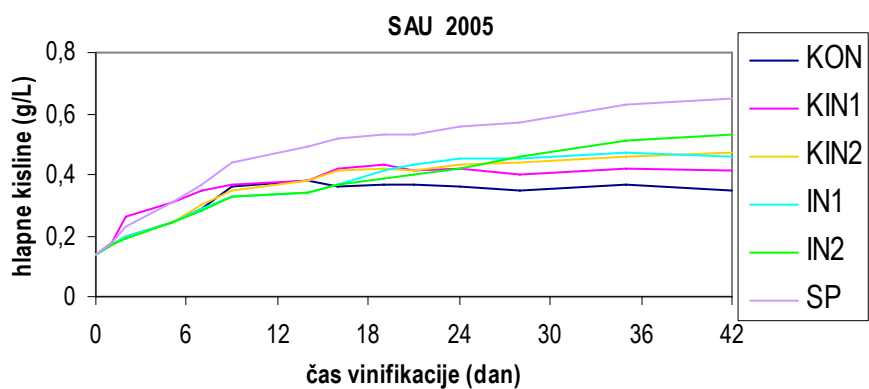
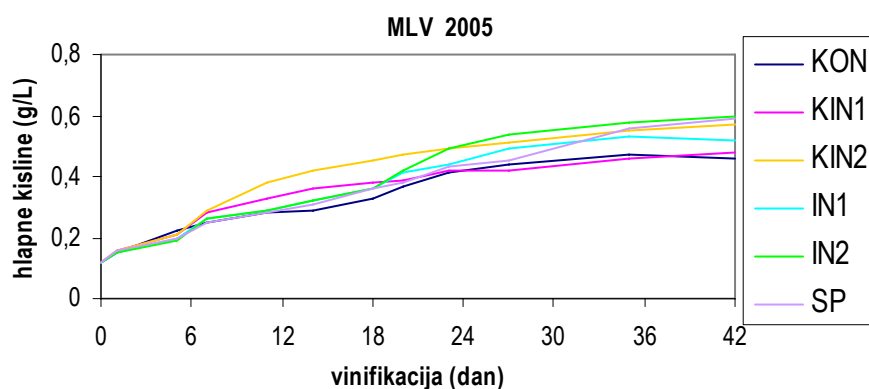
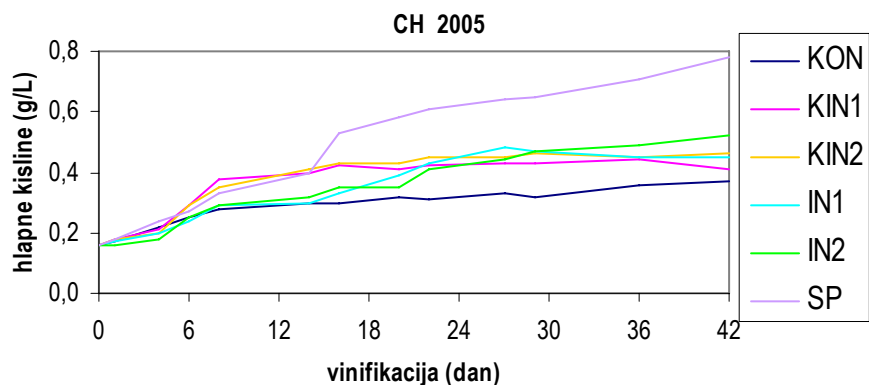




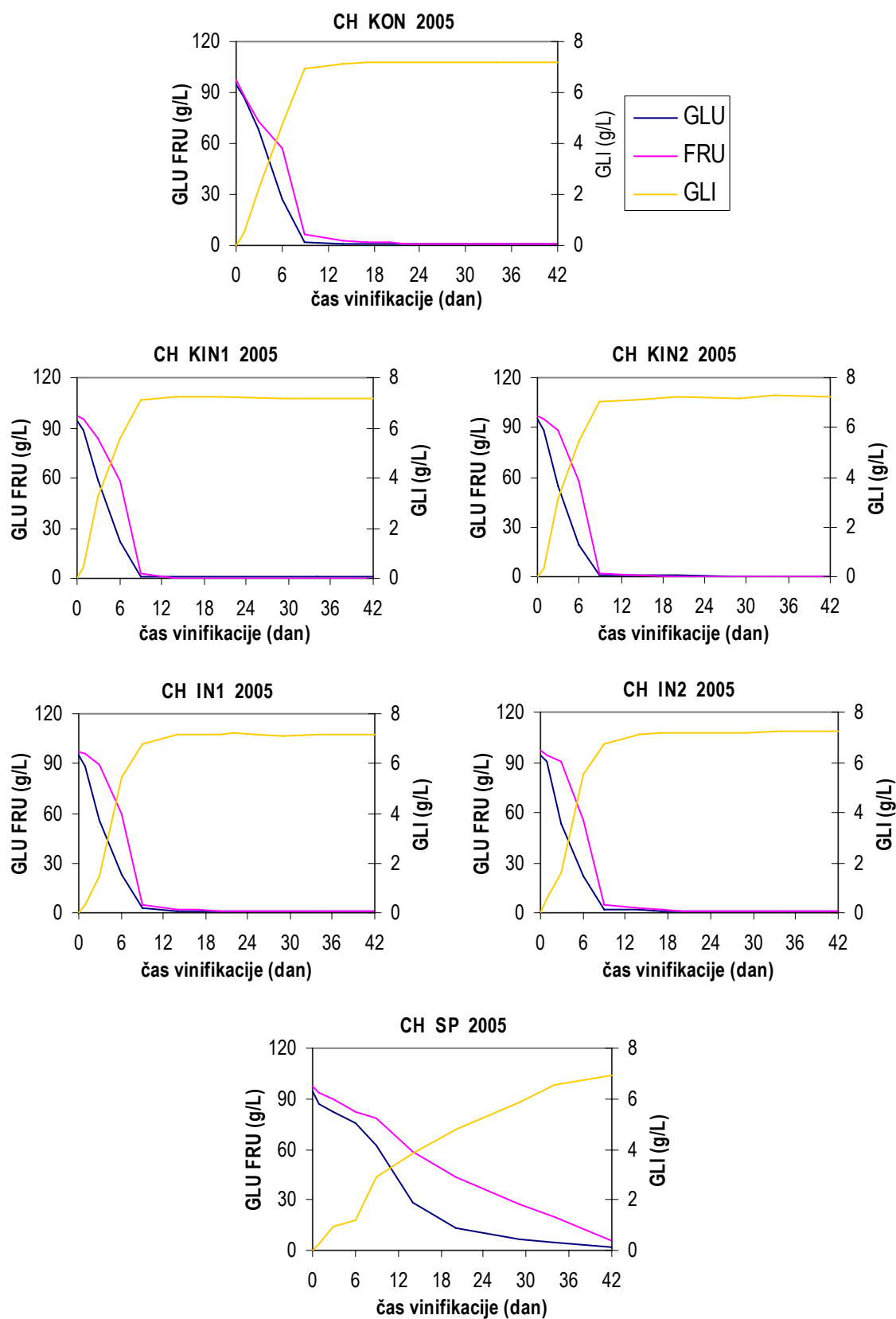
Priloga B5: Spremljanje vrednosti pH med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005  
v 28 L fermentacijski prostornini



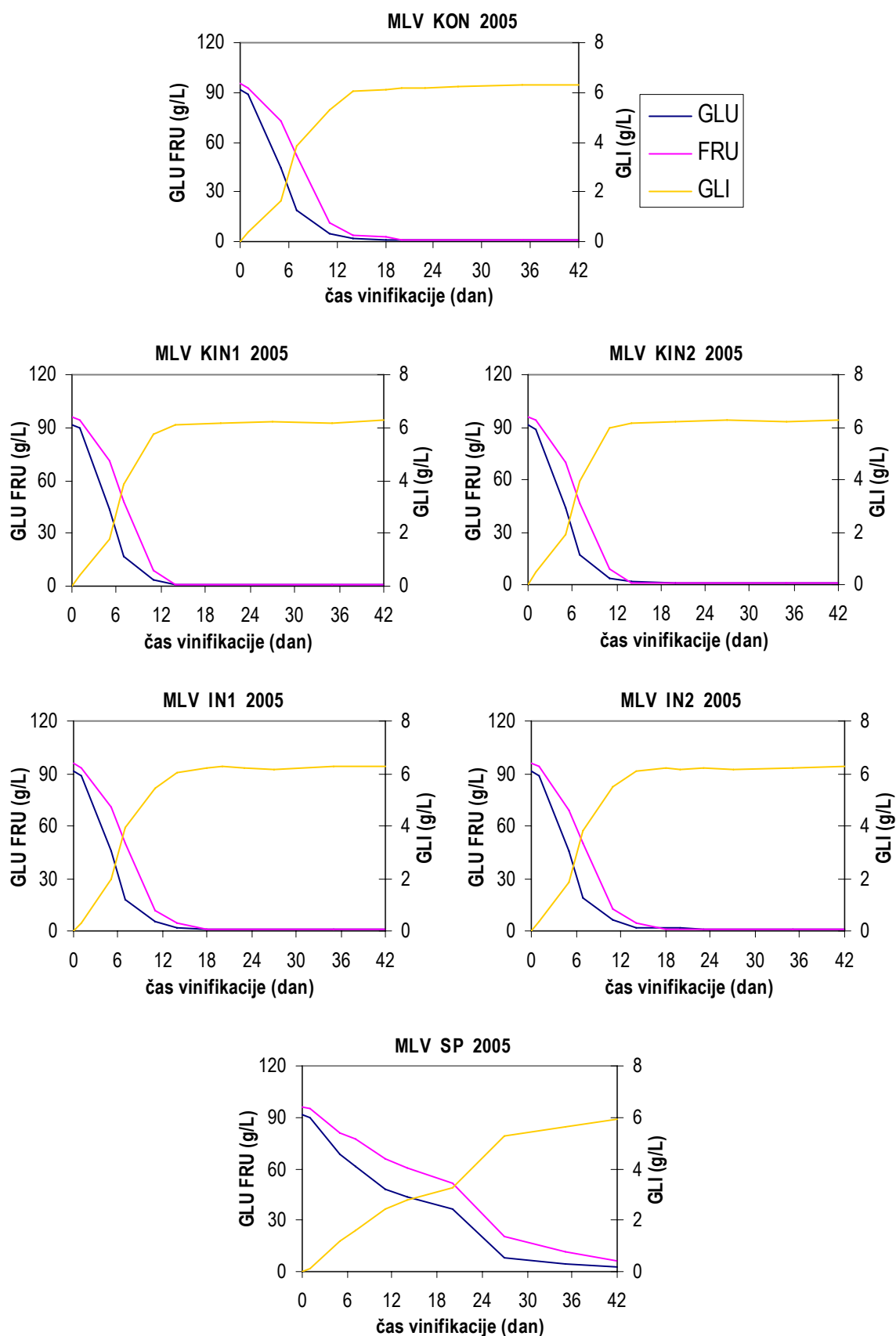
Priloga B6: Spremljanje vsebnosti hlapnih kislin med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



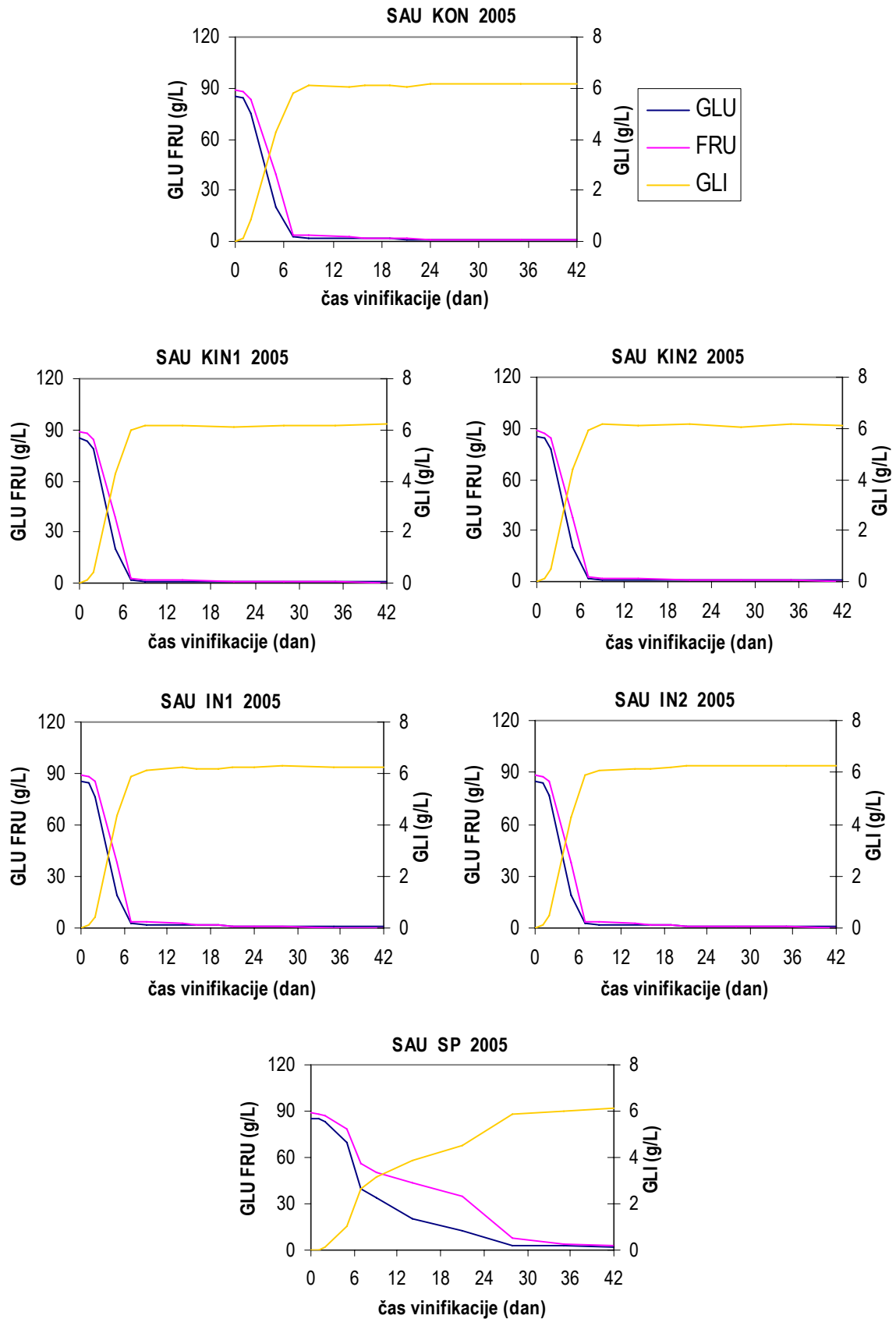
Priloga B7: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



Priloga B8: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

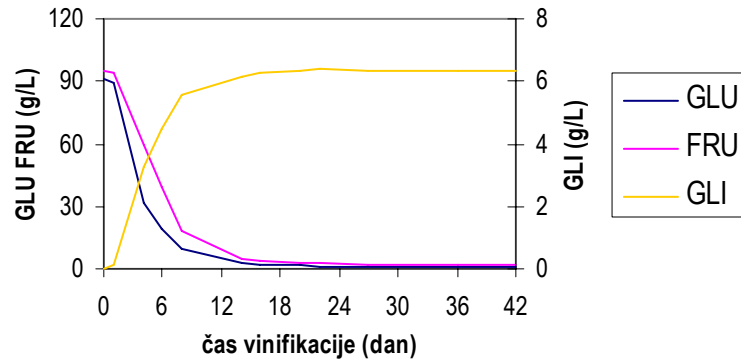


Priloga B9: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

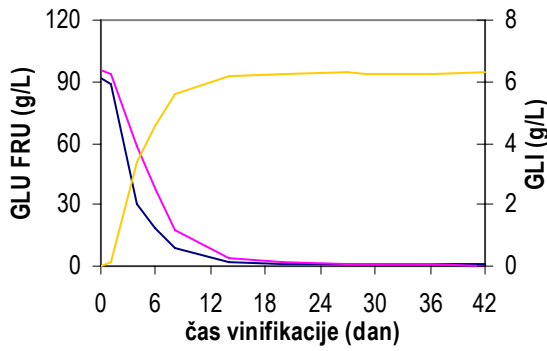


Priloga B10: Spremljanje vsebnosti sladkorjev in glicerola med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

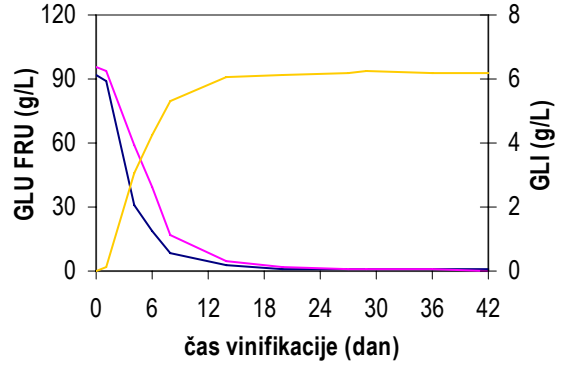
LR KON 2005



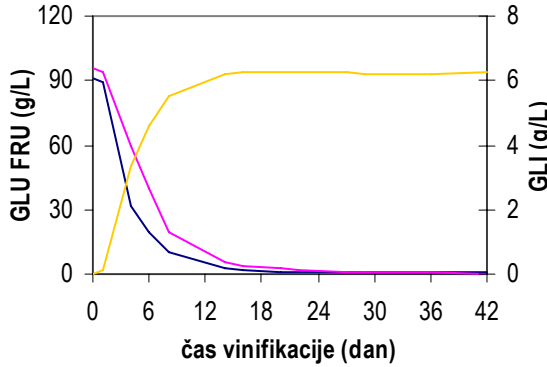
LR KIN1 2005



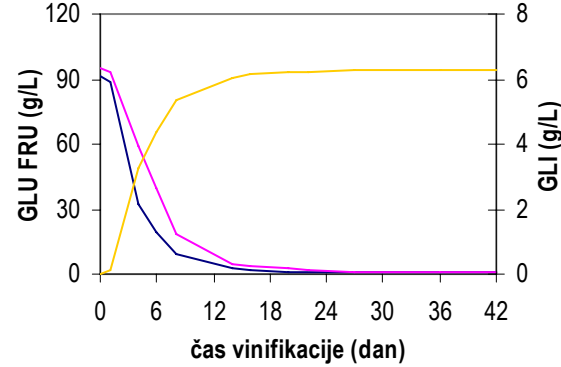
LR KIN2 2005



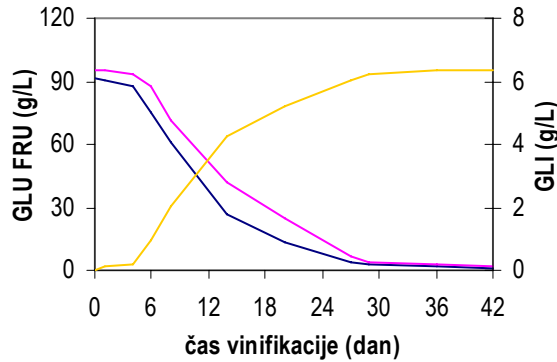
LR IN1 2005



LR IN2 2005



LR SP 2005



Priloga B11: Vsebnost aminokislin med vinifikacijami sorte chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

AK (mg/L), mesto glede na vsebnost v moštu	mošt	KON			KIN1			KIN2			IN1			IN2			SP		
		1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	konec AF	konec MKF	1/3 AF	konec AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF
Asp (12.)	11,9	/	/	1,0	/	/	3,4	/	/	/	/	/	5,0	/	/	6,6	6,2	/	1,4
Glu (8.)	33,4	5,7	4,7	9,3	3,0	5,5	16,0	4,4	3,2	15,8	4,6	3,5	18,1	3,3	4,1	17,6	31,3	16,1	21,9
Asn (10.)	31,3	/	0,1	2,7	/	/	3,8	/	0,9	5,1	7,3	1,5	6,1	/	1,1	6,4	18,8	/	5,7
Ser (6.)	51,5	/	/	2,2	/	/	3,9	/	0,5	4,2	1,9	0,7	5,2	/	0,6	4,3	33,8	3,1	2,5
Gln (3.)	132,8	5,3	1,2	1,0	0,0	1,2	2,2	/	1,9	2,2	5,8	1,2	3,1	/	1,4	3,0	98,8	42,4	23,5
His (7.)	33,6	/	/	2,3	0,0	0,0	3,0	/	/	3,3	/	/	5,7	/	/	4,5	24,4	6,3	/
Gly (16.)	3,8	3,2	0,7	/	3,3	0,2	/	3,5	0,3	/	4,2	0,5	5,5	4,6	0,3	5,9	5,2	1,2	8,0
Thr (9.)	31,6	5,4	2,4	6,5	3,2	1,5	8,3	4,3	1,5	8,1	8,1	3,1	1,5	4,7	3,0	1,6	14,6	17,4	/
Arg (2.)	284,7	5,9	/	6,4	/	/	10,3	/	/	2,6	/	2,9	15,3	/	4,1	15,4	257,9	/	/
Ala (4.)	108,0	3,2	2,2	8,7	/	2,9	12,2	/	3,6	12,9	1,9	5,1	14,9	/	6,2	14,2	99,6	39,3	37,0
Tyr (14.)	8,4	/	/	1,5	/	/	2,7	/	/	4,7	/	/	7,5	/	/	6,8	/	/	6,8
Val (5.)	77,7	52,6	18,5	21,8	41,5	14,0	16,6	45,0	15,0	18,3	59,5	15,9	19,4	51,0	20,0	18,6	80,2	64,1	31,6
Met	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Trp	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Phe (11.)	14,6	/	/	4,0	/	/	5,5	/	/	6,8	/	1,0	12,2	/	/	12,1	9,4	/	4,8
Ile (15.)	4,6	/	/	1,3	/	/	1,7	/	/	3,2	2,7	0,4	5,9	/	0,9	5,6	/	/	0,0
Leu (13.)	9,8	/	/	10,4	/	/	16,6	/	0,5	15,7	/	5,1	24,5	/	1,7	24,4	/	/	8,1
Lys	/	/	1,5	12,4	/	1,8	22,2	/	3,2	23,1	3,8	6,8	28,9	/	4,9	28,0	/	/	8,6
Pro (1.)	410,0	640,9	841,8	845,0	513,9	864,1	815,0	578,1	857,6	713,2	585,1	736,5	748,9	577,5	795,9	789,9	499,3	606,8	1033,5
Σ	1247,9	722,2	873,2	936,4	564,9	891,1	943,4	635,3	888,2	839,2	684,9	784,3	927,7	641,2	844,1	965,2	1179,6	796,5	1193,4
Σ AK-Pro	837,9	81,3	31,3	91,4	51,0	27,0	128,4	57,2	30,7	126,0	99,8	47,8	178,8	63,6	48,3	175,3	680,2	189,8	159,9
Asp, Glu, Ser, Arg, Thr, Ala	521,1	20,2	9,4	34,1	6,2	9,8	54,2	8,8	8,8	43,6	16,5	15,3	59,9	8,0	18,0	59,8	443,3	75,8	62,8

Legenda: /- vsebnost aminokislinske je bila 0 mg/L

Priloga B12: Vsebnost aminokislin med vinifikacijami sorte malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

AK (mg/L), mesto glede na vsebnost v moštu	mošt	KON			KIN1			KIN2			IN1			IN2			SP		
		1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	konec AF	konec MKF	1/3 AF	konec AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF
Asp (9.)	10,2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Glu (6.)	34,3	0,2	3,5	2,1	3,1	4,8	3,2	2,9	4,9	5,3	2,2	5,5	4,8	2,6	4,0	7,1	3,6		3,4
Asn (15.)	4,9	/	/	/	/	/	0,1	/	/	1,5	/	/	0,3	/	1,8	0,4	/	/	/
Ser (7.)	18,8	/	/	/	/	/	0,8	/	/	1,7	/	/	2,4	/	/	2,9	/	1,2	0,6
Gln (4.)	63,6	1,8	1,1	/	/	/	/	/	/	0,2	/	/	/	/	/	0,3	/	2,1	1,9
His (8.)	13,9	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Gly (16.)	4,3	0,6	0,5	/	0,6	0,9	/	1,8	0,4	/	3,2	0,5	/	3,3	0,3	/	1,3	2,8	/
Thr (13.)	6,9	2,0	0,7	/	/	1,0	2,1	1,5	0,7	3,7	1,1	/	3,6	2,9	/	4,4	/	2,6	4,2
Arg (1.)	176,9	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Ala (5.)	38,7	0,9	0,6	2,5	/	0,3	4,0	/	/	6,4	/	0,2	4,9	/	0,5	6,7	/	/	4,3
Tyr (12.)	7,3	/	/	/	/	/	/	/	/	1,8	/	/	/	/	/	0,6	/	/	/
Val (3.)	84,8	15,8	10,7	4,8	21,5	13,7	7,9	27,3	13,7	12,1	24,9	9,9	8,9	31,9	9,2	12,1	61,3	56,9	19,5
Met	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Trp	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Phe (11.)	7,8	/	/	/	/	/	/	/	/	1,2	/	/	1,6	/	/	2,9	/	/	/
Ile (14.)	5,5	/	/	/	/	/	/	/	/		/	/		/	/	0,2	/	/	/
Leu (10.)	8,8	/	/	1,5	/	/	3,3	/	/	5,9	/	/	5,9	/	/	8,7	/	/	1,2
Lys	/	/	/	2,5	/	/	5,1	/	/	7,7	/	/	8,1	/	/	9,8	/	/	2,8
Pro (2.)	164,7	170,0	176,2	265,9	225,2	176,2	223,2	137,6	246,5	232,8	161,0	195,4	216,1	185,2	200,6	235,1	167,5	172,0	273,7
Σ	651,3	191,3	193,3	279,2	250,5	196,9	249,7	171,1	266,2	280,2	192,4	211,5	256,6	225,8	216,5	291,2	233,7	237,6	311,5
Σ AK-Pro	486,6	21,3	17,1	13,3	25,2	20,6	26,5	33,5	19,7	47,5	31,4	16,0	40,5	40,7	15,9	56,1	66,2	65,6	37,8
Asp, Glu, Ser, Arg, Thr, Ala	285,7	3,1	4,8	4,6	3,1	6,1	10,1	4,4	5,6	17,1	3,3	5,6	15,8	5,5	4,6	21,1	3,6	3,8	12,4

Legenda: /- vsebnost aminokislinske je bila 0 mg/L



Priloga B13: Vsebnost aminokislin med vinifikacijami sorte sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

AK (mg/L), mesto glede na vsebnost v moštu	mošt	KON			KIN1			KIN2			IN1			IN2			SP		
		1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	konec AF	konec MKF	1/3 AF	konec AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF
Asp	/	/	/	8,0	/	1,4	18,5	/	2,3	17,8	/	0,5	18,8	/	2,4	19,4	/	/	15,3
Glu (7.)	41,6	5,4	9,1	22,4	2,3	7,8	39,7	4,1	10,4	37,6	1,7	8,8	36,5	4,2	12,2	39,4	22,0	21,2	37,1
Asn (13.)	5,9	1,1	3,9	7,1	/	1,1	9,0	0,8	1,9	7,6	/	1,4	8,0	0,6	3,4	8,7	/	1,0	6,7
Ser (8.)	41,1	0,0	1,3	4,4	/	1,1	9,1	0,2	1,5	8,0	/	1,5	9,1	0,1	1,9	8,6	5,8	1,4	7,6
Gln (2.)	274,1	5,0	4,7	2,9	0,4	2,6	4,9	2,1	3,0	5,2	0,1	1,4	4,3	1,5	2,6	5,3	66,2	16,8	11,5
His	/	/	/	8,9	/	4,1	14,9	/	6,0	10,4	/	2,4	9,8	/	5,7	11,4	/	/	11,4
Gly (15.)	2,6	/	/	7,7	/	3,9	13,3	0,1	3,6	11,5	0,1	4,9	14,7	0,1	4,4	12,8	9,6	8,5	14,4
Thr (6.)	49,1	4,4	7,4	2,4	4,2	0,4	7,3	4,3	0,8	5,4	3,6	0,5	7,5	5,4	0,4	6,1	/	5,5	3,8
Arg (1.)	1098,2	/	20,9	31,4	4,6	11,8	37,6	9,9	17,8	38,9	2,3	11,3	34,4	9,5	17,8	43,8	966,9	331,9	274,3
Ala (3.)	175,6	7,4	11,0	15,7	5,7	10,8	29,5	7,5	10,9	25,7	3,4	11,4	30,3	7,1	12,0	28,0	102,8	20,3	36,5
Tyr (12.)	6,7	/	0,7	5,5	/	0,4	16,4	/	0,6	11,0	/	1,8	15,1	/	3,1	15,1	/	/	12,3
Val (4.)	82,0	27,2	31,0	31,2	23,4	24,4	47,7	30,6	31,4	25,7	24,6	27,9	44,9	31,8	31,6	45,4	67,1	42,5	16,3
Met	/	/	1,6	4,2	6,4	1,5	9,1	/	1,7	8,9	/	1,6	9,5	/	1,9	9,7	/	/	4,6
Trp (14.)	3,8	/	/	/	/	/	5,4	/	/	/	/	/	3,2	/	/	4,4	/	/	/
Phe (9.)	38,9	/	3,3	12,2	/	3,2	27,0	/	5,5	24,8	/	5,7	26,9	/	6,8	27,5	/	/	21,3
Ile (11.)	7,1	/	/	3,7	/	0,2	12,3	/	1,3	10,3	/	1,0	11,3	/	0,9	11,7	/	/	6,7
Leu (10.)	21,2	/	9,0	20,8	0,7	8,1	46,3	1,5	10,3	41,8	0,1	9,5	45,9	1,1	12,4	47,2	/	3,8	35,6
Lys	/	2,3	13,6	28,8	3,5	14,0	57,9	5,6	18,2	54,0	2,4	15,4	56,8	4,9	20,2	62,7	/	/	19,6
Pro (5.)	77,3	429,5	456,6	482,5	410,7	458,6	399,1	390,6	396,9	370,6	366,0	352,8	381,9	378,2	373,7	393,3	89,7	246,7	351,7
Σ	1925,3	482,2	574,1	699,5	461,8	555,4	805,0	457,3	524,0	715,3	404,5	459,7	769,0	444,6	513,2	800,3	1330,0	699,7	886,7
Σ AK-Pro	1848,0	52,7	117,5	217,0	51,1	96,8	405,9	66,7	127,1	344,7	38,5	106,9	387,1	66,4	139,5	407,0	1240,3	453,0	535,0
Asp, Glu, Ser, Arg, Thr, Ala	1405,7	17,2	49,7	84,2	16,8	33,3	141,6	26,0	43,6	133,4	11,1	34,0	136,7	26,4	46,6	145,3	1097,4	380,4	374,6

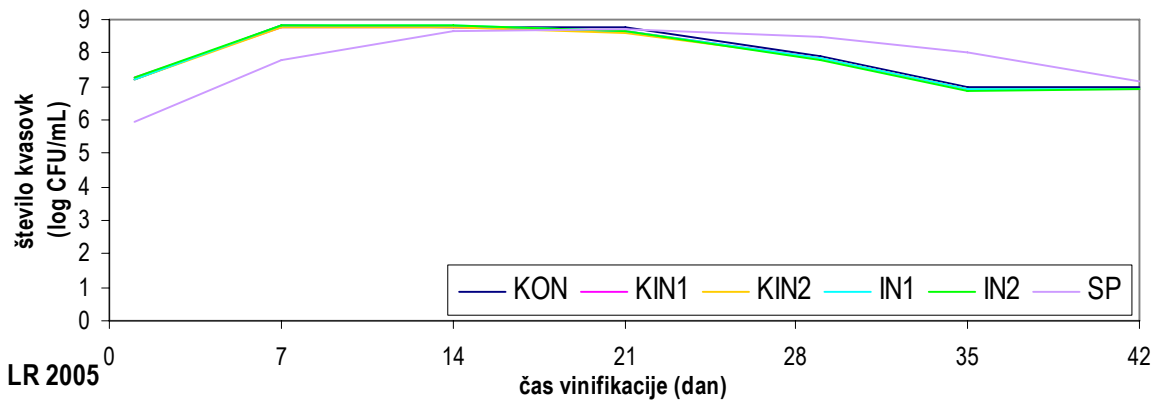
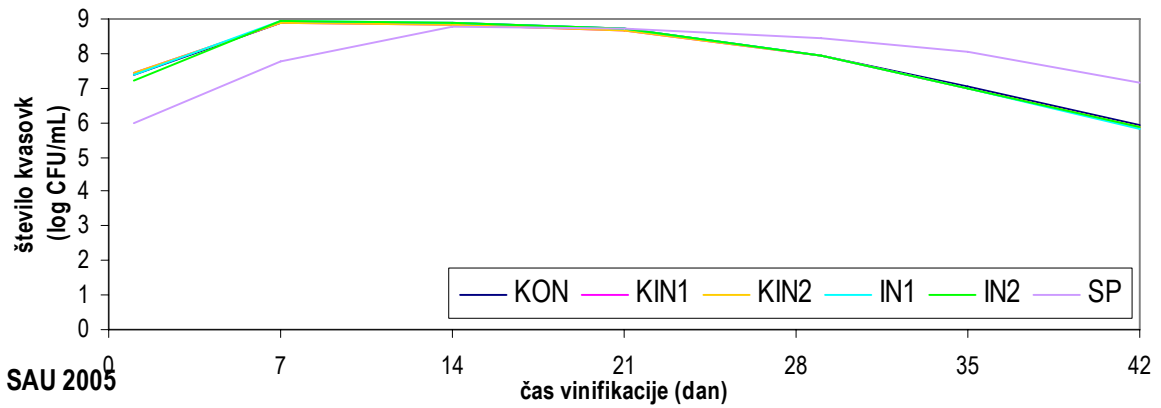
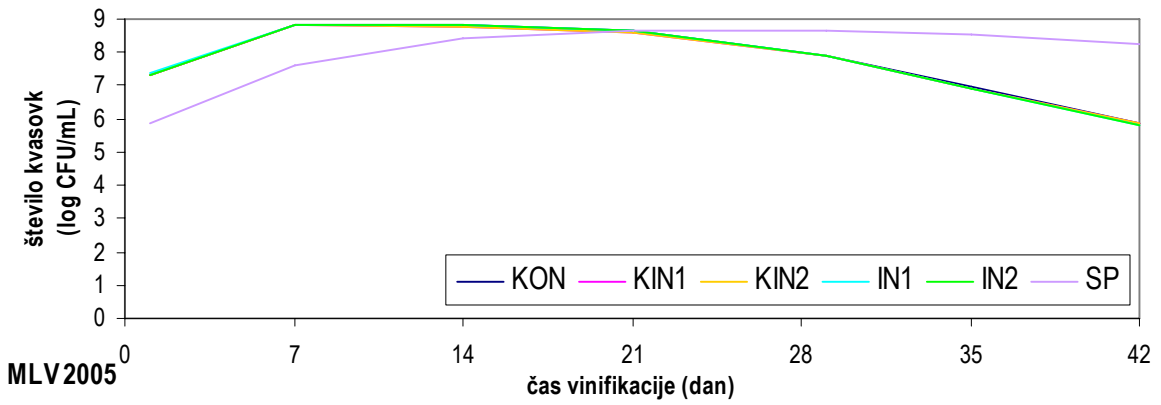
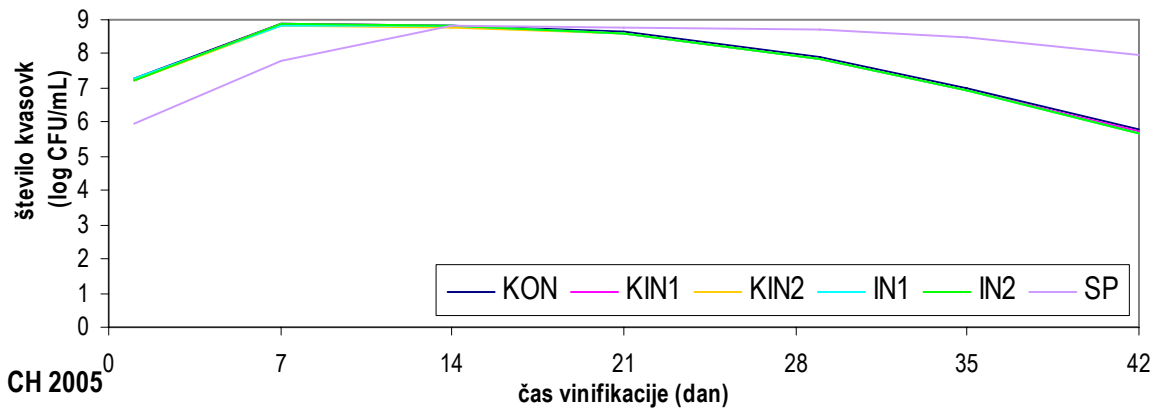
Legenda: /- vsebnost aminokislinske je bila 0 mg/L

Priloga B14: Vsebnost aminokislin med vinifikacijami sorte laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini

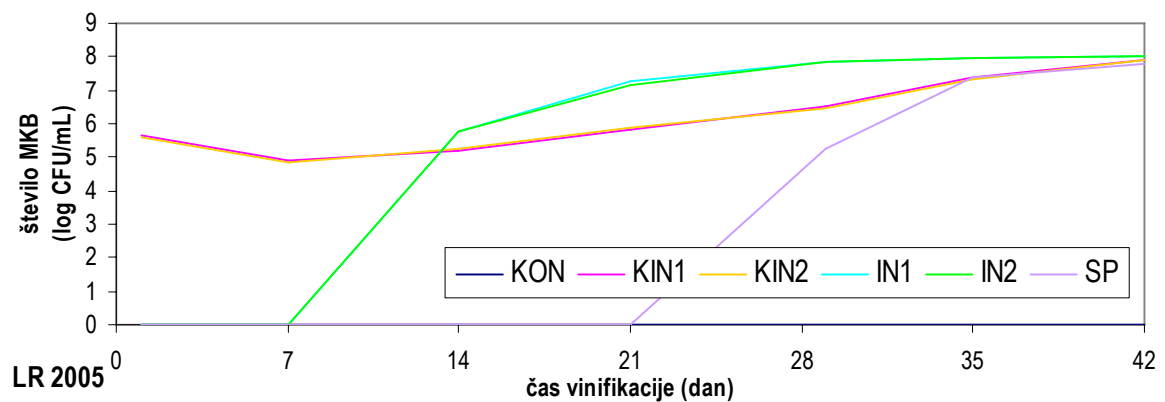
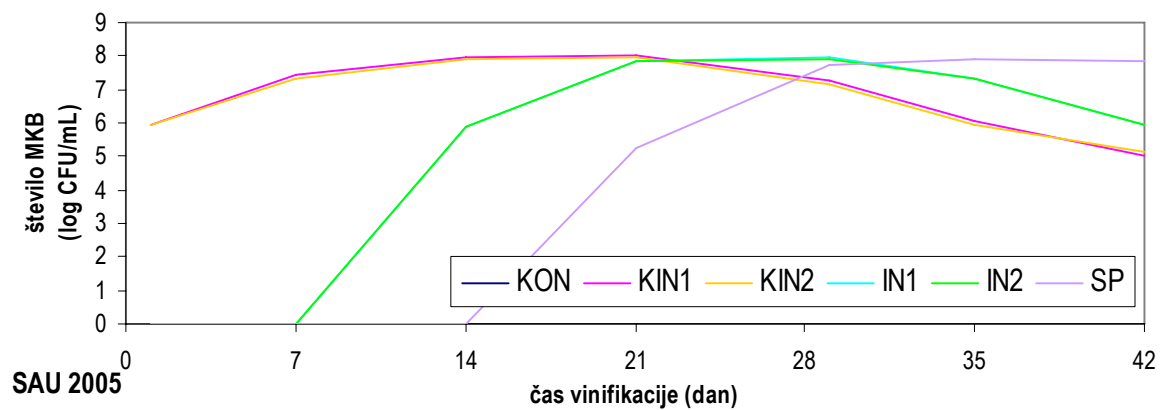
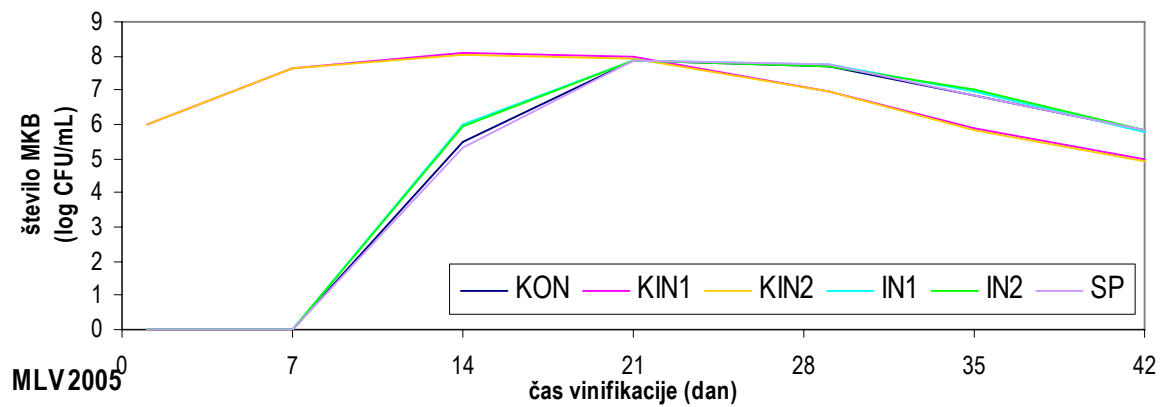
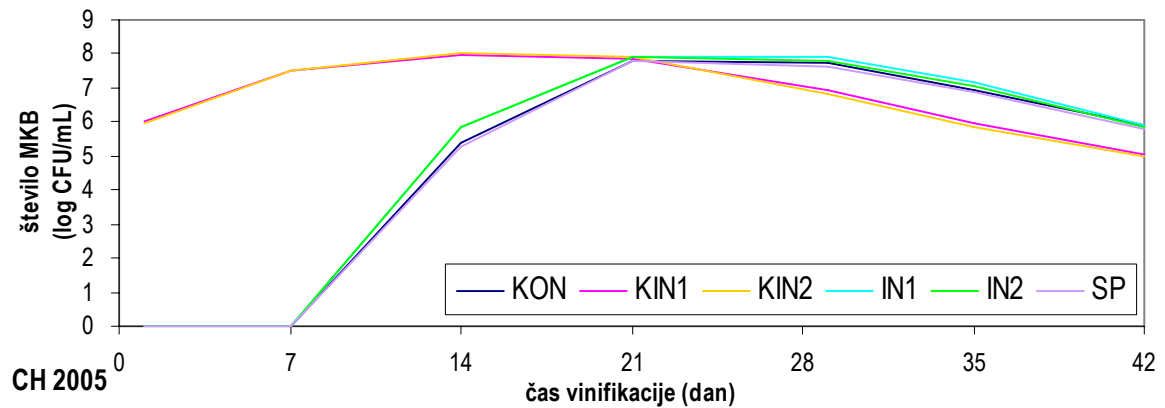
AK (mg/L), mesto glede na vsebnost v moštu	mošt	KON			KIN1			KIN2			IN1			IN2			SP		
		1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF	1/3 AF	konec AF	konec MKF	1/3 AF	konec AF	konec MKF	1/3 AF	2/3 AF	konec MKF
Asp (12.)	16,5	/	/	2,6	/	/	4,7	/	/	7,1	/	/	8,9		1,2	8,7	5,0		7,2
Glu (10.)	34,0	12,5	4,4	12,6	3,8	5,3	21,3	3,3	5,3	19,3	2,8	7,4	22,6	4,3	6,8	20,0	29,3	10,6	21,6
Asn (14.)	11,4	6,0	11,4	14,3	2,3	7,3	11,6	1,8	7,9	12,1	1,6	8,6	13,4	2,3	5,0	8,5	11,9	2,6	12,0
Ser (5.)	47,3	0,8	0,6	2,2	0,7	0,6	4,3	0,6	0,6	3,7	0,5	1,2	4,5	0,2	1,3	3,8	43,6	1,1	4,0
Gln	31,4	4,3	5,5	3,1	3,3	6,2	5,1	1,5	5,6	4,2	2,0	5,0	4,7	1,4	3,6	3,7	41,0	47,8	20,8
His (8.)	35,2	/	/	3,3	/	/	6,3	/	8,1	5,6	/	/	7,4	6,2	/	8,1	37,3	/	5,9
Gly (15.)	7,5	3,5	/	2,6	0,6	0,4	5,6	/	0,2	4,5	0,2	0,5	2,7	0,6	2,3	4,1	6,9	6,8	8,6
Thr (4.)	48,5	/	/	/	/	/	1,7	/	/	1,0	/	/	/	/	/	2,7	44,3	/	0,9
Arg (1.)	828,1	19,8	9,5	14,3	17,1	12,3	30,5	10,7	9,7	21,8	9,2	11,3	26,3	18,0	13,5	26,4	792,1	331,5	166,5
Ala (2.)	131,5	4,1	8,9	14,4	2,0	9,2	19,5	1,6	10,1	18,6	1,1	11,6	21,2	2,1	9,3	17,5	123,0	27,0	30,3
Tyr (13.)	13,6	/	/	/	/	/	5,6	/	/	4,6	/	/	7,4	/	0,8	6,6	11,5	2,5	8,8
Val (3.)	72,7	37,0	25,2	30,5	41,4	27,1	26,9	36,5	29,7	34,4	44,2	29,3	37,3	45,5	29,2	36,8	84,3	60,7	41,8
Met		/	0,3	2,8	/	0,6	6,1	/	1,1	4,3	/	1,2	5,0	/	1,0	4,0	/	/	4,0
Trp (16.)	5,9	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	5,4	/	/
Phe (6.)	42,9	/	0,6	6,8	/	0,6	15,2	/	0,1	12,3	/	1,6	17,2	/	3,3	11,8	38,5	/	13,6
Ile (11.)	19,4	/	/	1,6	/	/	6,7	/	/	4,2	/	/	7,4	/	/	5,2	17,7	/	3,4
Leu (9.)	32,4	/	2,4	12,7	/	3,3	28,3	/	3,2	22,0	/	/	28,4	/	/	26,1	4,7	/	22,6
Lys (17.)	2,8	7,0	3,2	15,1	2,2	4,4	35,0	2,9	4,2	27,3	2,1	5,6	37,6	3,2	10,3	35,6	20,2	/	25,4
Pro (7.)	36,3	274,0	298,5	308,8	239,7	294,9	316,2	263,2	288,5	306,2	279,6	290,8	309,4	245,3	248,3	263,4	51,2	123,5	265,6
Σ	1417,5	369,0	370,5	447,7	313,3	372,3	550,7	322,2	374,2	513,1	343,4	374,2	561,3	329,2	335,8	492,9	1367,7	614,0	663,0
Σ AK-Pro	1381,2	95,0	72,0	138,9	73,5	77,3	234,5	59,0	85,7	206,8	63,8	83,4	251,9	83,9	87,5	229,5	1316,5	490,5	397,4
Asp, Glu, Ser, Arg, Thr, Ala	1105,9	37,2	23,5	46,0	23,7	27,3	82,0	16,3	25,7	71,5	13,6	31,5	83,4	24,7	32,1	79,1	1037,3	370,2	230,5

Legenda: /- vsebnost aminokislinske je bila 0 mg/L

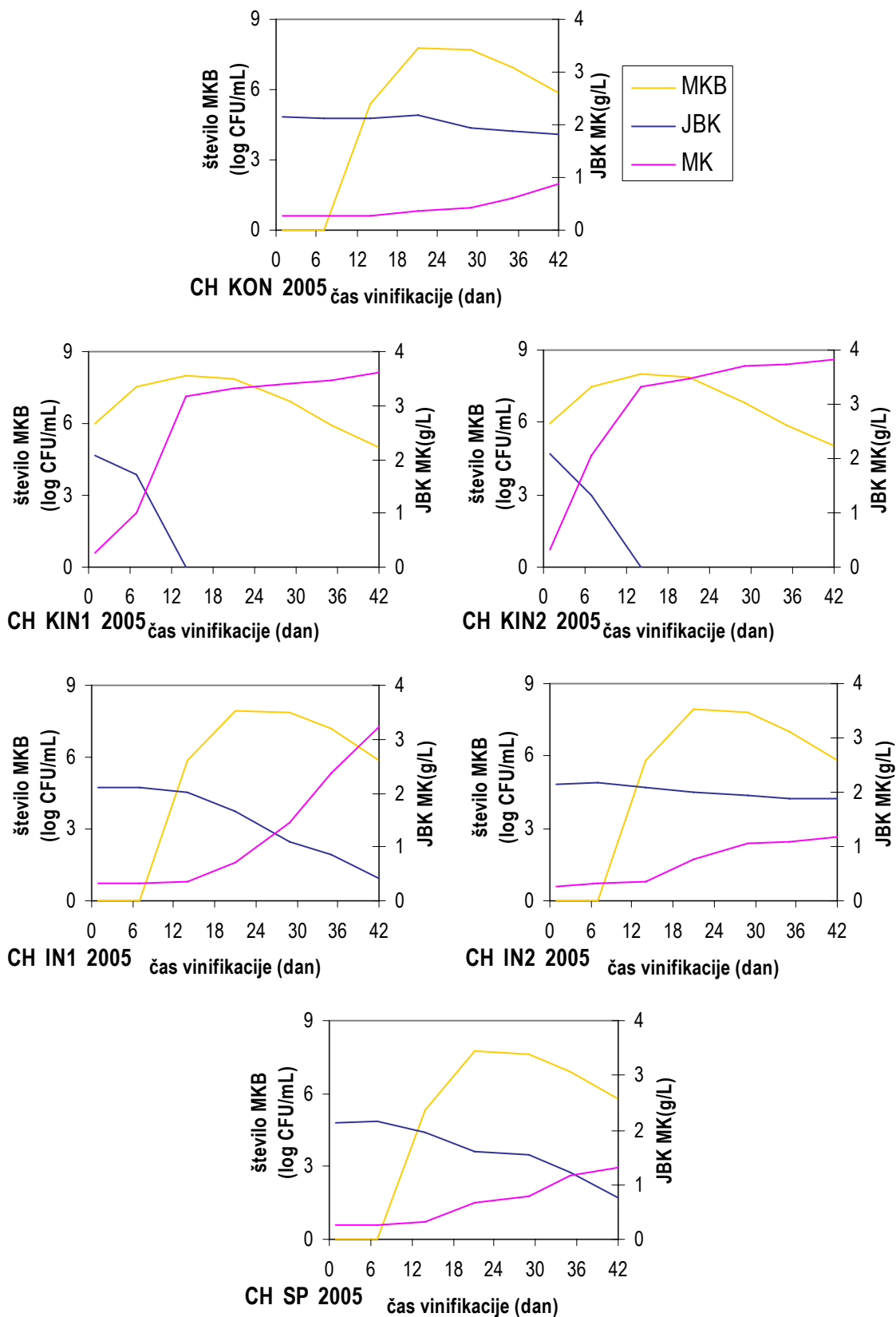
Priloga B15: Rast kvasovk med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



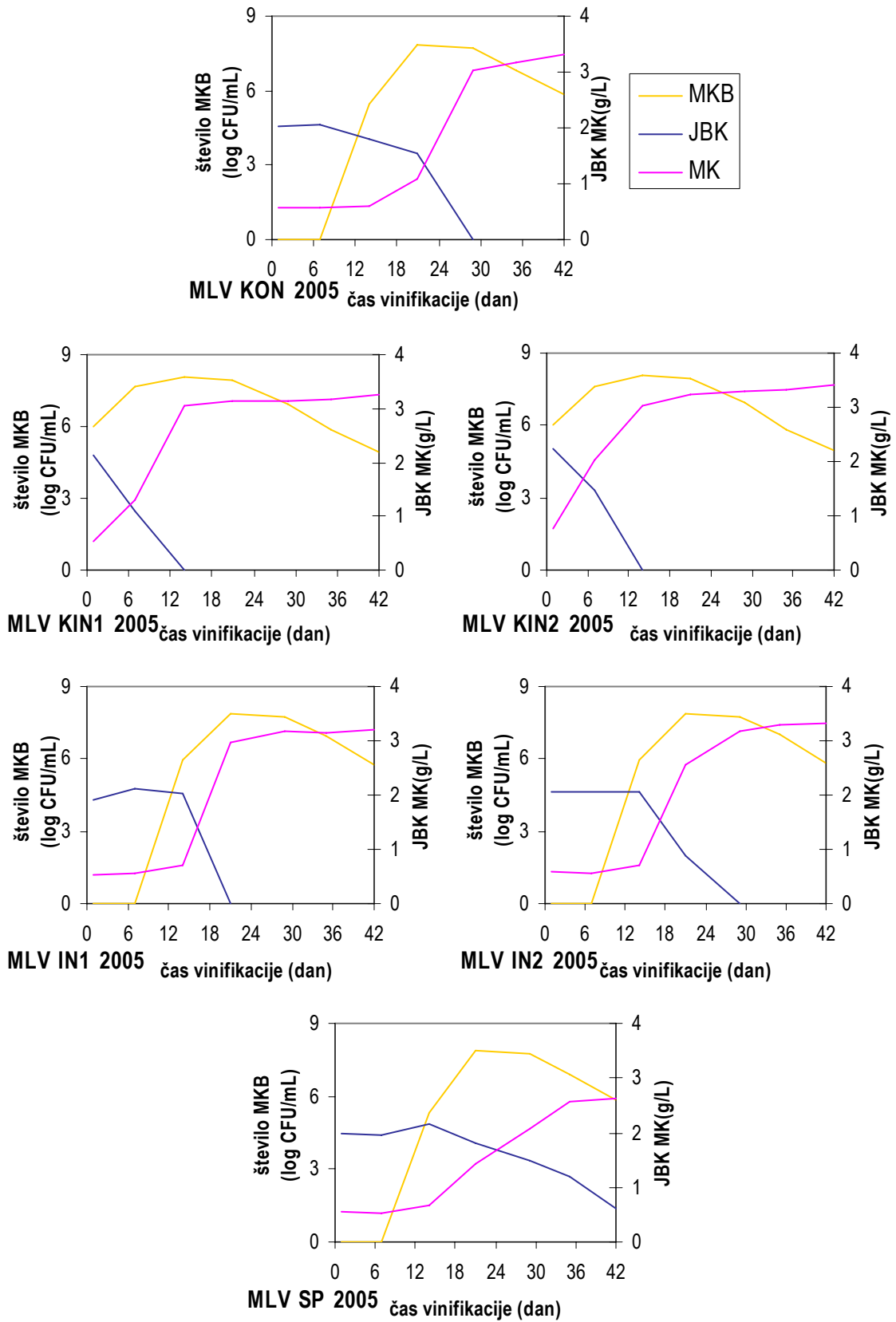
Priloga B16: Rast mlečnokislinskih bakterij med vinifikacijami vin chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



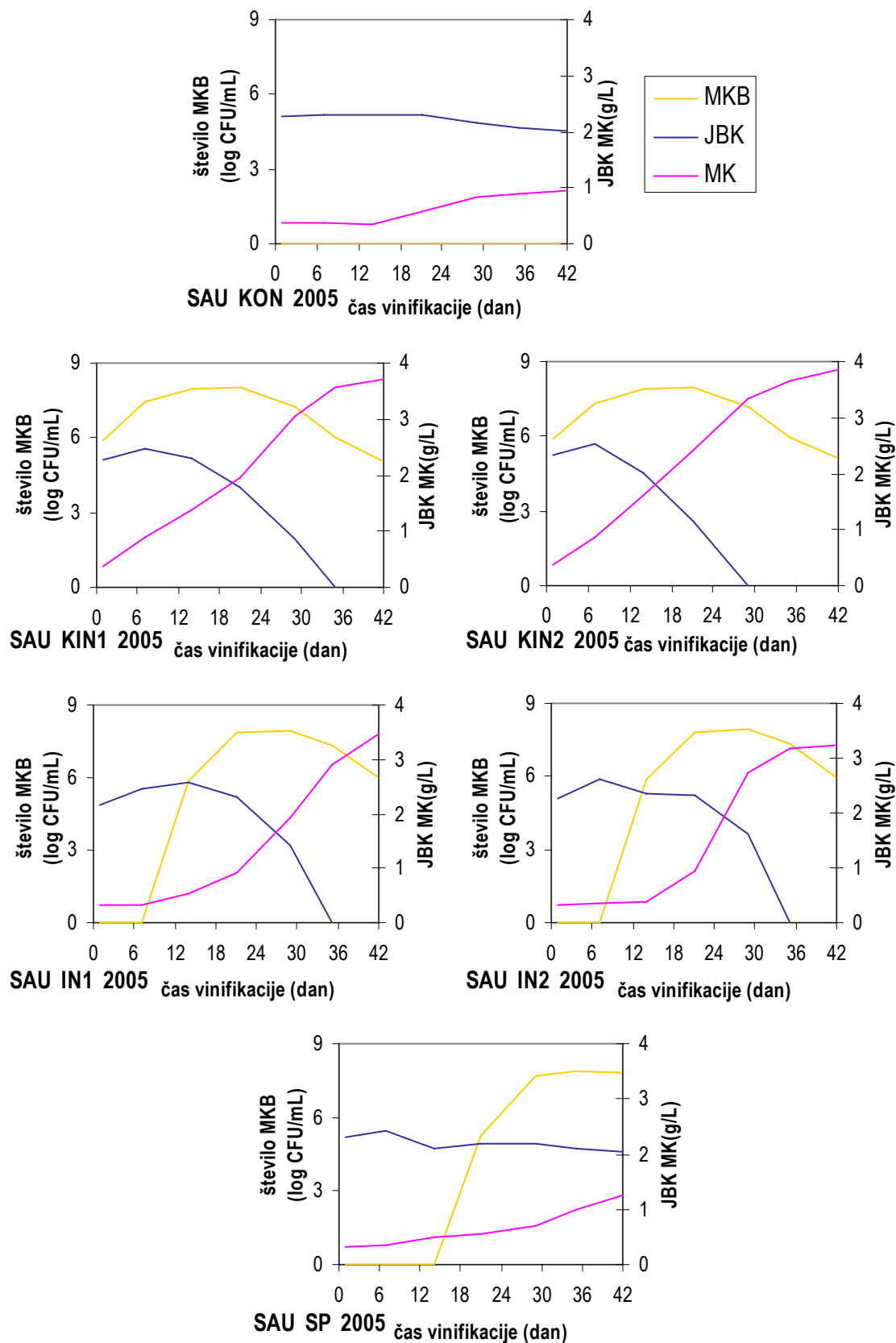
Priloga B17: Spremljanje rasti mlečnokislinskih bakterij ter vsebnosti jabolčne in mlečne kisline med vinifikacijami vin chardonnay letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



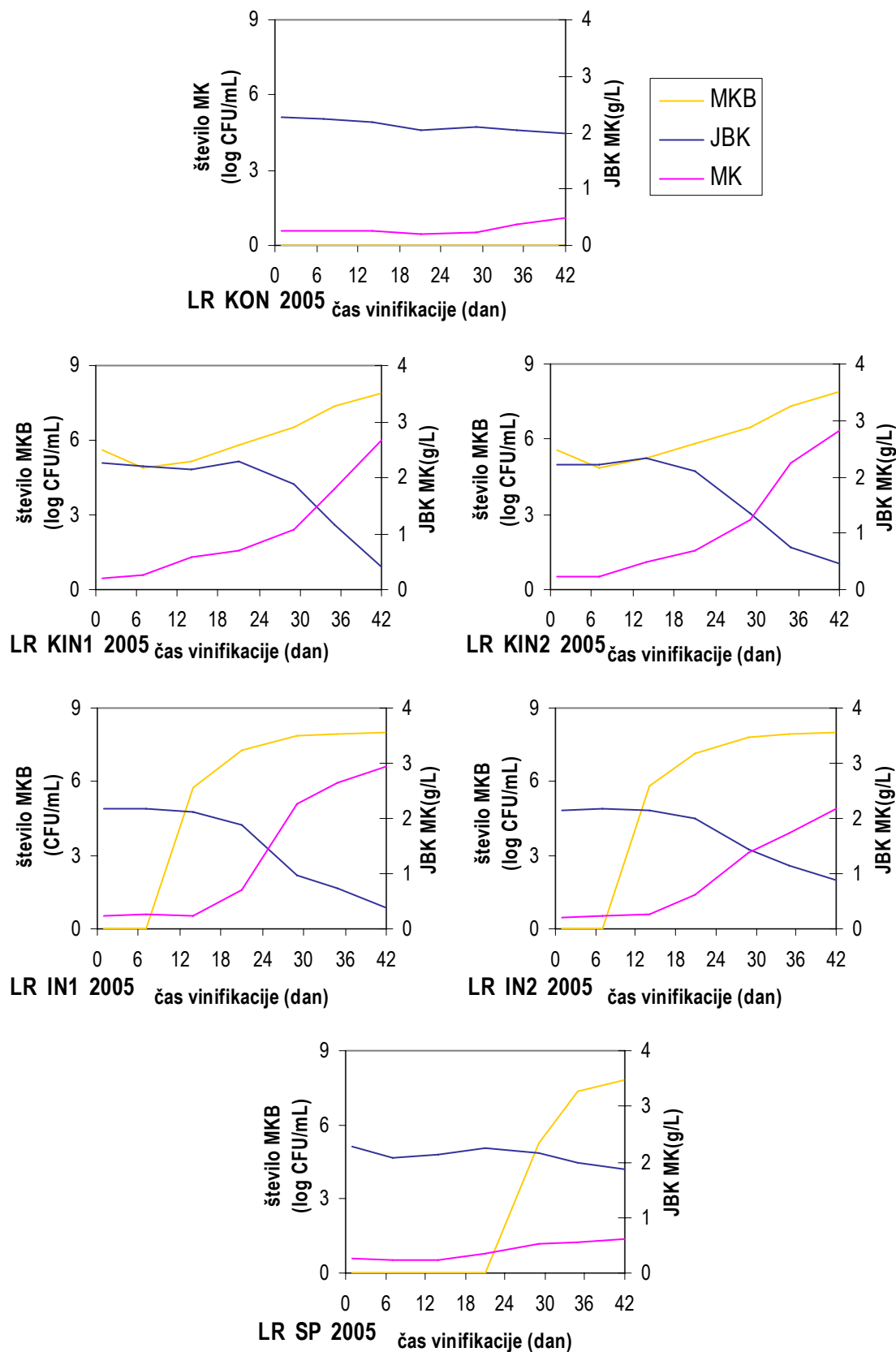
Priloga B18: Spremljanje rasti mlečnokislinskih bakterij ter vsebnosti jabolčne in mlečne kisline med vinifikacijami vin malvazija letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



Priloga B19: Spremljanje rasti mlečnokislinskih bakterij ter vsebnosti jabolčne in mlečne kisline med vinifikacijami vin sauvignon letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini



Priloga B20: Spremljanje rasti mlečnokislinskih bakterij ter vsebnosti jabolčne in mlečne kisline med vinifikacijami vin laški rizling letnika 2005 v 28 L fermentacijski prostornini





Priloga C1: Primerjava kemijski parametrov moštov chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (enota)	CH 2004	CH 2005	MLV 2004	MLV 2005	SAU 2004	SAU 2005	LR 2004	LR 2005
pH	3,43 a	3,37 b	3,22 b	3,42 a	3,14 b	3,22 a	3,18 a	3,13 b
TK1 (g/L)	6,05 b	6,48 a	7,48 a	5,79 b	8,89 a	6,55 b	9,47 a	7,04 b
TK2 (g/L)	6,29 b	6,76 a	7,75 a	6,05 b	9,12 a	6,77 b	9,77 a	7,28 b
PK (mmol/L na pH)	47,80 a	46,48 b	49,38 a	47,52 b	48,90 a	38,99 b	58,86 a	32,39 b
HK (g/L)	0,30 a	0,16 b	0,08 a	0,12 a	0,11 a	0,14 a	0,36 a	0,20 b
VK (g/L)	1,32 a	1,11 b	1,63 a	1,12 b	2,01 a	1,10 b	1,93 a	1,19 b
JBK (g/L)	4,38 a	2,13 b	4,72 a	1,95 b	5,75 a	2,29 b	5,89 a	2,23 b
MK (g/L)	0,51 a	0,28 b	0,49 b	0,53 a	0,65 a	0,31 b	0,15 b	0,24 a
CK (mg/L)	412 b	419 a	348 b	479 a	445 b	457 a	635 a	368 b
JK (mg/L)	381 a	123 b	303 a	123 b	354 a	301 b	511 a	175 b
ŠK (mg/L)	50 a	30 b	51 a	32 b	25 a	25 a	20 a	12 b
sladkor (°Oe)	91 a	84 b	84 a	82 a	85 a	77 b	84 a	84 a
glukoza (g/L)	98,49 a	94,62 b	94,67 a	91,57 b	95,17 a	85,25 b	92,92 a	91,46 b
fruktoza (g/L)	109,14 a	97,38 b	98,84 a	95,88 b	99,63 a	88,72 b	98,68 a	95,47 b
saharoza (g/L)	0,53 a	0,53 a	0,43 a	0,44 a	0,39 b	0,46 a	0,81 a	0,77 b
SF (mg/L)	126 b	230 a	156 b	230 a	250 a	219 b	368 a	144 b
FAN (mg N/L)	96 a	92 b	66 a	50 b	240 a	193 b	265 a	94 b

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralelke je statistično neznačilen

Priloga C2: Primerjava kemijskih parametrov mladih in zorenih vin chardonnay letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (enota)	vzorec	KON 2004	KON 2005	KIN1 2004	KIN1 2005	KIN2 2004	KIN2 2005	IN1 2004	IN1 2005	IN2 2004	IN2 2005
pH	mlado vino	3,76 a	3,57 b	3,75 a	3,74 a	3,75 a	3,74 a	3,76 a	3,72 b	3,74 a	3,62 b
	zoreno vino	3,78 a	3,60 b	3,77 a	3,76 a	3,78 a	3,74 b	3,78 a	3,77 a	3,77 a	3,64 b
TK1 (g/L)	mlado vino	4,49 b	6,21 a	4,70 a	4,47 b	4,73 a	4,51 b	4,79 b	5,01 a	4,70 b	5,56 a
	zoreno vino	4,19 b	5,27 a	4,27 a	4,07 b	4,17 a	4,11 a	4,19 a	3,94 b	4,15 b	4,84 a
TK2 (g/L)	mlado vino	4,76 b	6,39 a	4,99 a	4,75 b	5,06 a	4,84 b	5,06 b	5,29 a	4,94 b	5,97 a
	zoreno vino	4,46 b	5,68 a	4,65 a	4,46 b	4,67 a	4,48 b	4,70 a	4,33 b	4,42 b	5,24 a
PK (mmol/L na pH)	mlado vino	59,21 a	47,70 b	56,57 a	53,90 b	56,12 a	53,89 b	55,37 a	54,00 b	56,52 a	49,21 b
	zoreno vino	59,54 a	56,21 b	58,70 b	59,19 a	59,56 a	59,13 a	59,52 b	63,66 a	58,67 a	56,53 b
HK (g/L)	mlado vino	0,40 a	0,35 a	0,38 a	0,41 a	0,47 a	0,46 a	0,41 a	0,45 a	0,45 b	0,52 a
	zoreno vino	0,55 a	0,39 b	0,59 a	0,45 b	0,65 a	0,48 b	0,69 a	0,49 b	0,72 a	0,55 b
VK (g/L)	mlado vino	0,81 a	0,50 b	0,70 a	0,48 b	0,76 a	0,41 b	0,70 a	0,51 b	0,79 a	0,51 b
	zoreno vino	0,76 a	0,48 b	0,66 a	0,49 b	0,74 a	0,42 b	0,64 a	0,49 b	0,62 a	0,52 b
JBK (g/L)	mlado vino	0,29 b	1,82 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 b	0,42 a	0,00 b	1,89 a
	zoreno vino	0,00 b	1,53 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
MK (g/L)	mlado vino	4,41 a	0,88 b	4,60 a	3,61 b	4,75 a	3,81 b	4,86 a	3,24 b	4,95 a	1,17 b
	zoreno vino	4,61 a	1,06 b	4,62 a	3,65 b	4,79 a	3,85 b	4,85 a	3,61 b	4,86 a	3,76 b
CK (mg/L)	mlado vino	61 b	379 a	238 a	181 b	0 a	0 a	0 b	267 a	0 b	195 a
	zoreno vino	0 b	312 a	0 a	149 b	0 a	0 a	0 b	135 a	0 b	112 a
JK (mg/L)	mlado vino	0 b	74 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
	zoreno vino	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 b
ŠK (mg/L)	mlado vino	60 a	40 b	62 a	40 b	63 a	40 b	64 a	40 b	63 a	40 b
	zoreno vino	62 a	42 b	61 a	41 b	61 a	42 b	63 a	40 b	62 a	41 b
RS (g/L)	mlado vino	0,66 b	2,55 a	0,61 b	1,25 a	0,71 b	1,15 a	0,51 b	1,10 a	0,71 b	0,95 a
	zoreno vino	0,55 b	1,55 a	0,50 b	0,91 a	0,58 b	0,97 a	0,45 b	0,76 a	0,52 b	0,81 a
SE (g/L)	mlado vino	24,8 a	22,7 b	23,2 a	21,3 b	23,0 a	21,1 b	22,7 a	20,9 b	22,6 a	20,7 b
	zoreno vino	22,2 a	19,3 b	20,9 a	18,4 b	20,6 a	18,4 b	20,3 a	18,2 b	20,0 a	18,1 b
alkohol (vol.%)	mlado vino	12,51 a	11,40 b	12,59 a	11,59 b	12,57 a	11,57 b	12,56 a	11,53 b	12,59 a	11,50 b
	zoreno vino	12,53 a	11,59 b	12,56 a	11,45 b	12,54 a	11,60 b	12,51 a	11,56 b	12,55 a	11,58 b
glukoza (g/L)	mlado vino	0,53 b	0,91 a	0,45 b	0,72 a	0,46 a	0,46 a	0,41 b	0,57 a	0,43 b	0,86 a
	zoreno vino	0,46 b	0,50 a	0,40 b	0,49 a	0,40	0,36 b	0,36 b	0,58 a	0,39 b	0,49 a
fruktoza (g/L)	mlado vino	0,42 b	1,20 a	0,43 a	0,38 b	0,41 a	0,19 b	0,23 b	0,56 a	0,24 b	0,94 a
	zoreno vino	0,30 b	1,08 a	0,32 a	0,19 b	0,34 b	0,49 b	0,20 b	0,71 a	0,20 a	0,12 b
saharoza (g/L)	mlado vino	0,24	0,38	0,23 a	0,38 b	0,26 b	0,36 a	0,24 b	0,36 a	0,24 b	0,38 a
	zoreno vino	0,22 b	0,31 a	0,22 b	0,33 a	0,25 a	0,19 a	0,26 b	0,34 a	0,21 b	0,31 a
glicerol (g/L)	mlado vino	7,24 a	7,19 a	7,26 a	7,18 b	7,44 a	7,24 b	7,45 a	7,17 b	7,44 a	7,24 b
	zoreno vino	7,15 a	7,11 a	7,18 a	7,10 a	7,32 a	7,16 b	7,35 a	7,07 b	7,33 a	7,14 b
SF (mg/L)	mlado vino	88 b	154 a	76 b	139 a	73 b	134 a	67 b	126 a	70 b	130 a
	zoreno vino	72 b	131 a	66 b	113 a	64 b	109 a	58 b	106 a	59 b	110 a
FAN (mg N/L)	mlado vino	8 a	6 a	11 a	10 a	10 a	8 a	13 a	11 a	11 a	11 a
	zoreno vino	9 a	7 a	13 a	9 b	12 a	9 b	14 a	10 b	13 a	12 a

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralele je statistično neznačilen

Priloga C3: Primerjava kemijski parametrov mladih in zorenih vin malvazija letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (enota)	vzorec	KON 2004	KON 2005	KIN1 2004	KIN1 2005	KIN2 2004	KIN2 2005	IN1 2004	IN1 2005	IN2 2004	IN2 2005
pH	mlado vino	3,55 b	3,62 a	3,56 b	3,65 a	3,56 b	3,65 a	3,55 b	3,63 a	3,54 b	3,68 a
	zoreno vino	3,61 b	3,65 a	3,66 a	3,65 a	3,67 a	3,64 b	3,67 a	3,65 b	3,65 a	3,67 a
TK1 (g/L)	mlado vino	4,77 a	4,23 b	4,66 a	4,20 b	4,60 a	4,29 b	4,79 a	4,29 b	4,74 a	4,03 b
	zoreno vino	4,24 a	4,13 a	4,18 a	4,06 a	4,10 a	4,08 a	4,30 a	3,99 b	4,21 a	3,84 b
TK2 (g/L)	mlado vino	5,01 a	4,62 b	4,92 a	4,47 b	4,88 b	4,57 a	5,04 a	4,59 b	4,98 a	4,31 b
	zoreno vino	4,54 a	4,43 a	4,39 a	4,37 a	4,36 a	4,40 a	4,48 a	4,30 b	4,42 a	4,19 b
PK (mmol/L na pH)	mlado vino	57,40 a	45,7 b	59,26 a	46,80 b	60,30 b	46,66 a	57,11 a	46,71 b	57,92 a	48,18 b
	zoreno vino	58,37 a	46,81 b	59,18 a	48,41 b	59,34 a	48,03 b	59,30 a	50,22 b	59,03 a	51,01 b
HK (g/L)	mlado vino	0,54 a	0,46 b	0,56 a	0,48 b	0,58 a	0,57 a	0,51 a	0,52 a	0,58 a	0,60 a
	zoreno vino	0,64 a	0,49 b	0,69 a	0,52 b	0,72 a	0,59 b	0,73 a	0,55 b	0,77 a	0,63 b
VK (g/L)	mlado vino	0,92 a	0,42 b	0,91 a	0,49 b	0,85 a	0,51 b	0,97 a	0,49 b	0,90 a	0,55 b
	zoreno vino	0,89 a	0,40 b	0,86 a	0,48 b	0,80 a	0,53 b	0,90 a	0,51 b	0,87 a	0,48 b
JBK (g/L)	mlado vino	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
	zoreno vino	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
MK (g/L)	mlado vino	4,73 a	3,32 b	4,89 a	3,27 b	4,97 a	3,42 b	4,98 a	3,19 b	4,93 a	3,33 b
	zoreno vino	4,76 a	3,36 b	4,83 a	3,27 b	4,91 a	3,46 b	4,94 a	3,42 b	4,96 a	3,39 b
CK (mg/L)	mlado vino	79 a	67 b	0 b	86 a	0 a	0 a	0 b	221 a	0 b	222 a
	zoreno vino	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 b	134 a	0 b	201 a
JK (mg/L)	mlado vino	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 b	0 a	0 a	0 a
	zoreno vino	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
ŠK (mg/L)	mlado vino	60 a	46 b	59 a	46 b	58 a	46 b	58 a	46 b	57 a	46 b
	zoreno vino	58 a	44 b	60 a	44 b	59 a	46 b	58 a	44 b	59 a	43 b
RS (g/L)	mlado vino	0,41 b	2,30 a	0,51 b	0,90 a	0,46 b	1,00 a	0,66 a	0,70 a	0,58 b	0,85 a
	zoreno vino	0,40 b	1,63 a	0,45 b	0,90 a	0,40 b	1,02 a	0,50 b	0,70 a	0,50 b	0,85 a
SE (g/L)	mlado vino	18,5 b	20,9 a	18,1 b	19,1 a	18,0 b	18,8 a	17,7 b	18,5 a	17,8 b	18,5 a
	zoreno vino	17,6 b	18,1 a	17,1 b	17,7 a	16,9 b	17,3 a	16,5 b	17,0 a	16,6 a	17,0 a
alkohol (vol.%)	mlado vino	11,60 a	11,51 b	11,53 b	11,67 a	11,56 a	11,62 a	11,54 b	11,63 a	11,51 b	11,59 a
	zoreno vino	11,53 a	11,40 b	11,45 b	11,62 a	11,44 b	11,53 a	11,46 b	11,62 a	11,43 b	11,55 a
glukoza (g/L)	mlado vino	0,57 b	0,71 a	0,55 b	1,04 a	0,54 b	0,96 a	0,51 b	0,80 a	0,52 b	0,84 a
	zoreno vino	0,51 a	0,44 b	0,48 a	0,33 b	0,45 a	0,44 a	0,43 a	0,36 b	0,44 a	0,35 b
fruktoza (g/L)	mlado vino	0,41 b	0,67 a	0,54 a	0,53 a	0,54 a	0,58 a	0,51 b	0,62 a	0,49 b	0,59 a
	zoreno vino	0,38 b	1,16 a	0,45 a	0,40 b	0,40 a	0,42 a	0,45 a	0,46 a	0,42 a	0,46 a
saharoza (g/L)	mlado vino	0,24 b	0,33 a	0,16 b	0,33 a	0,24 b	0,35 a	0,23 b	0,34 a	0,21 b	0,37 a
	zoreno vino	0,23 a	0,28 a	0,19 b	0,28 a	0,24 b	0,33 a	0,24 a	0,29 a	0,23 b	0,30 a
glicerol (g/L)	mlado vino	6,44 a	6,31 b	6,52 a	6,27 b	6,39 a	6,24 b	6,35 a	6,29 a	6,32 a	6,26 b
	zoreno vino	6,34 a	6,23 b	6,42 a	6,20 b	6,32 a	6,17 b	6,28 a	6,15 b	6,26 a	6,14 b
SF (mg/L)	mlado vino	114 b	163 a	102 b	147 a	99 b	149 a	94 b	135 a	92 b	133 a
	zoreno vino	94 b	138 a	88 b	126 a	83 b	124 a	79 b	119 a	68 b	114 a
FAN (mg N/L)	mlado vino	4 a	4 a	5 a	4 a	6 a	5 a	5 a	5 a	5 a	6 a
	zoreno vino	4 a	4 a	5 a	4 a	5 a	5 a	5 a	5 a	6 a	5 a

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralelke je statistično neznačilen

Priloga C4: Primerjava kemijskih parametrov mladih in zorenih vin sauvignon letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (enota)	vzorec	KON 2004	KON 2005	KIN1 2004	KIN1 2005	KIN2 2004	KIN2 2005	IN1 2004	IN1 2005	IN2 2004	IN2 2005
pH	mlado vino	3,20 b	3,30 a	3,29 b	3,51 a	3,27 b	3,51 a	3,22 b	3,50 a	3,22 b	3,51 a
	zoreno vino	3,34 a	3,32 a	3,38 b	3,53 a	3,37 b	3,53 a	3,37 b	3,53 a	3,38 b	3,54 a
TK1 (g/L)	mlado vino	8,13 a	7,12 b	6,57 a	5,22 b	7,30 a	5,16 b	7,52 a	5,08 b	7,58 a	5,17 b
	zoreno vino	7,15 a	6,64 b	6,01 a	4,78 b	6,51 a	4,63 b	6,69 a	4,69 b	6,75 a	4,64 b
TK2 (g/L)	mlado vino	8,33 a	7,40 b	6,88 a	5,58 b	7,58 a	5,50 b	7,91 a	5,34 b	7,78 a	5,46 b
	zoreno vino	7,66 a	6,97 b	6,39 a	5,18 b	7,05 a	5,03 b	7,29 a	5,06 b	7,16 a	4,99 b
PK (mmol/L na pH)	mlado vino	53,67 a	36,23 b	61,17 a	44,41 b	59,55 a	44,58 b	57,81 a	43,46 b	57,35 a	44,97 b
	zoreno vino	58,12 a	38,85 b	61,81 a	48,50 b	60,75 a	49,68 b	60,69 a	49,57 b	60,78 a	50,11 b
HK (g/L)	mlado vino	0,92 a	0,35 b	0,57 a	0,41 b	0,59 a	0,47 b	0,44 a	0,46 a	0,45 b	0,53 a
	zoreno vino	0,96 a	0,37 b	0,63 a	0,44 b	0,65 a	0,48 b	0,69 a	0,48 b	0,73 a	0,55 b
VK (g/L)	mlado vino	1,87 a	0,84 b	1,58 a	0,86 b	1,85 a	0,81 b	1,85 a	0,86 b	1,89 a	0,76 b
	zoreno vino	1,73 a	0,69 b	1,63 a	0,60 b	1,72 a	0,63 b	1,80 a	0,73 b	1,81 a	0,66 b
JBK (g/L)	mlado vino	4,77 a	2,01 b	0,98 a	0,00 b	1,97 a	0,00 b	2,92 a	0,00 b	2,76 a	0,00 b
	zoreno vino	2,35 a	1,57 b	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
MK (g/L)	mlado vino	1,58 a	0,95 b	4,61 a	3,70 b	3,86 a	3,87 a	3,21 b	3,46 a	3,32 a	3,23 b
	zoreno vino	3,29 a	2,64 b	5,09 a	3,86 b	5,13 a	3,97 b	4,92 a	3,84 b	5,03 a	3,88 b
CK (mg/L)	mlado vino	413 b	450 a	125 b	167 a	252 a	56 b	364 a	111 b	332 a	212 b
	zoreno vino	179 b	390 a	0 b	123 a	0 a	0 a	51 a	0 b	47 b	156a
JK (mg/L)	mlado vino	173 b	249 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	17 a	0 b
	zoreno vino	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
ŠK (mg/L)	mlado vino	32 a	31 a	38 a	30 b	35 a	30 b	35 a	30 b	35 a	29 b
	zoreno vino	35 a	32 b	36 a	32 b	35 a	32 b	37 a	32 b	37 a	32 b
RS (g/L)	mlado vino	0,31 b	1,25 a	0,31 b	0,82 a	0,36 b	0,91 a	0,31 b	0,70 a	0,31	0,75 ab
	zoreno vino	0,35 b	1,10 a	0,30 b	0,74 a	0,30 b	0,80 a	0,30 b	0,63 a	0,28 b	0,68 a
SE (g/L)	mlado vino	27,7 a	25,3 b	25,4 a	24,2 b	25,2 a	23,5 b	25,0 a	22,9 b	24,9 a	22,6 b
	zoreno vino	25,6 a	23,9 b	23,6 a	21,2 b	23,3 a	21,1 b	23,1 a	20,8 b	23,1 a	20,6 b
alkohol (vol.%)	mlado vino	11,64 a	10,23 b	11,59 a	10,37 b	11,61 a	10,37 b	11,57 a	10,33 b	11,59 a	10,31 b
	zoreno vino	11,59 a	10,17 b	11,55 a	10,31 b	11,68 a	10,33 b	11,54 a	10,30 b	11,56 a	10,27 b
glukoza (g/L)	mlado vino	1,36 a	1,04 b	1,23 a	0,65 b	1,36 a	0,63 b	1,09 a	0,65 b	1,34 a	0,69 b
	zoreno vino	0,74 a	0,49 b	0,62 a	0,46 b	0,60 a	0,46 b	0,57 a	0,54 a	0,58 a	0,50 b
fruktoza (g/L)	mlado vino	1,07 a	0,87 b	0,64 a	0,35 b	0,80 a	0,36 b	0,83 a	0,40 b	0,81 a	0,42 b
	zoreno vino	0,47 b	0,85 a	0,41 a	0,21 b	0,45 a	0,21 b	0,39 a	0,19 b	0,39 a	0,18 b
saharozna (g/L)	mlado vino	0,22 b	0,34 a	0,19 b	0,33 a	0,24 b	0,33 a	0,20 b	0,30 a	0,23 a	0,29 a
	zoreno vino	0,19 b	0,25 a	0,19 b	0,26 a	0,22 a	0,24 a	0,22 a	0,26 a	0,22 a	0,26 a
glicerol (g/L)	mlado vino	6,81 a	6,15 b	6,79 a	6,22 b	6,85 a	6,12 b	6,84 a	6,23 b	6,80 a	6,24 b
	zoreno vino	6,76 a	6,02 b	6,73 a	6,18 b	6,74 a	6,07 b	6,72 a	6,17 b	6,70 a	6,14 b
SF (mg/L)	mlado vino	164 a	147 b	150 a	131 b	148 a	128 b	137 a	117 b	133 a	115 b
	zoreno vino	138 a	124 b	126 a	114 b	129 a	110 b	116 a	98 b	110 a	101 b
FAN (mg N/L)	mlado vino	19 a	12 b	25 a	19 b	23 a	18 b	27 a	19 b	26 a	20 b
	zoreno vino	23 a	10 b	26 a	17 b	25 a	15 b	25 a	17 b	28 a	19 b

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralele je statistično neznačilen

Priloga C5: Primerjava kemijskih parametrov mladih in zorenih vin sorte laški rizling letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (enota)	vzorec	KON 2004	KON 2005	KIN1 2004	KIN1 2005	KIN2 2004	KIN2 2005	IN1 2004	IN1 2005	IN2 2004	IN2 2005
pH	mlado vino	3,43 a	3,25 b	3,44 a	3,41 b	3,45 a	3,38 b	3,44 a	3,42 a	3,44 a	3,36 b
	zoreno vino	3,45 a	3,19 b	3,46 a	3,38 b	3,45 a	3,37 b	3,46 a	3,40 b	3,46 a	3,33 b
TK1 (g/L)	mlado vino	6,26 b	7,10 a	6,24 a	5,57 b	6,31 a	5,58 b	6,23 a	5,35 b	6,29 a	5,76 b
	zoreno vino	5,73 b	6,66 a	5,68 a	4,93 b	5,77 a	4,91 b	5,72 a	4,84 b	5,70 a	5,27 b
TK2 (g/L)	mlado vino	6,54 b	7,47 a	6,58 a	5,97 b	6,57 a	5,94 b	6,48 a	5,72 b	6,57 a	6,10 b
	zoreno vino	6,13 b	6,95 a	6,19 a	5,28 b	6,14 a	5,24 b	6,17 a	5,18 b	6,19 a	5,60 b
PK (mmol/L na pH)	mlado vino	49,04 a	37,66 b	49,33 a	39,57 b	48,34 a	37,31 b	49,47 a	39,75b	48,62 a	36,53 b
	zoreno vino	49,35 a	40,15 b	49,47 a	44,71 b	49,31 a	42,40 b	49,49 a	43,94 b	49,45 a	39,92 b
HK (g/L)	mlado vino	2,04 a	0,39 b	0,75 a	0,51 b	0,52 a	0,56 a	0,56 a	0,54 a	0,59 a	0,60 a
	zoreno vino	2,24 a	0,42 b	0,80 a	0,54 b	0,60 a	0,58 a	0,62 a	0,56b	0,66 a	0,64 a
VK (g/L)	mlado vino	1,30 a	0,77 b	1,18 a	0,67 b	1,15 a	0,86 b	1,11 a	0,87 b	1,24 a	0,83 b
	zoreno vino	1,23 a	0,71 b	1,20 a	0,72 b	1,12 a	0,73 b	1,16 a	0,71 b	1,14 a	0,73 b
JBK (g/L)	mlado vino	0,00 b	1,98 a	0,00 b	0,42 a	0,00 b	0,45 a	0,00 b	0,37 a	0,00 b	0,88 a
	zoreno vino	0,00 b	1,78 a	0,00 b	0,31 a	0,00 b	0,24 a	0,00 b	0,29 a	0,00 b	0,33a
MK (g/L)	mlado vino	5,18 a	0,49 b	5,29 a	2,66 b	5,31 a	2,81 b	5,28 a	2,95 b	5,25 a	2,17 b
	zoreno vino	5,25 a	1,20 b	5,31 a	2,89 b	5,21 a	2,99 b	5,27 a	3,02 b	5,29 a	2,28 b
CK (mg/L)	mlado vino	0 b	354 a	0 b	245 a	0 b	267 a	0 b	178 a	0 b	275 a
	zoreno vino	0 b	338 a	0 b	227 a	0 b	245 a	0 b	139 a	0 b	212 a
JK (mg/L)	mlado vino	0 b	146 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
	zoreno vino	0 b	104 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
ŠK (mg/L)	mlado vino	30 a	20 b	29 a	21 b	31 a	20 b	29 a	20 b	29 a	19 b
	zoreno vino	29 a	20 b	31 a	20 b	30 a	19 b	29 a	19 b	30 a	19 b
RS (g/L)	mlado vino	0,26 b	1,10 a	0,41 b	1,00 a	0,28 b	0,95 a	0,28 b	1,15 a	0,26 b	0,95 a
	zoreno vino	0,30 a	1,10 b	0,35 b	0,64 a	0,30 b	0,55 a	0,25 b	0,52 a	0,25 b	0,45 a
SE (g/L)	mlado vino	19,3 b	22,9 a	18,7 b	21,1 a	18,5 b	20,9 a	18,1 b	20,8 a	18,0 b	20,6 a
	zoreno vino	18,1 a	20,1 b	17,6 b	18,9 a	17,5 b	18,5 a	17,0 b	18,2 a	16,8 b	18,1 a
alkohol (vol.%)	mlado vino	11,63 a	11,31 b	11,56 a	11,48 b	11,57 a	11,53 a	11,55 a	11,49 b	11,56 a	11,44 b
	zoreno vino	11,55 a	11,29 b	11,50 a	11,50a	11,52 a	11,51 a	11,51 a	11,51 a	11,53 a	11,53 a
glukoza (g/L)	mlado vino	0,74 b	0,98 a	0,71 a	0,63 b	0,74 a	0,69 b	1,07 a	0,47 b	0,98 a	0,69 b
	zoreno vino	0,57 a	0,55 a	0,51 a	0,52 a	0,47 a	0,49 a	0,53 a	0,49 a	0,60 a	0,46 b
fruktoza (g/L)	mlado vino	0,78 b	1,49 a	0,79 a	0,32 b	0,85 a	0,39 b	0,74 a	0,23 b	0,70 a	0,73 a
	zoreno vino	0,43 b	1,33 a	0,42 a	0,14 b	0,42 a	0,12 b	0,41 a	0,38 a	0,39 a	0,42 a
saharaza (g/L)	mlado vino	0,63 a	0,54 b	0,57 a	0,55 a	0,68 a	0,52 b	0,64 a	0,51 b	0,65 a	0,54 b
	zoreno vino	0,60 a	0,30 b	0,57 a	0,29 b	0,63 a	0,30 b	0,62 a	0,29 b	0,61 a	0,29 b
glicerol (g/L)	mlado vino	6,55 a	6,36 b	6,47 a	6,28 b	6,58 a	6,21 b	6,63 a	6,26 b	6,69 a	6,28 b
	zoreno vino	6,43 a	6,13 b	6,40 a	6,39 a	6,54 a	6,51 a	6,55 a	6,32 b	6,58 a	6,27 b
SF (mg/L)	mlado vino	214 a	102 b	195 a	89 b	189 a	92 b	179 a	80 b	174 a	77 b
	zoreno vino	183 a	87 b	166 a	78 b	161 a	79 b	154 a	67 b	152 a	63 b
FAN (mg N/L)	mlado vino	14 a	4 b	20 a	7 b	18 a	6 b	21 a	7 b	22 a	7 b
	zoreno vino	15 a	5 b	19 a	6 b	20 a	6 b	23 a	7 b	21 a	6 b

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralelke je statistično neznačilen

Priloga C6: Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih sorte chardonnay letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (mg/L)	vzorec	KON 2004	KON 2005	KIN1 2004	KIN1 2005	KIN2 2004	KIN2 2005	IN1 2004	IN1 2005	IN2 2004	IN2 2005
izoamil alkohol	mlado vino	202,0 a	149,5 b	182,9 b	201,5 a	189,4 a	162,1 b	233,6 a	157,1 b	229,3 a	157,4 b
	zoreno vino	196,9 a	137,5 b	197,2 a	158,8 b	191,3 a	163,5 b	236,9 a	163,9 b	231,1 a	166,1 b
1-propanol	mlado vino	34,4 b	44,6 a	31,0 b	46,7 a	33,6 b	42,4 a	30,2 a	23,2 b	29,7 a	24,3 b
	zoreno vino	33,0 a	22,3 b	33,3 a	23,5 b	33,8 a	25,4 b	31,3 a	24,8 b	31,7 a	25,0 b
izobutanol	mlado vino	23,0 a	21,6 b	19,8 b	32,9 a	22,2 b	24,8 a	26,9 a	16,5 b	25,8 a	16,5 b
	zoreno vino	22,3 a	14,4 b	21,7 a	16,5 b	22,3 a	17,7 b	27,1 a	17,4 b	26,2 a	17,7 b
2-fenil etanol	mlado vino	21,1 a	13,3b	18,9 a	19,9 a	20,0 a	14,3 b	28,7 a	17,4 b	26,8 a	20,9 b
	zoreno vino	22,1 a	16,9 b	25,9 a	23,3 b	24,7 a	22,3 b	33,5 a	21,4 b	38,7 a	24,1 b
metanol	mlado vino	65,0 a	46,1 b	57,4 a	49,9 b	60,8 a	45,6 b	65,3 a	39,4 b	63,6 a	40,5 b
	zoreno vino	63,6 a	39,7 b	62,8 a	41,7 b	61,7 b	44,1 a	65,9 a	42,6 b	66,7 a	43,0 b
etil laktat	mlado vino	7,2 a	2,1 b	6,6 a	2,9 b	2,7 b	13,5 a	9,3 a	4,5 b	8,0 a	6,0 b
	zoreno vino	13,0 a	3,9 b	24,0 a	7,8 b	25,7 a	3,9 b	10,1 a	4,1 b	10,8 a	5,2 b
metil laktat	mlado vino	0,0 a	0,0 a	0,0 b	3,9 a	0,0 a	0,0 a	0,0 b	3,5 a	0,0 a	0,0 a
	zoreno vino	6,3 a	0,0 b	5,8 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
izoamil acetat	mlado vino	1,6 b	3,7 a	0,6 b	3,0 a	1,3 b	3,7 a	0,6 b	2,5 a	0,1 b	2,4 a
	zoreno vino	1,3 b	2,4 a	1,0 b	2,5 a	1,1 a	2,7 a	0,4 b	2,8 a	0,2 b	2,5 a
etil acetat	mlado vino	24,8 b	38,7 a	12,3 b	31,5 a	30,0 b	35,8 a	20,1 b	31,2 a	13,2 b	29,5 a
	zoreno vino	35,4 a	26,8 b	32,6 a	32,3 a	22,9 b	35,7 a	35,2 a	35,1 a	25,6 b	33,8 a
acetaldehid	mlado vino	18,1 b	26,4 a	28,5 a	18,4 b	34,2 a	16,4 b	27,6 a	8,8 b	29,9 a	15,2 b
	zoreno vino	76,0 a	18,5 b	79,7 a	16,0 b	85,3 a	32,8 b	87,2 a	18,4 b	89,3 a	24,8 b
2-fenil etilacetat	mlado vino	0,5 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 b	1,9 a	0,0 a	0,0 a
	zoreno vino	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
diacetil	mlado vino	3,4 a	0,4 b	1,2 a	0,7 b	0,4 a	0,5 a	2,0 a	1,6 b	0,5 a	0,7 a
	zoreno vino	0,5 b	2,3 a	0,4 a	0,5 a	0,6 b	2,0 a	1,9 a	2,1 a	2,1 a	1,4 b
acetoin	mlado vino	7,4 a	6,2 b	6,5 b	7,2 a	6,9 a	7,2 a	6,0 a	6,2 a	6,3 b	7,1 a
	zoreno vino	6,9 a	6,3 a	6,2 a	6,2 a	7,3 a	7,1 a	7,8 b	9,1 a	7,5 a	6,1 b

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralele je statistično neznačilen

Priloga C7: Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih malvazija letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (mg/L)	vzorec	KON 2004	KON 2005	KIN1 2004	KIN1 2005	KIN2 2004	KIN2 2005	IN1 2004	IN1 2005	IN2 2004	IN2 2005
izoamil alkohol	mlado vino	207,7 a	159,4 b	227,0 a	181,8 b	205,1 a	173,4 b	206,9 a	186,6 b	204,6 a	166,6 b
	zoreno vino	214,6 a	166,8 b	223,1 a	176,0 b	208,9 a	167,9 b	209,3 a	180,7 b	192,4 a	186,2 b
1-propanol	mlado vino	25,0 a	16,8 b	25,9 a	17,6 b	24,1 a	16,8 b	24,1 a	16,6 b	24,5 a	16,0 b
	zoreno vino	25,7 a	20,2 b	25,5 a	18,0 b	25,1 a	17,1 b	25,4 a	16,6 b	23,3 a	18,2 b
izobutanol	mlado vino	17,6 a	13,7 b	19,7 a	16,5 b	17,0 a	17,5 a	17,1 a	17,6 a	17,2 a	16,5 b
	zoreno vino	18,1 a	15,2 b	19,6 a	17,1 b	17,7 a	16,3 b	17,8 a	16,8 b	16,2 b	18,4 a
2-fenil etanol	mlado vino	19,5 a	21,9 b	22,8 b	29,6 a	23,7 a	22,8 a	22,4 b	37,8 a	22,1 b	24,4 a
	zoreno vino	26,0 a	20,6 b	28,5 a	28,0 a	29,5 a	20,3 b	27,7 b	38,7 a	23,3 b	28,5 a
metanol	mlado vino	64,7 a	47,2 b	66,3 a	46,2 b	62,8 a	49,2 b	66,0 a	51,5 b	66,5 a	48,7 b
	zoreno vino	65,0 a	49,9 b	65,8 a	53,0 b	65,9 a	49,3 b	68,0 a	51,6 b	63,3 a	53,6 b
etil laktat	mlado vino	6,2 a	5,3 b	6,8 b	15,2 a	6,5 a	6,7 a	7,0 b	8,7 a	7,3 a	3,5 b
	zoreno vino	2,2 a	2,3 a	4,7 b	5,5 a	2,5 b	4,4 a	8,7 a	3,1 b	6,5 a	5,3 b
metil laktat	mlado vino	0,0 b	4,4 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
	zoreno vino	8,6 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	6,9 a	0,0 b	0,0 b	4,2 a	0,0 a	0,0 a
izoamil acetat	mlado vino	0,6 b	1,6 a	1,1	1,4	0,7 b	1,5 a	0,9 b	1,4 a	0,8 b	1,5 a
	zoreno vino	1,1 b	1,7 a	1,0 a	1,4 a	0,9 a	1,4 a	0,8 a	0,7 a	0,8 b	1,0 a
etil acetat	mlado vino	16,0 b	28,1 a	26,9 b	27,2 a	15,6 b	26,4 a	24,1 b	30,0 a	21,0 b	28,1 a
	zoreno vino	31,0 b	31,7 a	26,4 a	26,1 b	27,1 a	26,2 b	30,8 a	20,7 b	22,2 b	29,7 a
acetaldehid	mlado vino	41,5 a	11,4 b	49,1 a	10,3 b	53,2 a	12,3 b	48,8 a	10,0 b	55,1 a	12,0 b
	zoreno vino	77,6 a	15,4 b	83,9 a	11,1 b	85,3 a	13,2 b	75,0 a	19,3 b	78,7 a	19,6 b
2-fenil etilacetat	mlado vino	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
	zoreno vino	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,2 a	0,0 a	0,4 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
diacetil	mlado vino	1,7 b	2,9 a	0,5 b	1,9 a	0,6 b	1,5 a	1,9 a	1,4 b	1,8 a	1,3 b
	zoreno vino	1,8 a	2,0 a	1,6 b	2,7 a	1,5 b	1,9 a	2,6 a	2,1 b	2,8 a	1,5 b
acetoin	mlado vino	6,2 b	7,6 a	6,0 b	7,7 a	6,2 b	6,9 a	7,3 a	7,0 a	7,0 b	8,2 a
	zoreno vino	6,0 a	6,2 a	7,3 a	7,0 a	6,2 a	6,0 a	7,0 a	7,7 b	6,8 b	8,1 a

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralele je statistično neznačilen

Priloga C8: Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih sorte sauvignon letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (mg/L)	vzorec	KON 2004	KON 2005	KIN1 2004	KIN1 2005	KIN2 2004	KIN2 2005	IN1 2004	IN1 2005	IN2 2004	IN2 2005
izoamil alkohol	mlado vino	199,1 a	146,2 b	249,1 a	175,8 b	172,0 a	159,1 b	194,3 a	177,5 b	170,5 a	148,5 b
	zoreno vino	187,1 a	141,2 b	192,5 a	184,7 b	183,1 a	115,4 b	179,2 a	174,8 b	172,1 a	160,5 b
1-propanol	mlado vino	37,2 a	24,7 b	36,4 a	25,8 b	32,4 a	24,8 b	36,6 b	40,2 a	32,3 b	40,1 a
	zoreno vino	37,5 b	42,6 a	27,6 b	43,2 a	33,3 b	39,7 a	36,0 b	39,7 a	32,0 b	42,6 a
izobutanol	mlado vino	26,3 a	15,6 b	33,8 a	18,7 b	22,4 a	17,1 b	25,9 b	31,2 a	22,1 b	23,3 a
	zoreno vino	25,3 a	20,5 b	25,4 b	30,0 a	23,9 a	20,3 b	23,7 b	30,7 a	22,7 b	24,9 a
2-fenil etanol	mlado vino	15,2 b	18,1 a	24,8 a	24,9 a	14,8 b	23,8 a	13,9 b	23,1 a	15,6 a	17,0 a
	zoreno vino	21,1 a	16,0 b	21,2 a	22,2 a	17,7 a	8,5 b	18,2 a	18,7 a	17,2 a	16,1 b
metanol	mlado vino	32,5 b	39,3 a	31,8 b	44,7 a	29,0 b	42,6 a	30,1 b	46,0 a	29,2 b	45,2 a
	zoreno vino	30,1 b	45,4 a	25,6 b	49,8 a	30,8 b	37,5 a	31,0 b	45,9 a	29,6 b	48,9 a
etil laktat	mlado vino	2,9 b	9,7 a	25,3 a	5,9 b	9,7 a	9,7 a	16,5 a	10,9 b	6,3 b	10,4 a
	zoreno vino	3,9 a	2,6 b	23,2 a	3,4 b	22,5 a	4,1 b	2,3 b	6,4 a	3,6 b	6,1 a
metil laktat	mlado vino	4,5 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	4,8 a	0,0 b	0,0 b	3,8 a	0,0 b	3,5 a
	zoreno vino	5,4 a	4,4 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	5,1 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a
izoamil acetat	mlado vino	2,7 a	2,9 b	1,6 b	3,0 a	2,5 a	2,8 a	2,1 a	1,6 b	0,1 b	3,1 a
	zoreno vino	1,6 b	3,2 a	0,1 b	2,2 a	2,7 b	3,6 a	0,2 b	1,3 a	0,8 b	2,6 a
etil acetat	mlado vino	38,3 a	36,1 b	29,4 b	36,1 a	32,9 b	34,3 a	35,8 a	22,2 b	19,4 b	32,4 a
	zoreno vino	48,9 a	34,8 b	18,8 b	28,9 a	38,7 b	41,3 a	41,3 a	17,9 b	35,9 a	30,9 b
acetaldehid	mlado vino	44,3 a	16,7 b	51,6 a	7,7 b	49,2 a	7,4 b	46,5 a	11,3 b	43,8 a	20,3 b
	zoreno vino	71,7 a	25,4 b	73,5 a	18,3 b	82,2 a	29,9 b	79,2 a	19,9 b	83,6 a	21,5 b
2-fenil etilacetat	mlado vino	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	1,8 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a
	zoreno vino	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 b	0,8 a	0,0 a	0,0 a
diacetil	mlado vino	2,4 a	0,5 b	3,5 a	0,7 b	2,1 a	0,4 b	1,7 a	0,6 b	1,3 a	1,3 a
	zoreno vino	2,6 a	0,3 b	3,4 a	3,6 a	2,5 a	2,5 a	1,4 a	0,5 b	1,1 b	1,8 a
acetoin	mlado vino	5,5 b	6,1 a	6,2 a	6,2 a	6,9 a	7,0 a	7,5 a	6,2 b	6,5 b	8,5 a
	zoreno vino	6,8 a	6,3 a	7,2 a	6,2 b	7,6 a	6,3 b	5,9 b	10,3 a	6,1 b	6,8 a

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralele je statistično neznačilen



Priloga C9: Primerjava vsebnosti hlapnih spojin v mladih in zorenih vinih sorte laški rizling letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter (mg/L)	vzorec	KON 2004	KON 2005	KIN1 2004	KIN1 2005	KIN2 2004	KIN2 2005	IN1 2004	IN1 2005	IN2 2004	IN2 2005
izoamil alkohol	mlado vino	192,7 a	121,2 b	189,3 a	117,5 b	177,5 a	127,2 b	127,3 b	131,0 a	186,0 a	116,4 b
	zoreno vino	183,8 a	127,8 b	178,2 a	118,8 b	175,8 a	123,6 b	176,9 a	133,3 b	176,5 a	118,7 b
1-propanol	mlado vino	45,9 a	38,9 b	36,0 b	39,9 a	46,2 a	40,1 b	30,5 b	40,7 a	43,8 a	40,3 b
	zoreno vino	43,7 a	41,5 b	33,8 b	40,3 a	45,7 a	38,9 b	41,6 a	41,4 a	42,0 a	41,3 a
izobutanol	mlado vino	56,4 a	19,2 b	58,6 a	20,2 b	47,7 a	22,5 b	32,8 a	23,7 b	54,7 a	20,5 b
	zoreno vino	53,7 a	20,1 b	55,1 a	20,4 b	47,0 a	21,8 b	51,9 a	23,9 b	52,0 a	20,5 b
2-fenil etanol	mlado vino	17,1 a	9,4 b	18,5 a	6,6 b	15,0 a	9,0 b	15,3 a	7,9 b	11,8 a	6,6 b
	zoreno vino	22,5 a	9,1 b	19,0 a	8,0 b	21,4 a	8,5 b	19,3 a	9,3 b	16,9 a	8,8 b
metanol	mlado vino	45,6 a	38,1 b	42,5 a	37,0 b	42,0 a	38,9 b	31,7 b	38,5 a	42,4 a	37,7 b
	zoreno vino	45,2 a	39,0 b	41,0 a	38,2 b	42,5 a	37,9 b	42,8 a	40,2 b	41,8 a	38,9 b
etil laktat	mlado vino	5,3 a	4,9 a	20,8 a	2,6 b	2,0 a	2,0 a	4,0 b	4,5 a	3,9 a	3,5 b
	zoreno vino	2,9 a	1,8 b	31,5 a	4,3 b	26,5 a	4,1 b	12,8 a	4,8 b	17,8 a	4,0 b
metil laktat	mlado vino	0,0 a	0,0 a	0,0 b	4,3 a	0,0 a	0,0 a	0,0 b	4,1 a	0,0 a	0,0 a
	zoreno vino	6,2 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 b	4,4 a	0,0 a	0,0 a
izoamil acetat	mlado vino	0,6 b	2,9 a	0,7 b	3,7 a	0,8 b	3,7 a	0,1 b	4,0 a	0,9 b	3,8 a
	zoreno vino	0,7 b	3,2 a	0,9 b	3,4 a	0,6 b	3,3 a	0,9 b	3,6 a	1,1 b	3,6 a
etil acetat	mlado vino	13,6 b	33,5 a	15,0 b	42,6 a	13,5 b	43,5 a	2,5 b	42,9 a	15,4 b	40,8 a
	zoreno vino	16,7 b	39,7 a	15,8 b	40,7 a	11,7 b	35,9 a	17,4 b	41,6 a	24,6 b	41,9 a
acetaldehid	mlado vino	19,3 b	37,2 a	25,6 b	31,4 a	35,1 a	31,6 b	32,8 a	27,5 b	38,6 a	34,1 b
	zoreno vino	52,3 a	36,0 b	66,3 a	28,8 b	67,4 a	27,5 b	74,0 a	25,8 b	69,6 a	31,2 b
2-fenil etilacetat	mlado vino	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	1,6 a	0,0 b	0,0 a	0,0 a
	zoreno vino	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
diacetil	mlado vino	1,7 b	2,5 a	1,5 b	3,1 a	1,4 b	3,1 a	1,6 b	3,4 a	1,4 b	2,8 a
	zoreno vino	2,6 a	0,5 b	1,1 b	2,4 a	0,6 b	2,4 a	2,2 b	3,2 a	0,5 b	2,9 a
acetoin	mlado vino	7,2 a	6,3 b	7,8 a	7,5 a	6,7 a	6,2 a	6,9 b	8,3 a	7,1 a	6,4 b
	zoreno vino	7,6 a	6,4 b	8,0 a	6,7 b	7,3 a	6,2 b	6,5 b	8,6 a	6,8 b	8,4 a

Legenda: skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; vpliv paralele je statistično neznačilen

Priloga C10: Regresijski koeficient (r) med kemijskimi parametri mladih in zorenih vin letnikov 2004 in 2005 iz poskusa v 28 L fermentacijski prostornini

Parameter	pH	TK1	TK2	PK	HK	VK	JBK	MK	CK	JK	ŠK
pH	1,00	-0,87 ***	-0,87 ***	0,29 ***	-0,20 *	-0,73 ***	-0,85 ***	0,29 ***	-0,49 **	-0,42 **	0,88 ***
TK1		1,00	0,99 ***	-0,14 nz	0,20 *	0,78 ***	0,78 ***	-0,30 ***	0,53 ***	0,52 ***	-0,58 ***
TK2			1,00	-0,18 nz	0,20 *	0,75 ***	0,78 ***	-0,31 ***	0,53 ***	0,51 ***	-0,60 ***
PK				1,00	-0,02 nz	0,34 ***	-0,05 nz	0,58 ***	-0,40 ***	-0,30 ***	0,73 ***
HK					1,00	0,29 ***	0,05 nz	0,11 nz	-0,13 nz	-0,06 nz	-0,20 **
VK						1,00	0,52 ***	0,23 **	0,13 nz	0,14 nz	-0,22 *
JBK							1,00	-0,63 ***	0,78 ***	0,81 ***	-0,34 ***
MK								1,00	-0,82 ***	-0,54 ***	0,48 ***
CK									1,00	0,59 ***	-0,49 ***
JK										1,00	-0,23 **
ŠK											1,00

se nadaljuje

Parameter	RS	SE	alkohol	glukoza	fruktoza	saharozna	glicerol	SF	FAN	izoamil alkohol
pH	0,26 **	-0,25 **	0,20 *	-0,29 ***	0,00 nz	-0,21 *	0,41 ***	-0,25 **	-0,43 ***	0,19 *
TK1	-0,30 ***	0,40 ***	-0,08 nz	0,28 **	-0,01 nz	0,21 **	0,00 nz	0,32 **	0,57 *	-0,13 nz
TK2	-0,31 ***	0,39 ***	-0,08 nz	0,27 **	-0,02 nz	0,23 **	0,00 nz	0,31 ***	0,57 ***	-0,14 nz
PK	-0,15 ***	0,03 nz	0,39 ***	-0,06 nz	-0,08 nz	-0,80 ***	-0,59 ***	0,01 nz	0,02 nz	0,89 ***
HK	-0,04 nz	-0,11 nz	-0,08 nz	0,17 *	0,19 nz	0,33 ***	-0,12 nz	0,40 ***	0,13 nz	-0,01 nz
VK	-0,43 ***	0,28 ***	0,11 nz	0,13 nz	-0,18 nz	-0,09 nz	0,08 nz	0,31 ***	0,51 ***	0,31 ***
JBK	0,00 nz	0,81 ***	-0,10 nz	0,48 ***	0,23 **	-0,18 nz	0,08 nz	0,09 nz	0,40 ***	-0,20 *
MK	-0,38 ***	-0,45 ***	0,43 ***	-0,49 ***	-0,43 ***	-0,08 nz	0,19 nz	0,13 nz	0,05 nz	0,88 ***
CK	0,20 **	0,57 ***	-0,26 **	0,46 ***	0,29 ***	-0,05 nz	-0,14 nz	-0,09 nz	-0,28 **	-0,49 ***
JK	0,02 nz	0,40 ***	-0,20 *	0,19 *	0,08 nz	-0,02 nz	-0,10 nz	0,14 nz	0,05 nz	-0,15 nz
ŠK	-0,14 nz	0,42 ***	-0,24 **	-0,08 nz	0,18 nz	-0,84 ***	0,44 ***	-0,28 ***	-0,34 ***	0,82 ***
RS	1,00	0,33 ***	-0,39 ***	0,64 ***	0,83 ***	0,02 nz	-0,15 nz	-0,02 nz	-0,21 nz	-0,50 ***
SE		1,00	-0,24 **	0,48 ***	0,38 ***	-0,35 ***	0,22 *	-0,11 nz	0,39 ***	-0,18 nz
alkohol			1,00	-0,48 ***	-0,53 ***	-0,08 nz	0,45 ***	-0,18 *	-0,23 **	0,56 ***
glukoza				1,00	0,88 ***	0,02 nz	-0,23 **	0,23 **	0,38 ***	-0,49 ***
fruktoza					1,00	0,05 nz	-0,19 nz	0,05 nz	0,14 nz	-0,54 ***
saharozna						1,00	-0,22 **	0,39 ***	-0,01 nz	-0,48 ***
glicerol							1,00	-0,12 nz	0,00 nz	0,36 ***
SF								1,00	0,23 **	0,09 nz
FAN									1,00	-0,08 nz
izoamil alkohol										1,00

se nadaljuje

Parameter	1-propanol	izobutanol	2-fenil etanol	metanol	etil laktat	izoamil acetat	etil acetat	acetaldehid	diacetil	acetoin
pH	-0,34 ***	-0,20 *	0,49 ***	0,88 ***	-0,19 nz	-0,22 **	-0,21 *	-0,48 ***	0,09 nz	0,15 nz
TK1	0,46 ***	0,31 ***	-0,54 ***	-0,87 ***	0,11 nz	0,19 *	0,11 nz	0,43 ***	-0,22 **	-0,21 *
TK2	0,48 ***	0,30 ***	-0,55 ***	-0,88 ***	0,11 nz	0,22 *	0,13 nz	0,43 ***	-0,21 *	-0,19 *
PK	-0,10 nz	0,09 nz	0,38 ***	0,38 ***	0,30 ***	-0,80 ***	-0,50 ***	0,42 ***	-0,32 ***	-0,08 nz
HK	0,15 nz	0,46 ***	-0,12 nz	-0,12 nz	-0,04 nz	-0,11 nz	-0,14 nz	0,02 nz	0,01 nz	-0,04 nz
VK	0,38 ***	0,41 ***	-0,23 **	-0,41 ***	0,29 ***	-0,22 *	-0,20 *	0,83 ***	-0,22 *	-0,13 nz
JBK	0,10 nz	-0,15 nz	-0,39 ***	-0,55 ***	0,00 nz	0,31 ***	0,34 ***	0,28 **	-0,29 **	-0,18 *
MK	0,11 nz	0,49 ***	0,39 ***	0,48 ***	0,22 **	-0,90 ***	-0,88 ***	0,28 **	0,03 nz	0,05 nz
CK	0,02 nz	-0,35 ***	-0,38 ***	-0,54 ***	-0,13 nz	0,59 ***	0,58 ***	-0,04 nz	-0,08 nz	-0,09 nz
JK	0,06 nz	-0,12 nz	-0,18 nz	-0,23 **	-0,08 nz	0,23 **	0,23 **	0,04 nz	-0,13 nz	-0,23 **
ŠK	-0,43 ***	-0,24 ***	0,82 ***	0,81 ***	0,05 nz	-0,80 ***	-0,49 ***	0,12 nz	-0,09 nz	-0,03 nz
RS	-0,40 ***	-0,29 **	0,18 **	-0,10 nz	0,20 nz	0,25 **	-0,33 ***	0,10 nz	0,10 nz	0,08 nz
SE	0,04 nz	-0,21 *	-0,07 nz	-0,38 ***	0,20 **	0,32 ***	0,35 ***	-0,08 nz	-0,23 **	-0,13 nz
alkohol	0,24 **	0,21 **	0,18 *	0,39 ***	0,00 nz	-0,28 ***	-0,21 **	0,37 ***	0,25 **	0,08 nz
glukoza	-0,35 ***	-0,11 nz	-0,05 nz	-0,45 ***	0,08 nz	0,11 nz	0,14 nz	-0,08 nz	-0,21 *	-0,09 nz
fruktoza	-0,41 ***	-0,16 nz	-0,01 nz	-0,18 nz	-0,09 nz	0,07 nz	0,11 nz	-0,19 nz	-0,11 nz	-0,11 nz
saharozna	0,41 ***	0,52 ***	-0,45 ***	-0,39 ***	-0,30 ***	0,24 ***	0,02 nz	-0,19 nz	0,39 ***	0,13 nz
glicerol	0,28 ***	0,12 nz	0,00 nz	0,14 nz	0,02 nz	-0,18 *	-0,23 **	0,08 nz	-0,21 *	0,12 nz
SF	0,12 nz	0,58 ***	0,08 nz	-0,43 ***	0,18 **	-0,20 **	-0,28 ***	-0,16 nz	-0,22 *	0,03 nz
FAN	0,14 nz	0,29 ***	-0,24 **	-0,43 ***	0,25 **	-0,02 nz	-0,12 nz	0,10 nz	-0,40 ***	-0,05 nz
izoamil alkohol	0,10 nz	0,30 ***	0,55 ***	0,52 ***	0,42 ***	-0,54 ***	-0,42 ***	0,38 ***	-0,20 ***	-0,04 ***
1-propanol	1,00	0,81 ***	-0,53 ***	0,24 **	0,01 nz	0,28 **	0,08 nz	0,30 ***	0,07 nz	-0,01 nz
izobutanol		1,00	-0,09 nz	-0,14 nz	0,20 *	-0,30 ***	-0,42 ***	0,14 nz	-0,05 nz	0,03 nz
2-fenil etanol			1,00	0,52 ***	0,31 ***	-0,48 ***	-0,29 ***	-0,22 **	-0,13nz	0,09 nz
metanol				1,00	-0,14 nz	-0,42 ***	-0,30***	0,08 nz	0,11 nz	0,02 nz
etil laktat					1,00	-0,15 nz	-0,08 nz	0,15 nz	-0,23 **	0,08 nz
izoamil acetat						1,00	0,92 ***	-0,21 *	0,15 nz	0,23 **
etil acetat							1,00	-0,14 nz	0,13 nz	0,19 *
acetaldehid								1,00	-0,03 nz	-0,14 nz
diacetil									1,00	0,39 ***
acetoin										1,00

Legenda: r>0,70 tesna korelacija, r>0,90 zelo tesna korelacija; \*\*\* P≤0,001 statistično zelo visoko značilna korelacija; \*\* P≤0,01 statistično visoko značilna korelacija; \* P≤0,05 statistično značilna korelacija; nz - P>0,05 statistično neznačilna korelacija

Priloga D1: Dodana količina  $K_2S_2O_5$  v mlada vina chardonnay, malvazija, sauvignon in laški rizling letnikov 2004 in 2005 poskusa v 28 L fermentacijski prostornini za doseg prostega  $SO_2$  50 mg/L na osnovi linije vezave  $SO_2$

vinifikacija	$K_2S_2O_5$ (g/hL)							
	CH 2004	CH 2005	MLV 2004	MLV 2005	SAU 2004	SAU 2005	LR 2004	LR 2005
KON	20	15	14	16	10	11	20	10
KIN1	20	19	16	16	13	13	12	12
KIN2	20	19	16	16	13	13	12	12
IN1	20	18	16	16	13	13	12	12
IN2	20	17	16	17	13	13	12	12
PS/SP	/	22	/	20	8	15	15	15

Priloga E1: Fermentorji za izpeljavo fermentacij s prostornino 28 L (A) in 500 mL (B)



A



B