

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Katarina BAŠA

**VPLIV ŠKROPLJENJA IN DODATKOV HRANILNIH SNOVI NA
POTEK ALKOHOLNE FERMENTACIJE MOŠTA BELIH VINSKIH
SORT**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2008

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Katarina BAŠA

**VPLIV ŠKROPLJENJA IN DODATKOV HRANILNIH SNOVI NA POTEK
ALKOHOLNE FERMENTACIJE MOŠTA BELIH VINSKIH SORT**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**THE INFLUENCE OF GRAPE SPRAYING AND ADDITIONS OF YEAST
NUTRIENTS ON THE ALCOHOLIC FERMENTATION COURSE OF WHITE
VINE VARIETIES**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2008

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v laboratoriju Katedre za vinarstvo na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Odbor za študijske zadeve Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenoval doc. dr. Tatjano Košmerl in za recenzenta doc. dr. Rajka Vidriha.

Mentorica: doc. dr. Tatjana Košmerl

Recenzent: doc. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Katarina Baša

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
DK UDK 634.852.05+663.221:663.252.3/4:543.06(043)=163.6
KG škropljenje grozdja / zaščitna sredstva / mošt / rebula / kemijska sestava mošta / vinske kvasovke / hranilne snovi za kvasovke / alkoholna fermentacija / vino / kemijska sestava vina / senzorične lastnosti / kakovost vina
AV BAŠA, Katarina
SA KOŠMERL, Tatjana (mentorica)/VIDRIH, Rajko (recenzent)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2008
IN VPLIV ŠKROPLJENJA IN DODATKOV HRANILNIH SNOVI NA POTEK ALKOHOLNE FERMENTACIJE MOŠTA BELIH VINSKIH SORT
TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP XI, 70 str., 17 pregl., 36 slik, 5 pril., 41 ref.
IJ sl
JI sl/en
AL Namen diplomske naloge je bil raziskati vpliv različnih zaščitnih sredstev in dodatka hranilnih snovi na fermentacijo in posledično končno kakovost vina bele vinske sorte rebula letnik 2002 iz vinorodnega okoliša Goriška Brda. Vinograd je bil škropljen po treh različnih škropilnih načrtih: škropljenje s sredstvi za zaščito vinske trte, predpisanimi s Pravilnikom o integrirani pridelavi grozdja in vina (IPGV) (vzorec »klasično«), kombinacija škropljenja s prej omenjenimi sredstvi in biološkim pripravkom »Kanne« (vzorec »biotično«), kontrolno škropljenje s sredstvi po IPGV, zadnja tri škropljenja pa izpuščena (vzorec »kontrola«). Po trgatvi je sledil tehnološki del naloge: pecljanje, drozganje, maceracija, stiskanje in samobistrenje mošta. V nadaljevanju je bil poskus zastavljen z različnimi dodatki hrane za kvasovke v mošt v primerjavi s kontrolo (brez hranil) in je zajemal tudi vrsto fizikalno-kemijskih analiz grozdnega soka, mošta in vina v posameznih tehnoloških fazah. Za ugotavljanje vpliva dodatka hranil smo spremljali fermentacijsko kinetiko na osnovi oddanega CO₂, vsebnosti reducirajočih sladkorjev, prostega aminokislinskega dušika in prolina. V moštu, mlademu vinu po pretoku, vinu po treh in po šestih mesecih zorenja smo poleg navedenih parametrov spremljali še več fizikalno-kemijskih parametrov ter pridelana vina tudi senzorično ocenili. Ugotovili smo, da škropljenje vpliva na sestavo mošta in sicer je imel vzorec »kontrola« v primerjavi z ostalima dvema vzorcema najnižjo sladkorno stopnjo, najmanjšo vsebnost prolina in aminokislinskega dušika. Vpliv škropljenja na potek alkoholne fermentacije je zanemarljiv, v vinu pa škropljenje vpliva na koncentracijo skupnih kislin, koncentracijo prostega SO₂, fenolnih spojin in alkohola. Vzorci z izpuščenimi zadnjimi tremi škropljenji so bili tudi senzorično najslabše ocenjeni. Dodatek hranil za kvasovke vpliva na hitrost porabe sladkorjev. Tako fermentirana vina imajo bistveno manjši preostanek sladkorja in večjo koncentracijo prolina takoj po zaključeni fermentaciji, manjše koncentracije skupnih kislin, prostega in vezanega SO₂, po drugi strani pa večje koncentracije aminokislinskega dušika, skupnih terpenov, potencialnih hlapnih monoterpenov in prostih hlapnih terpenov ter višjih alkoholov. Dodatek hranil ima zelo izrazit vpliv na senzorično kakovost vin. Vzorci, kjer smo uporabili hranila so bili boljše ocenjeni kot vzorec, ki mu nismo dodali hranil.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
DC UDC 634.852.05+663.221:663.252.3/4:543.06(043)=163.6
CX grape spraying / protective agents / musts / rebula / chemical composition of must / yeasts / yeast nutrients / alcoholic fermentation / wines / chemical composition of wine / sensory properties / quality of wine
AU BAŠA, Katarina
AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/ VIDRIH, Rajko (reviewer)
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2008
TI THE INFLUENCE OF GRAPE SPRAYING AND ADDITIONS OF YEAST NUTRIENTS ON THE ALCOHOLIC FERMENTATION COURSE OF WHITE VINE VARIETIES
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 70 p., 17 tab., 36 fig, 5 ann., 41 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The main purpose of this graduation thesis was to evaluate the effects of different phytopharmaceutical agents and the additions yeast nutrients on the fermentation and its influence on final quality of white wine Rebula, year 2002, from vinegrowing district Goriška Brda. The vineyard was sprayed by a three different spraying schemes. Spraying with phytopharmaceutical agents to protect vine tree according to the regulations of the integrated productions of grape and wine (IPGV) (sample »classic«) the combination of spraying with above mentioned means and biological agent »Kanne« (sample »biotic«), control spraying with means prescribed by IPGV, the last three sprayings were omitted (sample »control«). After harvest the technological part of the research followed: stemming, crushing, maceration, pressing and must clarification. In continuation of the experiment we added different yeast nutrients to the must in comparison to control (without nutrients) and we carried out also several physical and chemical analysis of must and wine in each technological stages. To measure the influence of added nutrients we followed the kinetic of fermentation on the basis of released carbon dioxide and concentrations of sugars, free amino nitrogen and proline. In the must, young wine after the first racking, wine of three and six months maturation we analysed already mentioned parameters and also some other physical and chemical ones and wines sensory evaluated. The results showed that spraying influenced the composition of the must: the sample control had the lowest sugar concentration, less proline and free aminonitrogen. The spraying had no significant effect on course of alcoholic fermentation, but in the wine the titratable acids, free sulphur dioxide, total phenols and alcohol were affected. The same samples had also the lowest sensory quality. The addition of yeast nutrients had influence on the rate of intake sugars. Thusly fermented wines had lower residual sugars and higher concentration of proline after concluded fermentation. Later in the wine there were lower concentrations of titratable acids, free and total sulphur dioxide, higher concentration of free amino nitrogen, total terpenes, potential volatile terpenes, free volatile terpenes and higher alcohols. The addition of yeast nutrients had quite evident influence on sensory quality. The samples where we used nutritions were evaluated with the highest marks for sensory quality.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	IX
KAZALO PRILOG	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 NAČINI PRIDELAVE GROZDJA IN VINA	2
2.1.1 Konvencionalna (tradicionalna) pridelava grozdja in vina.....	2
2.1.2 Integrirana pridelava grozdja in vina	2
2.1.3 Ekološka pridelava grozdja in vina	2
2.2 FITOFARMACEVTSKI PRIPRAVKI	3
2.2.1 Kemijska sredstva, ki smo jih uporabljali za varstvo rastlin.....	3
2.2.2 Fitofarmaceutski pripravek »Kanne«	3
2.2.2.1 Sestava pripravka »Kanne«	4
2.3 OPIS SORTE REBULA	4
2.3.1 Splošni podatki	4
2.3.2 Agrobiotične značilnosti	4
2.3.3 Tehnologija pridelave	5
2.4 KEMIJSKA SESTAVA GROZDNEGA SOKA	5
2.4.1 Voda.....	5
2.4.2 Ogljikovi hidrati	5
2.4.3 Organske kisline	6
2.4.4 Dušikove spojine.....	6
2.4.5 Minerali in pepel.....	7
2.4.6 Polifenoli.....	8
2.4.7 Vitamini.....	8
2.4.8 Aromatične snovi.....	8
2.4.9 Pektinske snovi	9
2.4.10 Encimi.....	9
2.4.11 Lipidi	9
2.5 ALKOHOLNA FERMENTACIJA GROZDNEGA MOŠTA.....	9
2.5.1 Mikroflora grozdja in mošta	9
2.5.2 Fiziološke lastnosti kvasovk med fermentacijo	11
2.5.2.1 Prezem hranil.....	11
2.5.2.2 Metabolne poti.....	12
2.5.2.3 Metabolni produkti	13
2.5.3 Fizikalno-kemijske razmere med alkoholno fermentacijo	16
2.5.4 Dodatek hrane za kvasovke.....	19
2.6 CILJ RAZISKOVANJA.....	20

2.7	DELOVNE HIPOTEZE	20
3	MATERIAL IN METODE DELA.....	21
3.1	ZASNOVA POSKUSA.....	21
3.2	MATERIAL	22
3.2.1	Sorta grozdja	22
3.2.2	Starterska kultura kvasovk.....	22
3.2.3	Enološki dodatki.....	22
3.3	METODE DELA.....	23
3.3.1	Opis tehnološke sheme.....	23
3.4	FIZIKALNE IN KEMIJSKE ANALIZE.....	24
3.4.1	Določanje vsebnosti sladkorja.....	24
3.4.2	Določanje vrednosti pH in pufrne kapacitete vina.....	24
3.4.3	Določanje skupnih (titrabilnih kislin) v vinu.....	25
3.4.4	Določanje relativne gostote, (skupnega) ekstrakta in alkohola v vinu.....	25
3.4.5	Določanje prostega in skupnega žveplovega dioksida v vinu.....	25
3.4.6	Določanje hlapnih kislin v vinu.....	26
3.4.7	Določanje prolina v vinu.....	26
3.4.8	Določanje prostega aminokislinskega dušika v vinu.....	26
3.4.9	Določanje fenolnih spojin v vinu.....	26
3.4.10	Določanje vsebnosti pepela (Košmerl, 1999).....	26
3.4.11	Določanje koncentracije višjih alkoholov in hlapnih snovi.....	27
3.4.12	Določanje koncentracije terpenov	27
3.4.13	Senzorična analiza vina	27
3.4.14	Spremljanje nastanka CO ₂ med fermentacijo	27
3.4.15	Statistična analiza.....	28
4	REZULTATI	29
4.1	REZULTATI ANALIZ MOŠTA	29
4.2	SPREMLJANJE ALKOHOLNE FERMENTACIJE	29
4.2.1	Spremljanje tvorbe CO ₂ med fermentacijo	30
4.2.2	Spremljanje porabe sladkorjev med fermentacijo.....	32
4.2.3	Spremljanje vsebnosti prolina med fermentacijo	33
4.2.4	Spremljanje vsebnosti FAN med fermentacijo.....	33
4.3	REZULTATI ANALIZ VINA	34
4.3.1	Vrednost pH.....	34
4.3.2	Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin	34
4.3.3	Pufrna kapaciteta	35
4.3.4	Vsebnost hlapnih kislin.....	36
4.3.5	Vsebnosti prostega in skupnega SO ₂	37
4.3.6	Vsebnosti skupnega in sladkorja prostega ekstrakta.....	38
4.3.7	Vsebnost reducirajočih sladkorjev	39
4.3.8	Relativna gostota	39
4.3.9	Vsebnost alkohola.....	40
4.3.10	Vsebnost pepela	40
4.3.11	Vsebnost prolina.....	41
4.3.12	Vsebnost prostega aminokislinskega dušika (FAN).....	42
4.3.13	Vsebnost skupnih fenolnih spojin	42
4.3.14	Vsebnost terpenov	43

4.3.15	Vsebnost hlapnih snovi in višjih alkoholov	43
4.3.16	Vsebnost acetaldehida.....	44
4.3.17	Vsebnost etilacetata.....	44
4.3.18	Vsebnost metanola.....	45
4.3.19	Vsebnost 1-propanola	45
4.3.20	Vsebnost izobutanola	46
4.3.21	Vsebnost izoamilacetata.....	46
4.3.22	Vsebnost izoamil alkohola	47
4.3.23	Vsebnost 2-feniletanola	47
4.3.24	Vsebnost feniletilacetata	48
4.3.25	Senzorična ocena	48
4.4	REZULTATI STATISTIČNE ANALIZE.....	49
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	54
5.1	RAZPRAVA	54
5.1.1	Razprava o dobljenih rezultatih analiz mošta.....	54
5.1.2	Spremljanje alkoholne fermentacije.....	54
5.1.3	Razprava o dobljenih rezultatih analiz vina.....	55
5.2	SKLEPI	63
6	POVZETEK.....	65
7	VIRI.....	66
	ZAHVALA.....	69
	PRILOGE	70

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Odmerki in aktivne snovi kemičnih sredstev za varstvo rastlin (Kristančič, 2001)	3
Preglednica 2: Vitamini in njihovo delovanje (Košmerl, 2003)	11
Preglednica 3: Razdelitev aminokislin glede na hitrost absorpcije v celico (Barre, 1998)	12
Preglednica 4: Koncentracija in vonj najpomembnejših višjih alkoholov v vinu ter njihovi prekursorji (Lambrechts in Pretorius, 2000)	16
Preglednica 5: Škropilni načrt (Kristančič, 2001)	22
Preglednica 6: Načrt dodajanja hranil v vzorce	23
Preglednica 7: Rezultati analize mošta rebula glede na škropljenje	29
Preglednica 8: Fizikalne in kemijske analize fermentirajočega mošta rebula	30
Preglednica 9: Opisna senzorična ocena vzorcev mladega vina sorte rebula letnik 2002, pridelanega po različnih škropilnih in fermentacijskih načrtih	48
Preglednica 10: Rezultati kemijskih analiz mladega vina »biotično« z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri	49
Preglednica 11: Rezultati kemijskih analiz vina »biotično« med zorenjem z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri	50
Preglednica 12: Rezultati kemijskih analiz zrelega vina »biotično« z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri	51
Preglednica 13: Vpliv dodatka različnih hranil v mošt med fermentacijo na kemijske parametre mladega vina »biotično« (Duncanov test, $P < 0,05$)	51
Preglednica 14: Vpliv dodatka različnih hranil v mošt med fermentacijo na kemijske parametre vina »biotično« med zorenjem (Duncanov test, $P < 0,05$)	52
Preglednica 15: Vpliv dodatka različnih hranil v mošt med fermentacijo na kemijske parametre zrelega vina »biotično« (Duncanov test, $P < 0,05$)	52
Preglednica 16: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na kemijske parametre mladega vina	52
Preglednica 17: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na kemijske parametre zrelega vina	53

KAZALO SLIK

Slika 1: Potek poskusa	21
Slika 2: Hitrost tvorbe CO ₂ med fermentacijo pri različnih vzorcih rebule	30
Slika 3: Vpliv škropljenja na hitrost tvorbe CO ₂ med fermentacijo pri vzorcih rebule z dodanimi kompleksnimi hranili	31
Slika 4: Vpliv škropljenja na hitrost tvorbe CO ₂ med fermentacijo pri vzorcih rebule z dodanim enostavnim hranilom	31
Slika 5: Vpliv vrste dodanega hranila na hitrost oddajanja CO ₂ med fermentacijo pri vzorcih »biotično«	32
Slika 6: Padanje vsebnosti suhe snovi (% SS) med fermentacijo pri vzorcih »biotično«	32
Slika 7: Spremljanje vsebnosti prolina med fermentacijo pri vzorcih »biotično«	33
Slika 8: Spremljanje vsebnosti FANa med fermentacijo pri vzorcih »biotično«	33
Slika 9: Vrednost pH med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002	34
Slika 10: Vsebnost titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) med zorenjem vina sorte rebula	34
Slika 11: Vsebnost skupnih (g vinske kisline/L) med zorenjem vina sorte rebula	35
Slika 12: Vrednosti bazične in kislinske pufrne kapacitete (mmol/L/0,5 pH) v vzorcih mladega vina sorte rebula letnik 2002	35
Slika 13: Vrednosti orientacijske in dejanske pufrne kapacitete (mmol/L/pH) v vzorcih mladega vina sorte rebula letnik 2002	36
Slika 14: Vsebnost hlapnih kislin (g očetne kisline/L) med zorenjem vina sorte rebula	36
Slika 15: Sprememba vsebnosti prostega SO ₂ (mg/L) med zorenjem vina sorte rebula	37
Slika 16: Sprememba vsebnosti skupnega SO ₂ (mg/L) med zorenjem vina sorte rebula	37
Slika 17: Vsebnosti skupnega ekstrakta (g/L) med zorenjem vina sorte rebula 2002	38
Slika 18: Vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta (g/L) med zorenjem vina sorte rebula	38
Slika 19: Sprememba vsebnosti reducirajočih sladkorjev (g/L) med zorenjem vina	39
Slika 20: Sprememba relativne gostote med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002	39
Slika 21: Sprememba vsebnosti alkohola (vol%) med zorenjem vina sorte rebula	40
Slika 22: Sprememba vsebnosti pepela (g/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002	40
Slika 23: Sprememba vsebnosti prolin (mg/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002	41
Slika 24: Sprememba vsebnosti prostega aminokislinskega dušika (FAN) v mg N/L med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002	42
Slika 25: Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg galne kisline/L) v vzorcih mladega vina sorte rebula letnik 2002	42
Slika 26: Vsebnost terpenov (µg/mL), prikazana kot razmerje prostih hlapnih terpenov (FVT) in potencialnih hlapnih terpenov (PVT) v vzorcih vina med zorenjem	43
Slika 27: Razmerje vsebnosti hlapnih snovi in višjih alkoholov (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	43
Slika 28: Vsebnost acetaldehida (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	44
Slika 29: Vsebnost etilacetata (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	44
Slika 30: Vsebnost metanola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	45
Slika 31: Vsebnost 1-propanola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	45
Slika 32: Vsebnost izobutanola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	46
Slika 33: Vsebnost izoamilacetata (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	46
Slika 34: Vsebnost izoamil alkohola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	47
Slika 35: Vsebnost 2-feniletanola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	47
Slika 36: Vsebnost feniletacetata (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«	48

KAZALO PRILOG

- Priloga A: Rezultati kemijske analize mladega vina rebula po alkoholni fermentaciji
- Priloga B: Vsebnosti hlapnih snovi in višjih alkoholov v vzorcih mladega vina rebula
- Priloga C: Rezultati kemijske analize vina rebula med zorenjem
- Priloga D: Razmerje med prostim in skupnim žveplovim dioksidom v vinu rebula med zorenjem
- Priloga E: Rezultati kemijske analize zrelega vina rebula

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

- »biotično« - vzorec, pri katerem so bila opravljena škropljenja vinske trte po pravilniku IPGV v kombinaciji s pripravkom »Kanne«
- »klasično« - vzorec, pri katerem so bila opravljena škropljenja vinske trte po pravilniku IPGV
- »kontrola« - vzorec, pri katerem so bila opravljena škropljenja vinske trte po pravilniku IPGV, zadnja tri škropljenja pa izpuščena
- °Oe - stopinje Oechsleja
- ATP - adenzin trifosfat
- CFU - kolonijska enota (ang. Colony Forming Unit)
- DAP - diamonijev hidrogenfosfat
- FAN - prosti aminokislinski dušik (ang. Free Amino Nitrogen)
- FVT - prosti hlapni terpeni (ang. Free Volatile Terpenes)
- hranilo 1: enostavno hranilo Enovit (Hranila za kvasovke, 2002)
- hranilo 2: kompleksno hranilo Biostimol (Biostimol Original, 2002)
- hranilo 3: kompleksno hranilo Biostimol Plus (Biostimol Plus, 2002)
- IPGV - integrirana pridelava grozdja in vina
- MKB - mlečnokislinske bakterije
- NADH + H⁺/NAD - nikotin amid dinukleotid
- OKB - očetnokislinske bakterije
- PGO - priznana geografska oznaka
- PK - pufna kapaciteta
- PVT - potencialni hlapni terpeni (ang. Potential Volatile Terpenes)
- SPE - sladkorja prosti ekstrakt
- SS - sladkorna stopnja
- TCA - cikel trikarboksilnih kislin
- ZGP - zaščiteno geografsko poreklo

1 UVOD

Človek je tisočletja povezan z vinsko trto in vinom. Arheološke najdbe in različni zapisi kažejo, kako vsestransko uporabno je vino že od nekdaj. Zaradi njegovih številnih učinkov so ga izkoriščali kot topilo za zelišča, za pripravo najrazličnejših mazil, kot analgetik pri operacijah, kot razkužilo, ...

Na podlagi novih znanstvenih spoznanj je današnji človek vse bolj ozaveščen o nujnosti varovanja narave in lastnega zdravja. Vinogradniki in vinarji iščejo nove načine pridelave zdravega grozdja v vinogradu in izboljšanja fizikalno-kemijske sestave ter senzorične kakovosti mošta in pridelanega vina.

Uporabo klasičnih učinkovitih sredstev za zaščito vinske trte želijo zmanjšati ali še boljje zamenjati z ustrezno različico, ki bo bolj prijazna okolju, istočasno pa ne manj učinkovita.

V integrirani pridelavi grozdja vinogradniki v vinogradih preiščeno kombinirajo biotične, biotehnološke, kemijske, obdelovalne ali gojitvene ukrepe tako, da lahko uporabo kemijskih sredstev za varstvo rastlin omejijo le na najnujnejšo količino.

Na podlagi predhodnih poskusov biotičnega varstva vinske trte in ovrednotenja kemijske sestave in boljše senzorične kakovosti pridelanega vina je bilo ugotovljeno, da je možna popolna ali vsaj delna nadomestitev klasičnih organskih pesticidov z okolju prijaznimi biopesticidi.

Tudi v tehnologiji pridelave vina težijo k čim manjši uporabi kemičnih sredstev in jih raje nadomeščajo s fizikalnimi in drugimi postopki.

Vemo, da je vino produkt kompleksnih interakcij med mikroorganizmi ter začetno fizikalno-kemijsko sestavo mošta in fizikalnimi pogoji. S poznavanjem fiziologije kvasovk in njihovega metabolizma lahko neposredno vplivamo na kinetiko alkoholne fermentacije in sintezo posameznih aromatičnih snovi in drugih pomembnih spojin kot so zeleni hlapni estri in višji alkoholi ter glicerol.

Tako lahko z obvladovanjem (kontrolno in nadzorom) najpogostejših stresnih parametrov v veliki meri sami vplivamo na izboljšanje senzorične kakovosti pridelanega vina. S tem namenom se v mošt dodajajo različne hranilne snovi.

S poskusom smo želeli podrobneje raziskati vpliv različnih zaščitnih sredstev in dodatka hranilnih snovi na fermentacijo in posledično končno kakovost vina bele vinske sorte rebula. V diplomski nalogi smo se osredotočili na kemijsko sestavo mošta in vina, nismo pa spremljali pojava bolezni v vinogradu oziroma ni bila predmet naše raziskave.

Vinograd smo škropili po treh različnih škropilnih programih, v nadaljevanju pa smo v mošt dodali različne dodatke hrane za kvasovke v primerjavi s kontrolno (brez hranil) in opravili tudi vrsto fizikalno-kemijskih analiz mošta in mladega vina po končani fermentaciji, saj je s stališča tudi senzorične kakovosti končnega produkta željeno poznavanje simptomov pomanjkanja hranil z ustrezno kemijsko analizo metabolnih produktov.

2 PREGLED OBJAV

2.1 NAČINI PRIDELAVE GROZDJA IN VINA

2.1.1 Konvencionalna (tradicionalna) pridelava grozdja in vina

Konvencionalna pridelava grozdja in vina je način pridelave, s katerim z večjo količino gnojil in kemijskih sredstev dosežemo velike količine pridelka s cenovno ugodnim in lažjim delom. Zaradi vseh naštetih dejstev je to še vedno razširjen način obdelave vinske trte. Žal pa pri njem ne upoštevamo ohranitve vinograda kot ekološko pestrega sistema z raznolikim sožitjem specifičnih živih bitij. Zaradi velikega onesnaževanja okolja pri uporabi konvencionalnih postopkov v vinogradništvu so začeli uvajati druge načine pridelave grozdja in vina.

2.1.2 Integrirana pridelava grozdja in vina

»Integrirano varstvo rastlin« je optimalna kombinacija biotičnih, biotehnoloških, kemijskih, obdelovalnih ali gojitvenih ukrepov pri pridelavi grozdja, pri čemer se uporaba kemijskih sredstev za varstvo rastlin omeji na najnujnejšo količino fitofarmaceutskih sredstev iz tehnoloških navodil, ki vsebujejo tehnološke zahteve oziroma omejitve pri integrirani pridelavi grozdja in vina, ki so potrebne za zadrževanje populacije škodljivih organizmov pod mejo, ki povzroča gospodarsko nesprejemljivo škodo ali izgubo (prag škodljivosti) (Pravilnik o integrirani..., 2002). V letu 2007 je bilo v IPGV je vključenih 2.640 pridelovalcev, kar predstavlja 10 % vinogradnikov z več kot 50 % vseh vinogradov (Štabuc in sod., 2007).

V integrirani pridelavi grozdja in vina je dovoljena uporaba preko 50 različnih fitofarmaceutskih pripravkov. Delimo jih na kemijske in biološke fitofarmaceutske pripravke. V vinogradništvu je omejena uporaba bakra, nekaterih derivatov izocikličnih spojin (diklorfluanidin, dinokap), ditiokarbamatov (mankozeb, metiram, propineb), diazinona, idr. (Čuš in sod., 2002).

V vinarstvu je zaželjena čim manjša poraba SO₂, tehnološki ukrepi bolj fizikalne kot kemijske narave, prepovedana je uporaba sredstev, ki so škodljiva za zdravje ljudi in okolje, prepovedana je uporaba plutovinastih zamaškov, ki so obdelani s klorom, pocinkanih in svinčenih kopic ter sintetičnih materialov za pakiranje, prepovedano je dosladkanje mošta ali vina iz sladkornih rezerv, ki so bile konzervirane z žveplom, prepovedana je uporaba gensko spremenjenih mikroorganizmov; prepovedana so nekatera enološka sredstva (bakrov sulfat, modro čiščenje, PVPP, sorbinska kislina in drugi konzervansi, aktivno oglje (razen pri več kot 50 % deležu grozdne gnilobe)); prepovedana je uporaba agresivnih pralnih sredstev in razkužil ter neselektivno zbiranje odpadkov. Posebno skrb moramo nameniti odplakam, ki bremenijo okolje, zagotoviti moramo uporabo povratne embalaže ali ustrezno reciklažo steklenic (Čuš in sod., 2002).

2.1.3 Ekološka pridelava grozdja in vina

Ekološka pridelava grozdja in vina k omejitvam integrirane pridelave dodaja še nekatere druge. Temeljna pravila za ekološko pridelavo so (Vršič in Lešnik, 2001):

- trajno naraščanje samobitne rodovitnosti tal,
- čimbolj zaprto kroženje na obratu (čimbolj obnovljiva energija),
- različna pridelava in raznolika struktura obrata,
- pospeševanje gojenja sort odpornih proti škodljivcem,
- pridelava polnovrednih živil v ustreznih količinah in po primerni ceni,
- zagotoviti obstoj na podlagi zadovoljivih življenjskih razmer in primernega zaslužka,
- pridelava naj teži k čimboljši kakovosti grozdja in ne h količini,

- pospeševanje razvoja velikega števila rastlinskih in živalskih vrst v ekosistemu vinograda,
- zmanjšanje obremenitev voda z dušikom in fosforjem,
- odgovorna uporaba in načrtno pospeševanje naravnih eksistenčnih osnov.

2.2 FITOFARMACEVTSKI PRIPRAVKI

2.2.1 Kemijska sredstva, ki smo jih uporabljali za varstvo rastlin (dovoljena za uporabo po IPGV smernicah)

Sredstva za varstvo rastlin so kemijske spojine ali pripravki (zmes ene ali več aktivnih snovi), ki pri pravilni uporabi varujejo kulturne rastline od setve do žetve pred poškodbami, ki jih povzročajo druga živa bitja (rastlinski in živalski škodljivci).

Preglednica 1: Odmerki in aktivne snovi kemičnih sredstev za varstvo rastlin (Kristančič, 2001)

prepravek	aktivna snov	odmerek (g/100 L vode)
Ridomil MZ 72 WP	metaksil + mankozeb	250
Sythane 12-E	miklobutanil	15
Polyram DF	metiram	240
Kumulus DF	močljivo žveplo	200
Topas 100 EC	penkonazol	25
Dithan M-45	mankozeb	200
Qadris	azoksistrobin	100
Cuprblau Z	bakrov hidroksid + cink	300

2.2.2 Fitofarmaceutski pripravek »Kanne«

Zaradi prevelikega onesnaževanje okolja v konvencionalni pridelavi grozdja in vina smo prisiljeni uporabljati različne druge načine pridelave. »Kanne« je novejši pripravek, ki se uporablja v ekološki pridelavi grozdja in vina. Pridobiva se s pomočjo patentiranega postopka. Osnova je testo iz rži, pšenice in ovs, ki ga dva meseca fermentirajo z mlečnokislinskimi bakterijami.

Proizvajalec je: Kanne Brottrunk GmbH & Co. KG, Lünen.

Pripravek »Kanne« se lahko uporablja tudi kot prehranski dodatek za povečanje odpornosti živali in rastlin ter kot dodatno talno ali listno gnojilo.

V vinogradništvu se uporablja kot gnojilo, ker:

- z nalaganjem silicijeve kisline na liste poveča odpornost trte ali drugih rastlin proti pepelasti plesni in listnim ušem,
- pospešuje razgradnjo strupenih snovi v tleh (alifatskih ogljikovodikov, mineralnih olj, bencina),
- pospešuje kompostiranje v tleh,
- kot škropivo deluje antagonistično, ker številna mikroflora v škropivu zavira rast patogenih mikroorganizmov.

2.2.2.1 Sestava pripravka »Kanne« (za škropljenje rastlin pri akutnih napadih škodljivcev in pri plesnobi)

Pripravek »Kanne« vsebuje:

- mlečnokislinske bakterije (koncentracija le-teh je 10^7 celic/mL),
- trose mlečnokislinskih bakterij,
- encime,
- pomembne minerale in mikroelemente:
 - baker 0,02 mg/L
 - železo 1,9 mg/L
 - mangan 0,63 mg/L
 - cink 1,4 mg/L
 - kalcij 87,0 mg/L
 - magnezij 66,0 mg/L
 - kalij 264,0 mg/L
 - fosfor 249,0 mg/L
 - klorid 567,0 mg/L
 - natrij 257,0 mg/L

Vrednost pH pripravka »Kanne« je 3,0.

Mikrobiološka sestava pripravka: prevladujejo heterofermentativni laktobacili vrste *Lactobacillus buchneri*, homofermentativni koki vrste *Streptococcus equinus*, bakterije rodu *Pediococcus*.

2.3 OPIS SORTE REBULA

2.3.1 Splošni podatki

Rebula je stara avtohtona vinska sorta, ki dobro uspeva na meji med Slovenijo in Italijo, predvsem na področju Goriških brd in Vipavske doline. Spada v zahodnoevropsko skupino sort – *Proles occidentalis*. Njena domovina je Italija, kjer jo zgodovinarji omenjajo že od 14. stoletja naprej (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

Poznani sta dve sorti (zelena in rumena rebula), pri nas pa je razširjena predvsem rumena ali zlata rebula. Sorta se odlikuje z dobro rodnostjo, čeprav spomladi pozno zbrsti. Najbolje uspeva na lapornih, flišnih in kamnitih tleh, predvsem na višje ležečih terenih.

2.3.2 Agrobiotične značilnosti

List je srednje velik, cel ali trodelen, s plitkimi stranskimi sinusi. Z zgornje in spodnje strani je svetlozelen in gol. Listni pecelj je kratek do srednje dolg, zelen ali pa nekoliko vijoličast. Grozd je podolgovat, srednje velik in valjaste oblike, dokaj nabit. Grozdni pecelj je kratek, pri osnovi olesenel.

Jagoda je srednje debela, okroglo podolgovata, rumene barve in pokrita z obilnim oprhom (Nemanič, 1999). Jagodni popek je izražen, kožica pa je debela.

Rozga je srednje razvita, nekoliko progasta, na preseku eliptična, blede rumenkaste barve in temno pikčasta.

V sortnem izboru za Slovenijo je rebula kot priporočena sorta predvidena v briškem, vipavskem in kraškem vinorodnem okolišu vinorodne dežele Primorska (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

2.3.3 Tehnologija pridelave

Gojitvena oblika: prenaša intenzivnejša gojitvene oblike.

Rez: dolga

Lega in zemlja: najbolje uspeva na višje ležečih položajih, glede zemlje ni zahtevna.

Vsebnost sladkorja v moštu: doseže povprečno 75 °Oe. Kakovost in količina pridelka sta močno odvisna od obremenitve trte, lege in podnebnih razmer.

Na sončnih legah in dobro prepustnih tleh se lahko pridelava lepo, sveže, običajno suho vino, ki ima nekoliko bolj izraženo kislino in nižji alkohol, z značilnim vonjem in okusom po sadju. Zaradi njene živosti in lahкости je vino ustvarjeno za kombiniranje z različnimi jedmi na bazi rib (Nemanič, 1999).

2.4 KEMIJSKA SESTAVA GROZDNEGA SOKA

V fizikalno-kemijskem pomenu je mošt nepravna raztopina z gostoto 1,060-1,120 g/cm³. Najpomembnejše skupine sestavin grozdnega soka so:

- voda,
- ogljikovi hidrati (glukoza, fruktoza, saharoza, pentoze, polisaharidi),
- organske kisline (jabolčna, vinska, citronska, jantarna,...),
- dušikove spojine (NH₃, proteini, peptoni, polipeptidi, aminokisline, amini, amidi),
- mineralne snovi (K, Ca, Mg, Cu, Zn, Na, Cl, Al, Mn, žveplova(VI) in fosforna kislina),
- fenolne spojine (polifenoli, biofenoli),
- aromatične spojine,
- pektinske snovi,
- vitamini,
- encimi,
- kvasovke,
- lipidi.

2.4.1 Voda

Mošt vsebuje od 75 do 85 % vode, v kateri so topne številne druge snovi.

2.4.2 Ogljikovi hidrati

Ogljikovi hidrati predstavljajo med 12 in 27 % celotne sestave mošta (Johnson, 2003). Nastajajo v zeleni listni površini trte iz anorganskega ogljikovega dioksida, ki ga listi dobivajo iz zraka in iz vode preko koreninskega sistema. Pojav imenujemo asimilacija, do katere pride zaradi klorofila kot katalizatorja ob sodelovanju sončne svetlobne energije. Pomembna je tudi razporeditev sladkorjev v grozdni jagodi. Znano je, da je srednji sloj jagodnega mesa najbogatejši s sladkorji, medtem ko sta zunanji in notranji sloj bolj bogata s kisljinami, zato ima samotok običajno več sladkorjev (Ribéreau-Gayon in sod., 2003a).

Monosaharidi

Na vsebnost sladkorjev ima zelo velik vpliv stopnja zrelosti grozdja (Ribéreau-Gayon in sod., 2003a). Najpomembnejša sladkorja iz skupine heksoz sta glukoza in fruktoza. V začetku rasti je v grozdni jagodi približno 75 % glukoze in 25 % fruktoze. Zrelo grozdje vsebuje enaki količini glukoze in fruktoze, medtem ko se v fazi prezrelosti poveča delež fruktoze (Radovanović, 1986). Večina kvasovk ima večjo afiniteto do glukoze v primerjavi s fruktozo, zato se v začetni fazi alkoholne fermentacije glukoza porabi hitreje kot fruktoza.

Mošt vsebuje še manjše količine manoze (do 50 mg/L) in galaktoze (do 200 mg/L). Pentoze se nahajajo predvsem v pečkih in se gibljejo v koncentraciji do 1 g/L. Kvasovke jih ne asimilirajo, zato ostanejo v vinu kot sestavina skupnega ekstrakta. Od pentoz prevladuje arabinoza, v sledovih pa sta prisotni tudi riboza in ksiloza (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b). Koncentracija arabinoze se podvoji v vinih pridelanih iz grozdja, ki je okuženo s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* (Bavčar, 2006).

Disaharidi

Najpomembnejši disaharid je saharoza, ki jo mošt vsebuje v povprečju od 2 do 5 g/L (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b). Saharoz, kot vsi sladkorji, nastaja v listih in po limfnem sistemu preko vode potuje v jagodo, kamor pa prispe le v sledovih. Večji del saharoze se hidrolizira zaradi delovanja encima invertaze (saharaze), v glukozo in fruktozo (Radovanović, 1986).

2.4.3 Organske kisline

Mošt vsebuje številne organske kisline, ki izvirajo iz grozdja in nastanejo kot produkt nepopolne oksidacije sladkorjev. V vsebnosti organskih kislin obstajajo velike razlike, ker je njihova oksidacija odvisna od srednjih dnevni temperatur, zlasti v fenofazi dozorevanja. Tako se količina kislin, odvisno od letnika, sorte, podnebja, zdravstvenega stanja, sestave tal in stopnje zrelosti giblje od 4,5-16 g/L. Veliko organskih kislin se nevtralizira s pretvorbo v ustrezne soli zaradi dotoka zlasti kalija iz tal preko koreninskega sistema. Najpomembnejše so: vinska, jabolčna in citronska kislina, ki so v grozdni jagodi različno razporejene. Kislost se povečuje v smeri od jagodne kožice proti pečkam. Vinska in jabolčna kislina predstavljata več kot 90 % vseh kislin in velja, da je običajno samotok bogatejši z vinsko, stiskanec ali prešanec pa z jabolčno kislino (Šikovec, 1993).

Organske kisline so poleg vode in sladkorjev tretja najpomembnejša sestavina mošta. Skupaj s kislinami, ki nastanejo med alkoholno fermentacijo, pomembno vplivajo na stabilnost, okus in barvo vina.

Vinska kislina je značilna kislina grozdja in se nahaja v vseh predelih vinske trte. Nastane s cepitvijo heksoz in se v moštu nahaja v obliki soli (kisle, nevtralne soli) ter kot prosta kislina. Soli vinske kisline so lahko bodisi kisle soli (kalijev in kalcijev tartrat) ali nevtralne soli (kalijev hidrogenatrtat, kalcijev dihidrogenatrtat). Predvsem kisle soli imajo pomembno vlogo pri tvorbi vinskega kamna, ki se izloči, če izpostavimo mošt ali vino nizkim temperaturam (Garoglio, 1981).

Naslednja po količini je jabolčna kislina, ki se nahaja v jagodah, v listih in v zeleni pecljevini. Je veliko bolj občutljiva na oksidacijske procese v primerjavi z vinsko kislino. Vzrok za oksidacijo so predvsem visoke temperature, zato je vsebnost jabolčne kisline večja v moštih z vinogradniških predelov s celinskim podnebjem (4 do 6,5 g/L), v primerjavi z mošti s predelov s sredozemskim podnebjem (1-2 g/L), ko gre za polno zrelost (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b). Ker pa se jabolčna kislina med fermentacijo ne pretvori ali izloči, je bistvenega pomena za kislinsko stabilnost vina. Pomembna je tudi v procesih jabolčno-mlečnokislinske fermentacije, kjer se pod vplivom mlečnokislinskih bakterij pretvori v mlečno kislino (Garoglio, 1981).

Citronska kislina je v moštu prisotna v majhnih količinah (0,5-1,0 g/L) (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b). Ostale kisline so prisotne v sledovih: askorbinska, oksalna, glikolna, fumarna.

2.4.4 Dušikove spojine

Mošt vsebuje dušikove spojine v glavnem v dveh oblikah, kot organski dušik (aminokisline, peptidi, polipeptidi) in v obliki anorganskih amonijevih spojin (prosti amonijev ion) (Garoglio, 1981). Vsebnost skupnega dušika je med 98 mg/L in 1130 mg/L (Košmerl, 2002).

Te spojine so v grozdni jagodi razporejene neenakomerno. Jagodno meso vsebuje komaj 20 % skupnega dušika, preostali del pa se nahaja predvsem v pečkah in jagodni kožici.

V zaključni fazi dozorevanja grozdja se iz pečk sprosti topna oblika dušika (amonijak in aminokislina) v jagodno meso. S tem se zmanjša koncentracija amonijevega iona, ki prevladuje v nezrelem grozdju (80 % skupnega dušika). V fazi polne zrelosti imamo tako v grozdni jagodi od 3 do 10 % skupnega dušika v obliki amonijevih soli, preostali del pa predstavlja organska frakcija, predvsem aminokislina. Te spremembe so v vinogradu opazne kot obarvanje in mehčanje jagod (Garoglio, 1981).

Dušikove spojine se v postopku predelave grozdja delno vežejo na tanine, večina (med 70 in 80 %) pa se jih porabi v metabolizmu kvasovk med fermentacijo. Kvasovke jih izkoriščajo za izgradnjo lastnih strukturnih in funkcijskih proteinov. Tako vplivajo na rast biomase, normalen potek fermentacije in sodelujejo pri tvorbi aromatičnih snovi vina. Med fermentacijo se koncentracija posameznih aminokislinskih zmanjšuje z različno intenzivnostjo, kar je odvisno tudi od metabolne aktivnosti posameznih sevov kvasovk. S skupnim imenom prosti alfa-aminokislinski dušik ali FAN (Free Amino Nitrogen) označujemo dušikove spojine, ki so pri metabolizmu na voljo kvasovkam (amonijak in aminokislina).

Koncentracija skupnih in prostih aminokislinskih je zelo odvisna od stopnje zrelosti in zdravstvenega stanja grozdja, od sorte, podlage, vzgojne oblike, stopnje obremenitve trte, založenosti tal in klimatskih razmer med dozorevanjem (temperatura, količina padavin). Zato je zelo pomembno dejstvo, da je v toplejših klimatskih razmerah koncentracija aminokislinskih manjša, kar povezujemo s povečano sintezo beljakovin pri višjih temperaturah, medtem ko je koncentracija skupnega dušika neodvisna od klimatskih pogojev.

Če je grozdje okuženo s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*, se vsebnost aminokislinskih zmanjša za 7 do 61 % (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b).

Aminokislinska sestava grozdnega soka določene sorte iz istega vinorodnega območja je podobna, medtem ko se koncentracija posameznih aminokislinskih iz leta v leto spreminja (nezanemarljiv vpliv letnika) in se giblje med 1 do 4 g/L, kar predstavlja 30 do 40 % skupnega dušika.

Mošt vsebuje več dušikovih snovi kot kasneje pridelano vino. Pomembne aminokislinske so predvsem: arginin, alanin, treonin, serin, glutaminska in asparaginska kislina ter prolin (Garoglio, 1981). Arginin je prevladujoča aminokislina in je skupaj s prolinom odgovorna za sortne značilnosti mošta in vina (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b). Prolin je pomemben indikator zrelosti grozdja. Velika akumulacija prolina v moštu je združena s stresom vinske trte v razmerah premajhne vlažnosti, medtem ko je γ -amino maslene kisline največ v prezrelem grozdju (Lambrecht in Pretorius, 2000). Povprečna koncentracija prolina v grozdju je 742 mg/L, v vinu pa 869 mg/L (Ough in Amerine, 1988).

2.4.5 Minerali in pepel

Mineralne snovi grozdja izvirajo iz zemlje in se nahajajo v trdih delih grozdne jagode (v jagodni kožici 1-2 %, v jagodnem mesu 0,2-0,4 % in v pečkah 1-2 %). Prisotne so v anorganski obliki (kot sulfati, fosfati, nitrati, kloridi) in v organski obliki (tartrati, malati, citrati). Imajo velik vpliv na senzorične lastnosti mošta in kasneje vina ter so zelo pomembni pri fermentaciji.

Njihova koncentracija se začne zmanjševati že med predelavo grozdja in mošta (bistrenje ali razsluzenje, alkoholna fermentacija) in se nadaljuje do zaključka pridelave vina (čiščenje, stabilizacija, filtracija).

Pepel dobimo, če vzorec mošta sežgemo. Anorganska snov, ki jo pri sežigu dobimo, predstavlja od 2,5 do 4,0 g/L (Garoglio, 1981). Koncentracija pepela je manjša v moštih,

pridobljenih iz nezrelega grozdja, dosladkanega mošta in seveda ga je manj tudi v samotokih v primerjavi s prešanci.

Kation, ki prevladuje, je kalijev ion (0,5-2,0 g/L); njegova vsebnost se še poveča pri sušenem grozdju ali grozdju, okuženem s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b). Koncentracija kalija vpliva na kislinsko stabilnost in pH mošta, na njegovo barvo ter na potek fermentacije. Pomembni so še kationi kalcija, magnezija in natrija.

Med anioni so pomembnejši fosfati, sulfati, kloridi, acetati, malati, laktati, tartrati, v sledovih pa še brom, jod, fluor ter silicijeva in borova kislina.

Vsebnost mineralnih snovi je v rdečih vinih mnogo večja kot v belih vinih.

2.4.6 Polifenoli

Polifenoli so snovi, ki zelo vplivajo na senzorične lastnosti mošta in vina (barva, grenkoba, trpkost). Delimo jih v dve skupini: flavonoide in neflavonoide. Med flavonoide, ki so količinsko najpomembnejši polifenoli rdečih vin, spadajo flavanoli, antociani in flavonoli. Med neflavonoide uvrščamo hidroksicimete kisline, ki so v grozdju najpomembnejši polifenoli, hidroksibenzojeve kisline in stilbene (resveratrol).

Flavonoidi se delijo na flavone, ki so nosilci rumeno obarvanih barvil in se nahajajo predvsem v trdih delih grozdja ter na antociane, ki so nosilci rdečih in modrih barvil, ki se nahajajo predvsem v jagodni kožici rdečih sort grozdja.

Vsebnost polifenolov v grozdju in kasneje v moštu je odvisna predvsem od sorte grozdja, pedoklimatskih razmer, vinogradniškega območja, stopnje zrelosti grozdja in tehnologije predelave grozdja (Bonaga in sod., 1990).

V belem grozdju je barva jagodne kožice od zelene do zlato rumene, kar je odvisno od sorte grozdja in od stopnje zrelosti. Pri rdečem grozdju pa je barvno območje od roza do intenzivno rdeče. Jagodno meso je pri večini sort brezbarvno. Izjeme so le ameriške sorte in nekatere evropske sorte, ki vsebujejo barvila tudi v jagodnem mesu in se uporabljajo kot »barvarice« (gamay).

2.4.7 Vitamini

So esencialnega pomena za rast in razmnoževanje vseh mikroorganizmov, ki so prisotni v moštu in vinu. Pomembnejši vitamini so: tiamin (vitamin B₁), riboflavin (vitamin B₂), askorbinska kislina (vitamin C), piridoksin (vitamin B₆), pantotenska kislina (vitamin B₅), biotin (vitamin H) (Šikovec, 1996).

2.4.8 Aromatične snovi

Aromatične snovi v žlahtni vinski trti *Vitis vinifera* pripadajo skupini terpenov. Ti so glavni nosilci značilne sortne arome pri aromatičnih (skupina muškatov) in tudi pri nearomatičnih sortah grozdja in vina. Do danes je bilo odkritih več kot 4.000 spojin, ki se nahajajo predvsem v jagodni kožici in oprhu. Količina terpenov, ki se nahajajo v prosti in vezani obliki, se v času dozorevanja grozdja povečuje do neke največje koncentracije. Ugotovljeno je, da se začne količina terpenov v prosti obliki zmanjševati, še preden se konča akumulacija sladkorjev v grozdni jagodi (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b). Njihova koncentracija je zelo odvisna od temperature in količine padavin v času dozorevanja grozdja. Pomembni dejavniki, ki vplivajo na vsebnost aromatičnih snovi v moštu in grozdju so še: zdravstveno stanje grozdja, količina pridelka, sorta, zemlja, postopki predelave in prisotni mikroorganizmi.

V skupini terpenov so najbolj zastopani monoterpeni. Ti so lahko v različnih oblikah: kot enostavni ogljikovodiki (limonen, miricen), kot aldehidi (geranial), kot alkoholi (linalool, geraniol), kot kisline (geraniolna kislina) ali kot estri (geranil acetat). Med monoterpeni so najbolj aromatični monoterpenski alkoholi (linalool, α -terpineol, nerol, geraniol, citronelol in trienol).

Med terpene spadajo tudi norizoprenoidi (β -ionon), ki nastanejo iz karotenoidov, prisotnih v grozdju pod vplivom delovanja encimov (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b).

Terpenske snovi se med pravilnim potekom alkoholne fermentacije ne izgubljajo, ker jih kvasovke rodu *Saccharomyces* ne razgrajujejo (Wondra, 1998).

Višji alkoholi, ki nastajajo med alkoholno fermentacijo, predstavljajo 50 % vrednosti vseh aromatičnih snovi v vinu.

2.4.9 Pektinske snovi

Pektinske snovi spadajo v skupino koloidov. Na njihovo količino v moštu vpliva stopnja zrelosti grozdja, sorta, zdravstveno stanje grozdja in mehanske poškodbe (Garoglio, 1981). So heteropolisaharidi, sestavljeni iz α -D-galakturonske kisline, ki je zaestrena z metanolom. Zaporedje prekinjajo molekule α -L-ramnoze, na stranskih verigah pa sta arabinoza in galaktoza (Ribéreau-Gayon in sod., 2003b). Pektini so zaradi večje viskoznosti velika nadloga pri bistrenju mošta in vina. Za razgradnjo teh pektinskih mrež so potrebni encimi, katerih pa mošt sam po sebi vsebuje zelo malo. V takih primerih je priporočeno dodajanje industrijskih preparatov pektolitičnih encimov, ki olajšajo celoten proces predelave grozdja in pridelave vina.

2.4.10 Encimi

Beseda encim izvira iz grščine in pomeni »v kvasovkah« (in yeasts). Encimi so beljakovine, ki delujejo kot biološki katalizatorji in vodijo kinetiko reakcij od predfermentativne faze vse do zaključnih faz pretvorbe grozdnega soka v vino (Garoglio, 1981).

Encimi, ki so prisotni v grozdju in encimi, ki jih proizvajajo kvasovke (imenujemo jih endogeni encimi), so v moštu prisotni v zelo majhnem številu (prehitro stiskanje drozge) in običajno je njihovo delovanje zelo omejeno zaradi neustreznega pH (Ribéreau-Gayon in sod., 2003a).

Zato se v vinarstvu vedno bolj uporabljajo komercialni preparati pektolitičnih encimov. Večina jih je pridobljenih iz plesni vrste *Aspergillus niger*. Njihov dodatek drozgi ali moštu povečuje izkoristek, pospeši bistrenje mošta, pospešuje ekstrakcijo barve in arome ter lajša bistrenje in filtracijo vina (Cravero in sod., 1996).

2.4.11 Lipidi

V glavnem se nahajajo v pečkih (75 %), v kožici (15 %) in v jagodnem mesu. Delimo jih na nevtralne lipide (maščobne kisline, glicerol, estri sterolov), na glikolipide in fosfolipide. V polni zrelosti predstavljajo fosfolipidi od 65 do 70 % skupnih lipidov, sledijo nevtralni lipidi in glikolipidi. Vosek kutikule je sestavljen iz 50 % D-oleinske kisline, ki med alkoholno fermentacijo služi kot rastni faktor za kvasovke (Cabanis, 1987).

2.5 ALKOHOLNA FERMENTACIJA GROZDNEGA MOŠTA

2.5.1 Mikroflora grozdja in mošta

V skupino kvasovk, ki so povezane s pridelavo vina, prištevamo približno 18 rodov (Boulton in sod., 1996). Divje kvasovke so ne-*Saccharomyces* rodovi fermentativnih kvasovk, ki so prisotne na površini grozdnih jagod in kletarske opreme. Te lahko začnejo alkoholno fermentacijo. Sem prištevamo rodove *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia*, *Debaromyces*, *Metschnikowia*, *Rhodotorula*, *Brettanomyces*.

Običajno kvasovke vrste *S. cerevisiae* ne najdemo na površini grozdnih jagod. Tudi v starejših vinogradih lahko najdemo to vrsto šele proti koncu zorenja grozdja. Kvasovke vrste *S. cerevisiae* so prisotne na površini samo ene zdrave grozdne jagode od tisočih (Mortimer,

1999 citirano po: Košmerl, 2003). Najpogosteje najdemo na površini grozdne jagode vrsto *Kloeckera apiculata*, v toplejših območjih pa njeno spolno obliko *Hanseniaspora uvarum*. Ta vrsta in vrsta *Candida stellata* najpogosteje tudi začeta alkoholno fermentacijo (Lambrechts in Pretorius, 2000).

Zrelo zdravo grozdje daje začetno kvasno populacijo s 10^3 - 10^5 CFU/mL, zaključni pa se v območju 10^8 - 10^9 CFU/mL. Številni dejavniki vplivajo na kvasno populacijo, med katere prištevamo: temperaturo, deževje in ostale klimatske razmere, stopnjo zrelosti, uporabo fungicidov, poškodbe s strani plesni, insektov, ptic, sorto grozdja, idr. Izvor kletne kvasne mikroflore predstavlja vsa oprema, ki prihaja v stik z moštom: zbiralna posoda, napeljava, pecljalnik, stiskalnica, fermentorji, posoda, pipe.

Na začetku fermentacije prevladujejo kvasovke vrst *Candida stellata*, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia kluyveri*, *Metchnikowia pulcherrima*, *Pichia membranaefaciens*, *Hansenula anomala*, *Torulaspota delbruckii*, rod *Rhodotorula* in vrsta *Debaromyces hansenii*.

Med fermentacijo se število ne-*Saccharomyces* rodov kvasovk zmanjšuje, saj imajo manjšo odpornost na alkohol. Preživetje ne-*Saccharomyces* rodov kvasovk med fermentacijo je v veliki meri odvisno od fermentacijskih razmer, zlasti temperature in pH. Ne-*Saccharomyces* rodovi kvasovk so pomembni pri tvorbi sekundarnih metabolitov – arom, ostalih alkoholov, kislin, acetaldehida.

V poznejših fazah fermentacije prevzamejo glavno vlogo kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae*, saj so odporne na večje koncentracije etanola, ki ga je v nadaljevanju fermentacije vse več. Poleg splošno priznanega pravila, da najboljše vino pridelamo v vinogradu, velja tudi, da različni sevi kvasovk različno in značilno prispevajo h končni senzorični kakovosti vina.

Poleg kvasovk pa pridejo v mošt tudi mlečnokislinske (MKB) in očetnokislinske (OKB) bakterije. MKB, kot so bakterije vrst *Oenococcus oeni*, *Pediococcus parvulus*, *P. pentosaceus*, različne vrste rodu *Lactobacillus*, so v moštu prisotne v koncentraciji okrog 10^3 CFU/mL. Prisotnost OKB je odvisna zlasti od poškodovanosti grozdja, na katerem najdemo predvsem vrste *Acetobacter pasteurianus*, *A. aceti* in *Gluconobacter oxydans*.

Sestava mikroorganizmov se iz leta v leto spreminja, odvisna pa je predvsem od geografske lokacije, klimatskih razmer, starosti in sort vinske trte, zrelosti grozdja, uporabe fungicidov ter poškodb grozdja zaradi napadov ptičev, insektov ali plesni.

Kvasovke so najštevilčnejše na tistih predelih kože grozdne jagode, kjer se lahko izceja grozdni sok. Ozko področje jagode okrog peclja vsebuje več celic kot srednji in spodnji del jagode. Razlike so odvisne tudi od predela grozda, s katerega je bila jagoda odtrgana. Na zgornjem delu je koncentracija kvasovk deset- do stokrat večja kot na spodnjem ali srednjem delu. Različna je tudi koncentracija kvasovk na zdravih ($1 \cdot 10^3$ - $6 \cdot 10^3$ CFU/mL) in rahlo poškodovanih $1,1 \cdot 10^5$ - $1,1 \cdot 10^6$ CFU/mL (Košmerl, 2003).

2.5.2 Fiziološke lastnosti kvasovk med fermentacijo

2.5.2.1 Prezem hranil

Transport sladkorjev

Sladkorji vstopajo skozi celično steno in membrano kvasne celice preko treh mehanizmov vstopa: prosta difuzija, posredna (olajšana) difuzija in aktivni transport.

Transport sladkorjev je zelo kompleksen in kontroliran, saj posedujejo kvasovke vrste *S. cerevisiae* multigeni sistem pri transportu glukoze, podobno kot višji organizmi (sesalci). Med enajstimi geni, udeleženi v transportu heksoz, sta samo dva pomembna v enologiji (HXT1 in HXT2), predvsem zaradi velike koncentracije sladkorjev v mediju (Barre, 1998).

Aktivnost transporta heksoz regulira dostopen dušik v mediju in sposobnost sinteze proteinov (Salmon, 1989). Z osiromašenjem mošta na asimilacijskem dušiku, se transport heksoz zmanjša. To je v enologiji izredno pomembno, saj velja, da okrog 50 do 70 % alkoholne fermentacije poteče v stacionarni fazi rasti kvasovk (Barre, 1998).

Transport vitaminov

Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* potrebujejo med fermentacijo naslednje vitamine: biotin, pantotensko kislino, mioinozitol in nikotinsko kislino (Barre, 1998).

Preglednica 2: Vitamini in njihovo delovanje (Košmerl, 2003)

vitamin	ime	delovanje
B1	tiamin	deluje na encimsko dekarboksilazo; deluje v sinergiji z vitaminom C; pospeši rast in poveča biomaso; koncentracija kvasovk 10^5 - 10^6 CFU/mL lahko popolnoma porabi tiamin v 2-12 urah
B2	riboflavin	aktivira encimski proces, tako preko oksidativne razgradnje piruvične kisline, maščobnih kislin in aminokislin kot preko izmenjave elektronov
PP	niacin	reducira tvorbo etilacetata; kontrolira tvorbo keto kislin; v primeru pomanjkanja tega vitamina in vitaminov B5 in B6 pride do prekomerne porabe tiamina; nadomestimo ga s triptofanom
B5	pantotenska kislina, kalcijev pantotenat	njegov aktivni del koencim A (acetyl) prenaša acilne skupine pri encimskih reakcijah, pri oksidaciji piruvične kisline in maščobnih kislin
B6	piridoksin	ureja transaminacijo in tvorbo α -ketoglutarjeve kisline
B12	kobalamin, cianokobalamin	ureja rast oziroma hitrost razmnoževanja kvasovk; deluje v reakcijah dekarboksilacije in deaminacije; deluje v sinergiji z vitaminom B5
H	biotin	vpliva na razmnoževanje kvasovk, deluje v encimskih reakcijah dekarboksilacije in deaminacije; ob pomanjkanju se spremeni glicerol-piruvična fermentacija, dodatno pa se zmanjša tudi tvorba jantarne kisline
D2	ergosterol	faktor preživetja: pomaga kvasovki pri dokončnem povretju sladkorjev, stimulira tvorbo glicerola, zmanjša tvorbo očetne kisline in acetaldehida, spremeni aromatično strukturo vina

Transport dušikovih komponent

Mošt vsebuje različne dušikove komponente, ki jih kvasovka lahko asimilira: prosti amonijev ion (NH_4^+), aminokislina, peptide in krajše polipeptide. Aminokislinska sestava mošta je skupaj s koncentracijo sladkorjev in skupnih kislin glavni kakovostni parameter kemijske sestave mošta. Znano je, da je koncentracija skupnih in prostih aminokislin v pozitivni korelaciji s stopnjo zrelosti grozdja. Količina skupnega dušika v moštu je od 98 do 1130 mg/L, povprečje 390 mg/L. Ob zrelosti predstavljajo amonijeve soli od 3 do 10 % skupnega dušika. Aminokislina so med fermentacijo pomemben vir dušika za kvasovke, ki jih izkoriščajo za izgradnjo lastnih strukturnih in funkcijskih proteinov. Tako vplivajo na rast biomase, normalen potek fermentacije in sodelujejo pri tvorbi aromatičnih snovi vina.

Transport amonijevega iona in uree

Dokazani sta dve permeazi. Transport nekompetitivno inhibira več aminokislin in potrebuje prisotnost fermentabilnega ali oksidacijskega vira energije. Urea se transportira preko dveh mehanizmov: prvi je aktivni transportni sistem, drugi pa pasivna ali olajšana difuzija.

Transport aminokislin

Določenih je bilo vsaj 11 specifičnih transportnih sistemov za eno ali več majhnih skupin L-aminokislin. Pri tem igra glavno vlogo splošna aminokislinska permeaza (GAP ali General Amino acid Permease), ki transportira aminokislino, ko se asimilacijski vir dušika porabi. GAP je glavni transportni mehanizem za aminokislino med poznejšimi fazami fermentacije, ker GAP inhibira amonijev ion, njegovo delovanje pa sovpada z osiromašenjem z dušikom. Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* morajo med rastjo sintetizirati vse potrebne beljakovine. Aminokislino lahko kvasovke direktno inkorporirajo v proteine, ali jih uporabijo kot vir ogljika po deaminaciji oziroma kot prekursor za drugo aminokislino. Pri transportu aminokislin obstaja vsaj 15 različnih transportnih sistemov, pri nekaterih je NH_4^+ ion inhibitor.

Preglednica 3: Razdelitev aminokislin glede na hitrost absorpcije v celico (Barre, 1998)

skupina	hitrost absorpcije	Aminokislina
A	hitra absorpcija	arginin, asparagin, aspartat, glutamin, izolevcin, levcin, lizin, serin, treonin, NH_4^+ ion
B	počasna absorpcija	glutamat, alanin, histidin, metionin, fenilalanin, valin
C	absorpcija po izčrpanju mošta s skupinama A in B	glicin, triptofan, tirozin
D	delna oz. nič absorpcije	prolin

2.5.2.2 Metabolne poti

Metabolizem sladkorjev

Kvasovke so kemo-organotrofi. Sladkorji so glavni vir ogljika in energije. Med fermentacijo grozdnega mošta se sladkorji (glukoza, fruktoza) presnavljajo v bioprocesu glikolize. Pentoz kvasovke ne fermentirajo.

Prva faza alkoholne fermentacije je po absorpciji glukoze in fruktoze fosforilacija sladkorjev. Glavno vlogo igra encima heksokinaza in glukokinaza. Heksokinaza fosforilira glukozo in fruktozo v razmerju 3:1 v korist glukoze, zato se najprej porabi glukozo in nato fruktozo.

Takoj po inokulaciji mošta s kvasovkami vrste *S. cerevisiae* se tvorba etanola še ne začne, saj glukozo inhibira encima piruvat dekarboksilazo in alkohol dehidrogenazo. Vendar pa se tvorijo glicerol, piruvat, sukcinat, druge organskih kisline. Iz 16,6-17 g/L sladkorjev se tvori okrog 1 vol.% etanola, ki gre s prosto difuzijo iz celice. Istočasno se sprosti 1,4-1,5 g CO_2 na 1 g sladkorjev.

Metabolizem dušika

Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* morajo med rastjo sintetizirati vse proteine, potrebne za rast in razvoj. Zato morajo biti ob pomanjkanju aminokislin kvasovke sposobne tudi njihove sinteze. Kvasovke vrste *S. cerevisiae* imajo zato sposobnost transaminacije aminokislin in α -keto kislin.

Prevzem in metabolizem dušikovih komponent s kvasovkami vrste *S. cerevisiae* ni odvisen samo od seva kvasovk in njenih fizioloških pogojev, temveč tudi od kemijskih in fizikalnih lastnosti v okolju. Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* lahko rastejo v širokem spektru

dušikovih komponent, vsebujoč amonijev ion, ureo, aminokislino, manjše peptide, purinske in pirimidinske baze.

Asimilacijski vir dušika

Najpomembnejši vir dušika predstavlja arginin, ki daje 30-50 % celotnega dušika. Lizin, serin, treonin, levcin, aspartat in glutamat so naslednje aminokislino, ki se uporabijo. Glicin, tirozin, triptofan in alanin so zadnje transportirane aminokislino. Nepopolna poraba arginina je posledica prevzema amonijevega iona.

Najbolj zaželen vir dušika po argininu so amonijev ion, serin, treonin, levcin in histidin. Med fermentacijo nastajajo iz razvejanih aminokislin višji alkoholi. Mehanizem vključuje začetne transaminacije med aminokislino in α -keto kislinami z nadaljnimi dekarboksilacijami in redukcijami (Lambrechts in Pretorius, 2000).

Glavni del ogljikovih skeletov v proteinih pride iz eksogenih aminokislin oz. α -keto kislin iz metabolizma sladkorjev. Velik del deaminiranih aminokislin se izloči v medij oz. po dekarboksilaciji in redukciji pretvori v višje alkohole (Barre, 1998).

Glavni namen vseh dušikovih komponent, akumuliranih v kvasovki, je njihova razgradnja v amonijev ion oz. v glutamat (Barre, 1998). Ti dve komponenti sta glavna prekursorja vseh reakcij sinteze dušikovih komponent v kvasovki.

Metabolizem žveplovih spojin

Metabolizem žveplovih spojin kvasovk vrste *S. cerevisiae* ima v enologiji vse večjo vlogo. Te komponente so v splošnem zelo reaktivne in zaznavne pri zelo majhnih koncentracijah (Barre, 1998). Kvasovka lahko inkorporira in metabolizira že prisotne žveplove snovi v moštu (sulfate, žveplovsebujoče aminokislino, glutation, tiamin, biotin), vendar pa lahko tudi tvori različne žveplove komponente in jih izloči v medij (sulfit, vodikov sulfid, dimetilsulfid, merkaptane, tioestre, idr.).

Sulfat se najprej s fosforilacijo aktivira v APS (adenozin-5'-fosfosulfat), nato pa v PAPS (3'-fosfoadenozin-5'-fosfosulfat). Pri tem se porabita dve molekuli ATP. Ti dve molekuli sta zelo reaktivni in lahko direktno tvorita sulfat ali estre. Predvsem pa reducirajo sulfat (SO_4^{2-}) v sulfit (SO_3^-), nakar sledi redukcija sulfita v sulfid (S_2^-), glavno komponento metabolizma žvepla, predvsem žveplo-vsebujočih aminokislin. Vir žvepla so lahko še: metionin, serin, treonin, nikoli pa cistein. Cistein nastane iz serina in igra glavno vlogo pri regulaciji in prevzemu žvepla s kvasovkami. Prisotnost te aminokislino v celici zaustavi redukcijo sulfita v žveplo in blokira asimilacijo sulfata pri tvorbi žveplovsebujočih aminokislin (Barre, 1998).

2.5.2.3 Metabolni produkti

Ko je mošt inokuliran s kvasovkami vrste *S. cerevisiae*, se tvorba etanola ne začne takoj (Barre, 1998). Nekateri pomembni encimi v alkoholni fermentaciji (piruvat dekarboksilaza in alkohol dehidrogenaza) so namreč inhibirani s strani glukoze (Barre, 1998). Posledično se tvorijo številne druge komponente: glicerol, piruvat, sukcinat in druge organske kisline (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Etanol

Je glavni produkt alkoholne fermentacije in lahko v normalni fermentaciji doseže 12 do 14 vol.%. Ker je molekula zelo majhna in hidrofilna, celico zapušča s prosto difuzijo.

Ogljikov dioksid

Pri parcialnem tlaku 0,15-0,20 atm sta rast in aktivnost kvasovk stimulirani, ne pa moteni. Nad to vrednostjo pa se aktivnost kvasovk zmanjša. Pri tako nizkem pH vina difundira samo CO₂ in ne HCO₃⁻ (hidrogenkarbonatni ion). Nasprotno pa slednji v notranjosti prevladuje, saj je pH blizu nevtralnega.

Glicerol

Je najbolj zastopana komponenta v ekstraktu suhih vinih. Vinu daje poln, prijeten in harmoničen okus. Njegova koncentracija se giblje okrog 5-8 g/L in je odvisna od vsebnosti sladkorjev v moštu, temperature fermentacije, seva kvasovk in vsebnosti pantotenske kisline. Substrat za produkcijo glicerola je sladkor. V procesu glikolize je dihidroksiacetonfosfat prekursor za nastanek glicerola. Encim dihidroksiacetonfosfat reduktaza reducira dihidroksiacetonfosfat v glicerolfosfat ob hkratni reoksidaciji NADH molekule v NAD⁺. Nadalje encim glicerolfosfat fosfataza defosforilira glicerolfosfat v glicerol. Poleg regeneracije NAD⁺ pri tvorbi alkohola, se ta lahko regenerira tudi pri tvorbi glicerola. SO₂ tvori kompleks z acetaldehidom, kar onemogoča reoksidacijo NADH v NAD⁺. Med fermentacijo nastane glicerola od 5 do 11 g/L. Celico zapusti s pasivno difuzijo (Barre, 1998). Tvorba glicerola služi kvasovki tudi pri vzdrževanju osmotskega tlaka. Med fermentacijo pomeni tvorba glicerola vzdrževanje bilance oksidacijsko-redukcijskega ravnotežja. Pri njegovi tvorbi pa se ATP porablja.

Organske kisline

So pomembna komponenta okusa in stabilnosti vina. Hlapne kisline (razen očetne) ne igrajo pomembnejše vloge v izoblikovanju vonja vina. Po izvoru so organske kisline lahko razgradni produkti sladkorjev ali aminokislin, v primeru očetne kisline, pa tudi produkt razgradnje maščobnih kislin.

Koncentracija vinske kisline se med fermentacijo zmanjšuje, ker se izloča v obliki soli.

Jabolčno kislino kvasovke med fermentacijo deloma pretvorijo v zelo majhni količini v etanol (vrsta *Shizosaccharomyces pombe*) in nekoliko več v jantarno kislino (0,8-1,5 g/L). Močan vpliv na razgradnjo jabolčne kisline imajo mlečnokislinske bakterije. Jabolčna kislina daje vinu oster, nezrel okus.

Mlečna kislina nastane s presnovo jabolčne kisline, kot produkt delovanja mlečnokislinskih bakterij (jabolčno-mlečnokislinska fermentacija).

Med organskimi kislinami predstavlja jantarna kislina, podobno kot glicerol, enega glavnih sekundarnih produktov fermentacije. V vinu lahko doseže koncentracijo 1 g/L in več. Po izvoru nastane iz jabolčne kisline ali pa iz sladkorja preko piruvične kisline z encimi v Krebsovem ciklu. Pri fermentaciji se 0,3 do 0,5 % sladkorjev pretvori v jantarno kislino. Manj dušika kot ima kvasovka na razpolago, več jantarne kisline tvori in obratno.

Pri običajnih razmerah fermentacije mošta (anaerobioza in velika koncentracija sladkorjev) ostaja pot tvorbe sukcinata še vedno stvar deljenih mnenj: nekateri avtorji zagotavljajo normalno (oksidativno) delovanje, vendar zelo upočasnjen cikel trikarboksilnih kislin; medtem ko drugi avtorji kažejo domala prekinjen cikel in vpliv reduktivnega delovanja, domnevno zaradi motene aktivnosti piruvat karboksilaze (Barre, 1998).

Ostale organske kisline, ki se tvorijo med fermentacijo so še acetat, α -ketoglutarat, malat in citrat, ki nastanejo direktno v TCA ciklu.

Ocetna kislina se tvori na začetku fermentacije, njena tvorba pa se ustavi, kakor hitro sladkor prefermentira. Večje koncentracije očetne kisline se tvorijo pri pH pod 3,2 in nad 4. Tvorba očetne kisline s kvasovkami vrste *S. cerevisiae* je odvisna od vsebnosti sladkorjev, dušika in vrednosti pH (Barre, 1998).

Prisotne so tudi različne maščobne kisline. Nenasičene maščobne kisline nastanejo pri reakcijah nenasičenja nasičenih maščobnih kislin. Glavne so palmitinska (C 16:0), palmitooleinska (C 16:1), stearinska (C 18:0) in oleinska (C 18:1). Kratkoverižne maščobne kisline pa predstavljajo kapronska, kaprilna in kapronska. Vse maščobne kisline so prekurzorji pri tvorbi estrov.

Komponente fermentacijske arome

Aroma vina je sestavljena iz 600-800 različnih hlapnih komponent, s skupno koncentracijo okoli 1 g/L. Ker je fermentacijski proces nesporno pomemben vir arome vina, iz tega sledi, da imajo sevi kvasovk glavni vpliv na tvorbo hlapnih snovi.

Tvorba kvasne arome lahko razdelimo na pet glavnih kemijskih kategorij: alkohole, estre, karbonilne komponente (aldehide in ketone), žveplovsebujoče komponente in organske kisline. Od vseh petih kategorij imajo karbonilne komponente in organske kisline minimalni senzorični vpliv, z nekaj izjemami kot so acetaldehid, diacetil in očetna kislina. Višji alkoholi, estri in žveplovsebujoče komponente pa pomembno prispevajo k fermentacijski aromi.

Višji alkoholi

Višji alkoholi so kvantitativno največja skupina komponent arome v alkoholnih pijačah in so sekundarni produkti alkoholne fermentacije (Lambrechts in Pretorius, 2000). Višje alkohole prepoznamo po ostrem, zbadljivem vonju in okusu. Čeprav kažejo neprijetno aromo, pa v koncentracijah, ki jih najdemo v vinu (pod 300 mg/L), zaželeno prispevajo h kompleksnosti vina.

Ko njihova koncentracija presega 400 mg/L, imajo višji alkoholi negativen senzoričen vpliv. Višje alkohole delimo na alifatske (propanol, izobutanol, n-amil alkohol, izoamil alkohol) in aromatske (2-feniletanol, tirozol).

Višji alkoholi so pomembni prekurzorji pri tvorbi estrov (Lambrechts in Pretorius, 2000), estri višjih alkoholov pa so povezani s prijetno aromo. Tvorijo se med fermentacijo s konverzijo razvejanih aminokislin: valina, levcina, izolevcina, treonina in fenilalanina. Lahko pa nastajajo »de novo« iz sladkorjev. Mehanizem vsebuje začetne transaminacije med aminokislinami in α -keto kislinami z nadaljnimi dekarboksilacijami in redukcijami (Lambrechts in Pretorius, 2000). Zadnji redukcijski korak vsebuje oksidacijo $\text{NADH} + \text{H}^+$ v NAD^+ in tako pomaga vzdrževati redoks bilanco v celici. Fiziološko, oksidativna deaminacija pa oskrbuje kvasovke z mehanizmom za pridobitev več dušika, ko se je »pool« izčrpal.

Z uporabo radiktivne sledi so ugotovili, da nastane 35 % višjih alkoholov iz ogljikovih hidratov (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Na tvorbo višjih alkoholov vplivajo: sev kvasovk, hitrost njihove rasti, tvorba etanola, temperatura fermentacije, pH mošta, aeracija, vsebnost trdnih delcev, sorta grozdja, zrelost in čas maceracije (Lambrechts in Pretorius, 2000).

Preglednica 4: Koncentracija in vonj najpomembnejših višjih alkoholov v vinu ter njihovi prekursorji (Lambrechts in Pretorius, 2000)

višji alkoholi	aminokislina	koncentracija v vinu (mg/L)	vonj
propanol	treonin	9-68	/
butanol	/	0,5-8,5	gorivo, nafta
izobutanol	valin	2-28	alkoholni
n-amil alkohol	izolevcin	15-150	marcipan
izoamil alkohol	levcin	45-490	marcipan
heksanol	/	0,3-12	/
tirozol	tirozin	/	vosek, med
triptofol	triptofan	/	/
2-feniletanol	fenilalanin	10-180	cveten, saden

Estri

Estri so v vinu največja skupina hlapnih komponent. V grozdju, moštu in vinu najdemo več kot 300 estrov in laktonov. Prvi so v veliki meri odgovorni za sadne arome predvsem mladih vin.

Večina estrov se tvori med fermentacijo kot sekundarni produkti metabolizma sladkorjev. Razdelimo jih v dve skupini (Lambrechts in Pretorius, 2000):

- nepolarne (imajo nizek prag zaznave, prispevajo k sadnosti vina): etilacetat, izoamil acetat, etil oktanoat, etil heksanoat.
- polarne (ne vplivajo na aromo, marveč na »telo« vina): 2-etil-hidroksi propanoat, etil-4-hidroksibutanoat.

Najpomembnejši so acetatni estri višjih alkoholov: etilacetat, izoamil acetat, izobutil acetat, etil heksanoat, 2-feniletil acetat. Le etilacetat v koncentracijah nad 200 mg/L daje v vinu neprijetno notot v vonju, kar je lahko odvisno od koncentracije resna napaka vina.

Estri nastanejo večinoma iz acetil-CoA, ki prihaja iz dekarboksilacije piruvata. Ta aktivirana oblika predstavlja donor acilne skupine. Sinteza estrov je torej endotermna. Kvasovke tvorijo estre zato, da odstranijo toksične maščobne kisline in zmanjšajo acetilni naboj, saj je zanje esencialnega pomena, da vzdržujejo bilanco med acetil-CoA in CoASH.

2.5.3 Fizikalno-kemijske razmere med alkoholno fermentacijo

Razlikujemo tri glavne faze rastnega ciklusa kvasovk (Lafon Lafourcade, 1983):

- lag faza prilagajanja;
- faza razmnoževanja, ki traja 2 do 5 dni in v kateri naraste populacija do 10^7 CFU/mL;
- kvazi stacionarna faza, ki traja okrog 8 dni;
- pojemajoča faza, ki zreducira živo populacijo do 10^5 CFU/mL; ta faza lahko traja nekaj tednov.

To je cikel klasične mikrobne rasti, ki pa ima nekaj posebnosti:

- trajanje je relativno dolgo;
- celotna rast je omejena na 4 do 5 generacij;
- rast se ustavi, preden se v celoti porabijo sladkorji.

Dnevna asimilacija je v prvih desetih dneh okrog 15 g/L sladkorjev, nato pa pade na 5 g/L. Upočasnitev in zaustavitev fermentacije je posledica izčrpanega celičnega ATP. Inhibicija se pojavi, ko se etanol začne akumulirati. Poleg tega je zaradi zmanjšane vsebnosti dušika otežen in upočasnjen transport sladkorjev v celico.

S tehnološkega vidika obstaja veliko dejavnikov, ki vplivajo na fermentacijo (Lafon Lafourcade, 1983):

- zelo velika koncentracija sladkorjev podaljša začetek fermentacije, hitrost se zmanjša;
- etanol je glavni inhibitor, ki povzroči inhibicijo alkohol dehidrogenaze. Tudi višji alkoholi kažejo inhibicijo. V sinergizmu z etanolom krajše maščobne kisline in njeni estri povzročijo slabšo preživelost kvasovk;
- ogljikov dioksid v večji količini deluje inhibitorno;
- temperature nad 35 °C inhibirajo rast, nižje temperature (pod 15 °C) pa jo upočasnijo;
- prisotnost inhibitornih substanc plesni vrste *Botrytis cinerea* in bakterij rodu *Gluconobacter* v moštu;
- prisotnost ostankov pesticidov v moštu;
- stopnja bistrosti mošta: v preveč zbistrenih moštih je:
 - a) odstranjen del mikroflоре,
 - b) kvasovkam je odvzeta podpora in delci, ki lahko adsorbirajo toksične snovi, ki jih tvorijo same kvasovke,
 - c) so odstranjene hranilne snovi, ki se ekstrahirajo med fermentacijo,
- dodatek kemijskih aktivatorjev: fosfat, amonijeve soli, tiamin;
- aeracija: pri rdečem grozdju prečrpavanje čez klobuk
 - a) pospeši sintezo sterolov,
 - b) olajša difuzijo oleinske kisline v toplem in alkoholnem mediju,
 - c) zagotavlja boljšo distribucijo kvasovk v celotno fermentacijsko posodo.

Temperatura

Metabolizem kvasovk je odvisen od temperature. Kvasovke, glede na vrsto in sev, delujejo različno hitro pri temperaturah med 4 in 40 °C. Optimalno območje zanje, ne pa z enološkega vidika za kakovost vina, je med 25 in 35 °C.

Razen na hitrost fermentacije ima temperatura značilen vpliv tudi na tvorbo sekundarnih metabolitov, ki zelo določajo kakovost vina. Optimalna temperatura fermentacije je odvisna od senzoričnih lastnosti vina, ki jih želimo doseči.

Toksični učinki nekaterih snovi na kvasovke (npr. alkohola) se povečujejo z naraščanjem temperature.

pH

Kvasovke vrste *S. cerevisiae* lahko fermentirajo znotraj celotnega pH območja mošta. Kljub temu pa lahko pri pH nad 3,5 prevladajo avtohtoni mikroorganizmi. Pri pH vrednosti pod 3,0 se aktivnost kvasovk zmanjša, celice težje sprejemajo dušikove snovi, hkrati se povečajo negativni učinki možnih pomanjkanj. Kljub temu, da je pH okolja kisel, pa je v notranjosti celice blizu pH 7,0.

Prisotnost kisika

Alkoholna fermentacija mošta poteka v kvazi-anaerobnih razmerah, saj je vsebnost razpoložljivega kisika v moštu na začetku fermentacije pod 10 mg/L. Za doseg dovolj velike populacije kvasovk, ki bo omogočila dokončanje alkoholne fermentacije mošta z dobrimi rezultati, morajo kvasovke namnožiti minimalno 4-5 generacij. Poleg dušika, sladkorjev in vitaminov, potrebujejo kvasovke še molekularni kisik, da lahko združijo nekatere elemente celičnih membran, ki so pomembni zaradi funkcionalnosti le-te: sterole in nasičene maščobne kisline. V primeru popolne anaerobnosti imajo kvasovke sterolov in maščobnih kislin le za dve ali tri generacije. Celice so tako bolj občutljive na zunanje dejavnike in sestavine okolja (temperatura, alkohol, pomanjkanje hranilnih snovi). Suhe kvasovke, ki so bile namnožene z

uporabo velikih količin kisika, imajo večjo vsebnost sterolov in nasičenih maščobnih kislin, kot jo ima tekoča kultura kvasovk, namnožena v anaerobnih razmerah.

Prisotnost trdnih delcev

Znano je, da ima fermentacija pravilen potek, ko so v suspenziji trdni delci. Le-ti delujejo kot tvorni centri ogljikovega dioksida in kot podpora za kvasovke. Tako olajšajo fermentacijsko aktivnost kvasovk. Hkrati pa trdni delci povečajo tudi vsebnost višjih alkoholov.

Eksogeni inhibitorji

To so predvsem različni pesticidi, ki se uporabljajo v vinogradu in se nahajajo v moštu v nezanemarljivih količinah. Njihova razgradnja lahko vodi do neželenih žveplovih spojin. Predvsem fungicidi triazolov in imidazolov (snovi, ki blokirajo pot biosinteze ergosterola pri glivnih parazitih na trti, kot je oidij), spremenijo tekočnost membrane kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* s spremembo vsebnosti njenih sterolov in nasičenih maščobnih kislin, kar povzroča večjo občutljivost kvasovk na etanol (Barre, 1998).

Endogeni inhibitorji

Sem prištevamo predvsem višje alkohole, acetaldehid, kratkoverižne maščobne kisline, hidrogenkarbonat in CO₂. Višji alkoholi, podobno kot etanol spremenijo elektrokemijski potencial na membrani. Vsebnost acetaldehida je v celici tudi do 10-krat večja kot v mediju in deluje toksično tudi na celico. Toksičnost kratkoverižnih maščobnih kislin se kaže v spremembi prepustnosti plazemske membrane. V notranjosti celice dosega koncentracija hidrogenkarbonatnega iona 10 mM, kar deluje inhibitorno na številne reakcije dekarboksilacije: izocitrata v α -ketoglutarat; inhibicija dekarboksilacije 6-fosfoglukonata v ribulozo-5-fosfat pa vodi v redukcijo biosinteze nukleotidov. Prav tako deluje inhibitorno ogljikov dioksid, ki vpliva na strukturo membrane, predvsem vsebnost maščobnih kislin. Ta sprememba v prepustnosti membrane vodi pri spremembi temperature in/ali večjem tlaku (2 atm) do sproščanja α -acetohidroksi kislin in tvorbe večjih količin diketona vicinala (Barre, 1998).

Žveplov dioksid

Žveplov dioksid se v moštu raztaplja v obliki žveplove(IV) kisline. Njegov baktericidni učinek zagotavlja selekcijske pogoje v moštu, v katerih je med lag fazo prilagajanja selekcionirane kulture kvasovk preprečen razvoj bakterij in ne-*Saccharomyces* rodov kvasovk, hitreje rastočih sevov kvasovk, z neželenim kvarnim vplivom.

Vsebnost SO₂ v moštu ima tudi neugoden vpliv na dodano startersko kulturo:

- podaljšuje lag fazo selekcionirane kulture,
- zmanjšuje hitrost rasti selekcionirane kulture,
- podaljšuje celoten proces fermentacije ter
- pospešuje odmiranje kvasovk.

Vino, fermentirano v prisotnosti SO₂, ima običajno večjo vsebnost acetaldehida, kot pri fermentaciji brez. Dodani SO₂ se namreč hitro veže na acetaldehid, zavira reoksidacijo NADH molekul in pretvorbo acetaldehida v etanol.

Problem pri merjenju vpliva SO₂ na kvasovke je pH in spojine, ki vežejo žveplo. Tako je potrebno približno 1-2 mg/L molekularnega SO₂, da je preprečena rast kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*, vendar je pri pH 3,5 za to potrebnih 100 mg/L skupnega SO₂. Za inhibicijo rasti kvasovk vrste *S. cerevisiae* je potrebnih 50 mg/L prostega SO₂ pri pH 3,0; vendar pa ta koncentracija ne zadošča pri pH 3,2 (Barre, 1998).

2.5.4 Dodatek hrane za kvasovke

Na začetku vsake fermentacije potrebujejo kvasovke razpoložljiv dušik za sintezo najprej ustreznih aminokislin, kar omogoča sintezo strukturnih in funkcijskih beljakovin, del aminokislin pa "uskladiščijo" v vakuolah, kjer služijo kot rezerva. Pri pomanjkanju dušika je zaradi energetskih poškodb (izčrpanosti celične membrane) upočasnen ali onemogočen transport esencialnih snovi (NH_4^+ in aminokislin), kar praktično že pomeni upočasnitev fermentacije (Košmerl, 2003).

Za rešitev problemov, povezanih s pomanjkanjem dušika, se lahko poslužujemo bodisi optimizacije gnojenja vinogradov, bodisi običajnega dodatka hrane za kvasovke, najpogosteje amonijakalnih soli v obliki diamonijevega hidrogenfosfata (DAP). Dodatek anorganskega dušika je zakonsko omejen, kajti njegova prevelika akumulacija vodi v mikrobiološko nestabilnost in tvorbo etilkarbamata (ter fosfata v primeru dodatka samo DAP) (Lisjak, 2002). V razmerah pomanjkanja dušikovih spojin je znano, da kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* niso sposobne hidrolize ustreznih beljakovin ob sprostitvi amonijaka in aminokislin. Dejstvo pa je, da se posamezni sevi med seboj razlikujejo in ločijo med lahko in slabo izkoristljivimi viri dušika. Običajno je najlažje izkoristljiva in dostopna oblika amonijak, kateremu v različnem vrstnem redu sledijo posamezne aminokisliline glede na način, ki ga določajo njihove relativne koncentracije, z ozirom na zahteve kvasovk in skupno koncentracijo razpoložljivega dušika (Košmerl, 2003). Dokler kvasovke praktično v celoti ne porabijo NH_4^+ , asparaginske in glutaminske kisline, so represirani geni, vključeni v porabo in katabolizem slabše izkoristljivih oblik dušika, vključno s prolinom (Lambrecht in Pretorius, 2000).

Vsebnost anorganskega dušika, tj. amonijaka, povečamo z dodatkom hrane za kvasovke ob inokulaciji mošta. Dodatek amonijakalnega dušika je obvezen pri koncentraciji manj kot 25 mg NH_4^+ /L. Običajni dodatki DAP so med 10-20 g/hL. Pri dodatku 10 g DAP/hL se poveča kislost mošta za 0,52 g vinske kisline/L. Istočasno se lahko upočasni ali delno inhibira inkorporacija prisotnih aminokislin, zato se priporoča dodatek hrane po začetku fermentacije, (ko dodan DAP ne more dalj časa služiti kot hranilni stres), ali pa večkratni dodatek manjših količin (Boulton in sod., 1996).

Mehanizem biosinteze beljakovin je namreč tesno reguliran z vsebnostjo razpoložljivega dušika, ki se lahko hitro poruši v razmerah dušikovega stresa. Posledica prekinitve sinteze beljakovin vodi do ireverzibilne inaktivacije celične membrane kvasovk, kar je združeno z encimskim transportnim sistemom sladkorjev v celico: le-ta se najprej upočasni, kar povzroči zmanjšanje potrebne energije (tvorba ATP med glikolizo), to pa posledično upočasni in inhibira potrebno fosforilacijo glukoze pred vstopom v oksidativno pot pretvorbe (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Pogosto v praksi tudi pomanjkanje prostih aminokislin korigiramo z dodatkom amonijakalnih soli. Najpogosteje uporabljena sta diamonijev hidrogenfosfat ali sulfat, katerima so lahko dodani tudi vitamini. Klasičnim enostavnim hranilom za kvasovke so poleg diamonijevega hidrogenfosfata in amonijevega sulfata dodani še vitamini (vsaj tiamin). Znano je, da DAP stimulira rast kvasne biomase, je pa neučinkovit do mlečnokislinskih bakterij, ki potrebujejo za svojo rast bistveno bolj kompleksno mešanico aminokislin, vitaminov in kvasnega ekstrakta.

Kompleksnejše hrane za kvasovke se sestojijo iz DAP, kvasnega ekstrakta in avtoliziranih topnih celičnih sten kvasovk, celičnega jedra in citoplazme inaktiviranih kvasovk, z veliko vsebnostjo prostih aminokislin in vitaminov. Zlasti pomembno vlogo igrajo topne celične stene kvasovk, ki služijo za vezavo toksičnih maščobnih kislin. Celične stene kvasovk se sestojijo v glavnem iz polisaharidov in ostalih komponent celične membrane, kemijska sestava pa je odvisna od seva kvasovk, starosti celic in pogojev rasti.

Vpliv celičnih sten kvasovk na potek fermentacije se kaže v počasni sprostitvi dušikovih spojin, ki jih kvasovke lahko asimilirajo, nadalje v stimulaciji celičnega mehanizma živih kvasovk, kar stimulira tako obseg fermentacije kot število celic v stacionarni fazi. Dodatek celičnih sten kvasovk je zlasti nepogrešljiv pri refermentacijah, kjer se vpliv kaže v njihovi adsorpciji toksičnih C8 in C10 maščobnih kislin, ki se akumulirajo v poznejših stopnjah alkoholne in/ali jabolčno-mlečnokislinske fermentacije (Košmerl, 2003).

Med fermentacijo kvasovke asimilirajo med 1-2 g/L aminokislin. Večino aminokislin mošta je praktično porabljenih do pretvorbe prvih 30 g reducirajočih sladkorjev/L, tj. v odvisnosti od seva kvasovk in fermentacijske temperature v 2-3 dneh. V normalnih anaerobnih razmerah, pri nemoteni rasti kvasnih celic in poteku fermentacije, je koncentracija prolina približno konstantna. Del prolina lahko kvasovke tudi same sintetizirajo preko arginina in ornitina, oziroma se njegova koncentracija nekoliko poveča proti koncu fermentacije zaradi avtolize kvasovk. Tedaj predstavlja njegova koncentracija več kot polovico izločenih aminokislin.

2.6 CILJ RAZISKOVANJA

Namen diplomske naloge je bil določiti vpliv:

- različnih zaščitnih sredstev na kemijsko sestavo mošta ter
- dodatka hranilnih snovi na fermentacijo in posledično na končno kakovost vina bele vinske sorte rebula.

2.7 DELOVNE HIPOTEZE

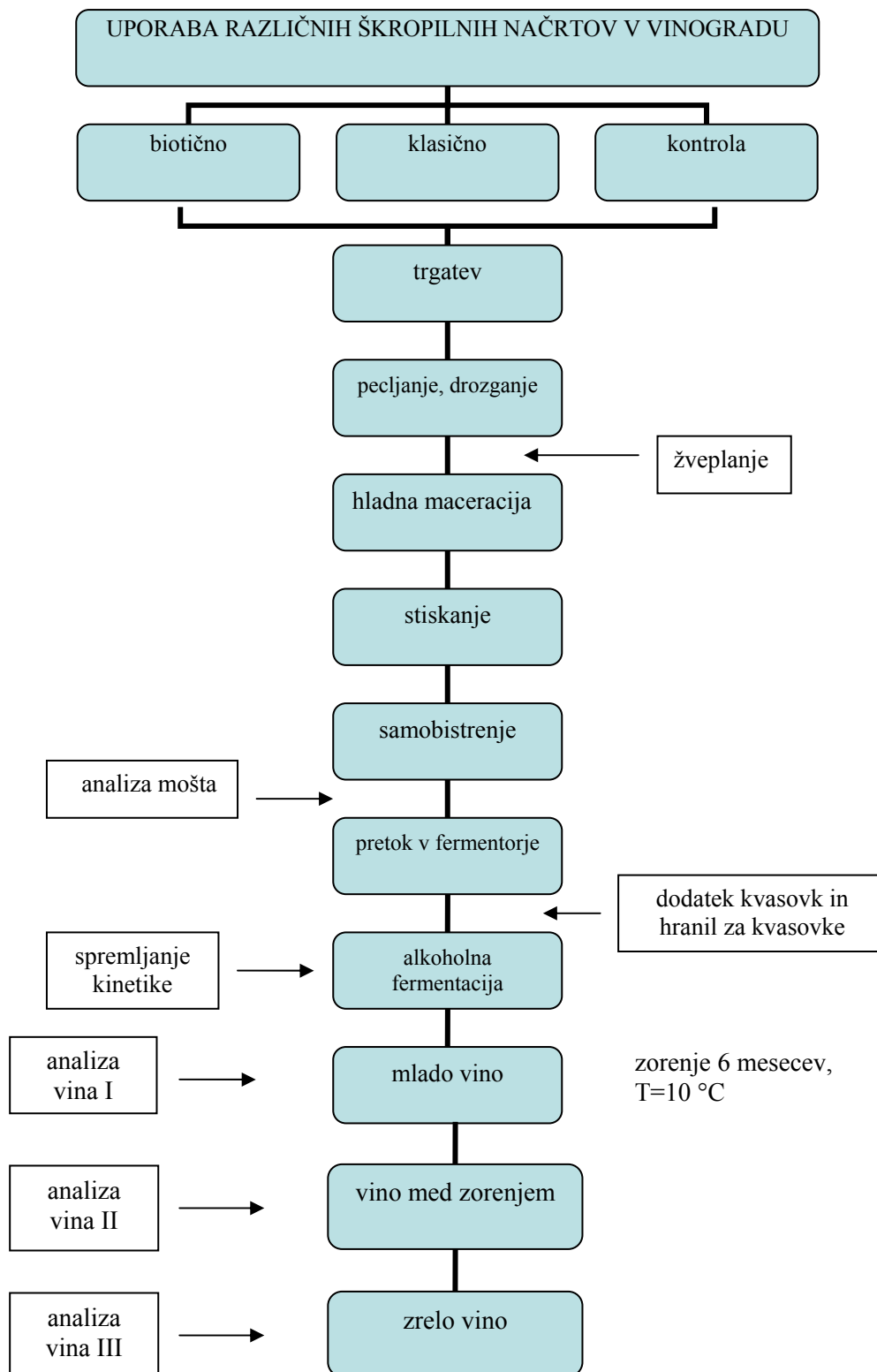
Z uporabo fitofarmaceutskega pripravka »Kanne« v vinogradu in z dodatkom različnih hranil v mošt pred fermentacijo predvidevamo, da bomo:

- vplivali na različno fizikalno-kemijsko sestavo mošta,
- izboljšali kinetiko in razmere za alkoholno fermentacijo,
- vplivali na številne metabolne reakcije, vključene v sprostitvev prekurzorjev aromatičnih snovi ter povečali sintezo posameznih aromatičnih snovi in drugih pomembnih spojin (želenih hlapnih estrov in višjih alkoholov ter glicerola),
- izboljšali fizikalno-kemijske in senzorične lastnosti vina.

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 ZASNOVA POSKUSA

Potek poskusa, v katerem smo ugotavljali vpliv škropljenja in dodatkov hranil za kvasovke na potek alkoholne fermentacije in posledično tudi na fizikalno-kemijske in senzorične lastnosti vina, je prikazan na sliki 1.



Slika 1: Potek poskusa

3.2 MATERIAL

Fitofarmaceutska sredstva

Uporabili smo sredstva za zaščito vinske trte, izbrana po škropilnem programu, prikazanem v preglednici 5.

Preglednica 5: Škropilni načrt (Kristančič, 2001)

škropljenje	datum	klasično	biotično	kontrola
1.	8.5.2002	Ridomil MZ 72 WP in Systhan 12-E	Ridomil MZ 72 WP in Systhan 12-E	Ridomil MZ 72 WP in Systhan 12-E
2.	18.5.2002	Ridomil MZ 72 WP in Systhan 12-E	Ridomil MZ 72 WP in Systhan 12-E	Ridomil MZ 72 WP in Systhan 12-E
3.	29.5.2002	Polyram DF in Kumulus DF	Polyram DF in Kumulus DF	Polyram DF in Kumulus DF
4.	8.6.2002	Polyram DF in Kumulus DF	Polyram DF in Kumulus DF	Polyram DF in Kumulus DF
5.	15.6.2002	Topas 100 EC in Dithane M-45	Topas 100 EC in Dithane M-45	Topas 100 EC in Dithane M-45
6.	25.6.2002	Topas 100 EC in Dithane M-45	Topas 100 EC in Dithane M-45	Topas 100 EC in Dithane M-45
7.	4.7.2002	Quardis in Sisthane 12-E	Quardis in Sisthane 12-E	Quardis in Sisthane 12-E
8.	14.7.2002	Quardis in Sisthane 12-E	Quardis in Sisthane 12-E	Quardis in Sisthane 12-E
9.	25.7.2002	Quardis in Sisthane 12-E	Quardis in Sisthane 12-E	Quardis in Sisthane 12-E
10.	5.8.2002	Cuprablau Z in Kumulus DF	Kanne pripravek	/
11.	12.8.2002	Cuprablau Z in Kumulus DF	Kanne pripravek	/
12.	21.8.2002	Cuprablau Z	Kanne pripravek	/

3.2.1 Sorta grozdja

Grozdje sorte rebula, letnika 2002, je bilo pridelano na kmetiji Kristančič v Goriških Brdih na šparonski vzgojni obliki (dvojni guyot). Zaradi slabih vremenskih razmer je bilo ob trgatvi okuženo 20 % pridelka s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*.

3.2.2 Starterska kultura kvasovk

Za inokulacijo mošta smo uporabili liofilizirane kvasovke Fermol Arome Plus (Fermol Arome, 2002), v količini dodatka 20 g/hL.

3.2.3 Enološki dodatki

- enostavnejše hranilo 1: Enovit (Hranila za kvasovke, 2002); 10 g/hL,
- kompleksno hranilo 2: Biostimol (Biostimol Original, 2002); 70 g/hL,
- kompleksno hranilo 3: Biostimol Plus (Biostimol Plus, 2002); 50-70 g/hL,
- žveplov dioksid v obliki kalijevega metabisulfita (K_2S_2O).

3.3 METODE DELA

Vinograd smo razdelili na tri enake dele. Prvo tretjino so škropili s škropivi, predpisanimi s Pravilnikom o integrirani pridelavi grozdja in vina (IPGV). Grozdje, pridelano s tega dela vinograda, smo označili kot vzorec »klasično«.

V drugem delu vinograda so trikrat v spomladanskem času zalivali zemljo s 25 % vodno suspenzijo pripravka »Kanne« (t.i. zimsko škropljenje) in prvih devet škropljenj opravili po škropilnem programu za vinograde v IPGV v letu 2002. Fitofarmaceutski pripravek »Kanne« uporabljamo za zatiranje glivične bolezni *Uncinola necator* ali oidija. Zadnja tri škropljenja so bila opravljena z 8 % vodno suspenzijo pripravka »Kanne«. Tako pridelano grozdje smo označili kot vzorec »biotično«.

Preostala tretjina vinograda je bila škropljena po škropilnem programu za vinograde v IPGV pridelavi z izjemo zadnjih treh škropljenj, ki so bila izpuščena. Ta vzorec je predstavljal »kontrolno«.

3.3.1 Opis tehnološke sheme

Grozdje smo potrgali 15.9.2002 in ga prepeljali na Biotehniško fakulteto, Katedro za vinarstvo, kjer se je nadaljevala izvedba poskusa. Po pecljanju in drozganju smo drozgo žveplali s K_2S_2O (5 g/kg). Nato smo opravili 12-urno hladno maceracijo drozge pri $T < 8^\circ C$, sledilo je stiskanje s pnevmatično stiskalnico Willmes in 24-urno samobistrenje mošta pri temperaturi $T < 8^\circ C$. Bister mošt smo 21.9.2002 pretočili v fermentorje in ga inokulirali z liofiliziranimi kvasovkami (20 g/hL). Naslednji dan smo dodajali hranilne snovi za kvasovke (opisane v poglavju 3.2.3) in sicer enostavnejše hranilo 1 (10 g/hL), kot je prikazano v preglednici 6, kompleksnejši hranili 2 in 3 pa smo dodali tri dni kasneje, 25.9.2002, glede na rezultate analize mošta, ki ga je izvedel Laboratorio Enochimico Polo (Treviso, Italija).

Preglednica 6: Načrt dodajanja hranil v vzorce

škropljenje	oznaka vzorca	količina mošta (L)	dodano hranilo (g/hL)
biotično	B1	18	hranilo 1 (10)
	B2	18	hranilo 2 (70), hranilo 3 (50)
	B12	18	hranilo 1 (10), hranilo 2 (70), hranilo 3 (70)
	Bbrez	18	/
klasično	KL1	30	hranilo 1 (10)
	KL2	30	hranilo 2 (70), hranilo 3 (70)
kontrola	KO1	30	hranilo 1 (10)
	KO2	30	hranilo 2 (70), hranilo 3 (70)

Vzporedno z glavnim poskusom smo opravili tudi identično alkoholno fermentacijo v fermentacijskih stekleničkah (500 mL) v dveh paralelkah, s katero smo spremljali razlike v kinetiki fermentacije tako, da smo večkrat dnevno tehtali maso steklenic, posredno pa določali maso oddanega ogljikovega dioksida.

Po končani fermentaciji, 16.10.2002, smo mlada vina pretočili in po predhodni analizi linije vezave žvepla vin le-te tudi dožveplali. Zorenje mladih vin je potekalo v steklenih posodah pri temperaturi $10^\circ C$ do konca maja 2003.

3.4 FIZIKALNE IN KEMIJSKE ANALIZE

Fizikalne in kemijske analize mošta in vina so bile opravljene na Katedri za vinarstvo, Biotehniške fakultete v Ljubljani, deloma pa v Laboratorio Enochimico Polo (Treviso, Italija). Vse meritve in analize so bile opravljene v treh ponovitvah (rezultate smo podali kot aritmetično sredino).

Med fermentacijo smo spremljali zmanjšanje koncentracije reducirajočih sladkorjev, sproščanje ogljikovega dioksida (zmanjšanje mase vrelnih steklenic), vsebnosti prostega aminokislinskega dušika (FAN) in prolina.

V moštu, mlademu vinu po pretoku, vinu po treh in nato šestih mesecih zorenja smo poleg navedenih parametrov spremljali še naslednje fizikalno-kemijske parametre: vsebnost alkohola, vrednost pH, pufrno kapaciteto, skupne kisline, relativno gostoto, skupni ekstrakt, hlapne kisline, acetaldehid, skupni in prosti žveplov dioksid, skupne fenole, pepel, terpene, višje alkohole in hlapne snovi ter organske kisline.

Predpriprava vzorcev za kemijsko analizo

Vorce mošta smo pred kemijsko analizo centrifugirali, vzorce vina pa predhodno filtrirali skozi filter papir z modrim trakom (589³ Blue ribbon, Ø 125 mm; Schleicher & Schuell), degazirali 15 minut v ultrazvočni kopeli (Sonorex TK 52, Bandelin electronic; Berlin, Nemčija) in termostatirali pri temperaturi 20 °C.

3.4.1 Določanje vsebnosti sladkorja

Sladkorno stopnjo mošta pred in med fermentacijo smo določali z refraktometrom. Refraktometer deluje na principu določanja lomnega količnika, ki je odvisen od sestave raztopine mošta, zlasti sladkorjev. Na meji med svetlim in temnim delom odčitamo rezultat v °Oe ali % suhe snovi.

Za določanje vsebnosti reducirajočih sladkorjev v vinu smo uporabili **titracijsko metodo po Rebeleinu (Košmerl in Kač, 2007)**.

Številni reagenti (Luffov, Soxhletov, Fehlingov) kvantitativno oksidirajo reducirajoče sladkorje v karboksilne kisline. Oksidacija je odvisna od uporabljenega reagenta in od pogojev oksidacije. S segrevanjem do vrenja poteče v reakcijski zmesi oksidacija reducirajočih sladkorjev v kisline, dvovalentni bakrov ion iz reakcijske zmesi pa se reducira do enovalentnega bakrovega oksida. Iz raztopine se izloči oborina netopnega bakrovega(I) oksida (Cu₂O). Preostali Cu²⁺ se v raztopini kalijevega jodida v kislem (dodatek žveplove(VI) kisline) reducira, nastali jod (I₂) pa titrimetrično določimo z raztopino natrijevega tiosulfata (Na₂S₂O₃) v prisotnosti škrobovice kot indikatorja. Koncentracijo reducirajočih sladkorjev (g/L) odčitamo direktno z birete ob upoštevanju slepega vzorca (to vrednost odštejemo od rezultata).

3.4.2 Določanje vrednosti pH in pufrne kapacitete vina

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007)

Pufrno kapaciteto mošta ali vina opišemo kot lastnost mošta ali vina, da se njegov pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz bistveno ne spremeni. Definirana je kot množina (število molov) H₃O⁺ ali OH⁻ ionov, ki jih moramo dodati 1 L vzorca, da se njegov pH spremeni za eno enoto. Njena številčna vrednost je obratno sorazmerna naklonu titracijske krivulje v območju pH mošta ali vina. Podatek je pomemben za razumevanje sprememb pH. Enota pufrne kapacitete so moli vodikovih (H⁺) ali hidroksilnih (OH⁻) ionov, ki jih dodamo na 1 L mošta ali vina, da dosežemo spremembo pH vrednosti za 1 enoto. Zaradi majhnih

vrednostih jo izražamo v mmol/L/pH. Običajno vrednosti pufrne kapacitete so od 35 do 50 mmol/L/pH, v ekstremnih primerih pa od 25 do 60 mmol/L/pH.

Pufna kapaciteta je funkcija pH. V moštu ali vinu, ki sta v bistvu raztopini različnih šibkih organskih kislin, lahko pufrno kapaciteto, ki je aditivna lastnost, ocenimo na osnovi koncentracije vsake posamezne kisline in konstante disociacije (vrednosti pK_a) vsake kisline.

3.4.3 Določanje skupnih (titrabilnih kislin) v vinu

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007)

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

Titracija z 0,1 M raztopino NaOH je potekala na avtomatskem titratorju do končne točke titracije pH 7,0 oziroma pH 8,2.

3.4.4 Določanje relativne gostote, (skupnega) ekstrakta in alkohola v vinu

Analize vina s hidrostatsko tehniko (Košmerl in Kač, 2007)

Termostataranemu vzorcu vina (20 °C) izmerimo relativno gostoto s hidrostatsko tehniko. Nato točno določen volumen (100 mL) ponovno termostataranega vzorca predestiliramo z destilacijsko napravo v 100 mL merilno bučko. Po destilaciji vzorca termostatiramo alkoholni destilat in izmerimo njegovo relativno gostoto s hidrostatsko tehniko. Poleg relativne gostote odčitamo tudi koncentracijo (volumenski delež) alkohola.

Izračun relativne gostote in vsebnost skupnega ekstrakta

a) po AOAC relativno gostoto skupnega ekstrakta vina (d_{SE}) izračunamo s pomočjo Tabarijevega obrazca:

$$d_{SE} = d_V - d_A + 1,0000$$

kjer pomeni d_V relativno gostoto vzorca vina in d_A relativno gostoto alkoholnega destilata.

b) na podlagi znane relativne gostote d_{SE} iz tabele odčitamo masno koncentracijo skupnega ekstrakta v vinu (g skupnega ekstrakta/L vina). Rezultat izrazimo na eno decimalno mesto.

3.4.5 Določanje prostega in skupnega žveplovega dioksida v vinu

Titracijska metoda po Ripperju (Košmerl in Kač, 2007)

Določanje prostega in skupnega žveplovega dioksida (SO_2) po Ripperjevi metodi temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda (I_2).

Za določitev prostega SO_2 vzorec vina najprej nakisamo z dodatkom žveplove(VI) kisline; s tem zmanjšamo oksidativni vpliv vina (prevsem polifenolnih spojin) pri titraciji z raztopino joda, dodamo indikator (škrobovico) in titriramo s standardizirano raztopino joda. Jod oksidira žveplove(IV) kislino v žveplove(VI) kislino in v končni točki titracije (tj. po ekvivalentni točki) prebitna količina joda obarva raztopino modro.

Za določitev koncentracije skupnega SO_2 pa vzorcu vina najprej dodamo 1 M raztopino NaOH, da dosežemo hidrolizo vezanega SO_2 , tj. acetaldehid- α -hidroksisulfonata in drugih bisulfitnih kompleksov. Nato sledi dodatek ostalih reagentov in jodometrična titracija, kot pri določanju prostega SO_2 .

Ripperjeva metoda za določanje koncentracije prostega in skupnega SO₂ ni točna v primeru prisotnosti večjih koncentracij ne-žveplovih spojin, tj. taninov in barvnih spojin (rdeča vina), ki se prav tako oksidirajo pri jodometrični titraciji.

3.4.6 Določanje hlapnih kislin v vinu

Destilacijska metoda (Košmerl in Kač, 2007)

Po destilaciji vzorca z vodno paro sledi titracija destilata s standardizirano 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida. Rezultat izrazimo kot očetno kislino (g/L).

3.4.7 Določanje prolina v vinu

Spektrofotometrična metoda po Oughu in Amerinu (Košmerl in Kač, 2007)

Razredčenemu vzorcu mošta ali vina v razmerju 1:50 dodamo mravljinsko kislino in ninhidrin, segrevamo, po ohladitvi dodamo 1-butanol, dobro premešamo in izmerimo absorbanco pri valovni dolžini 517 nm. Koncentracijo prolina v vzorcu izračunamo s pomočjo umeritvene krivulje in rezultat izrazimo v mg/L.

3.4.8 Določanje prostega aminokislinskega dušika v vinu

Spektrofotometrična metoda po Nicoliju in sodelavcih (Košmerl in Kač, 2007)

Razredčenemu vzorcu mošta ali vina dodamo razvijalec barve (ninhidrin, fruktoza in acetatni pufer), segrevamo, po ohladitvi dodamo raztopino za razredčevanje, dobro premešamo posnamemo (molekulski) absorpcijski spekter v območju valovne dolžine od 450 do 700 nm. Koncentracijo FAN v vzorcu lahko odčitamo iz umeritvene krivulje, ki jo po enakem postopku, kot analiziramo vzorec, pripravimo z raztopinami L(-)-treonina znane koncentracije. Absorbanco merimo pri valovni dolžini, kjer ima absorpcijski spekter maksimum. Rezultat izrazimo v mg N/L.

3.4.9 Določanje fenolnih spojin v vinu

Spektrofotometrična metoda po Singletonu in Rossiju (Košmerl in Kač, 2007)

Fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo UV spektra in vidnega spektra. Zato lahko odčitano vrednost absorbance pri primerni valovni dolžini uporabimo za oceno koncentracije skupnih fenolov, skupnih antocianinov, obarvanih antocianinov, deleža antocianinov v obarvani obliki, skupnih hidroksicimetnih kislin in ekvivalenta kavne kisline. S podobnimi spektrofotometričnimi metodami določamo tudi barvo vina.

Za določanje koncentracije skupnih fenolnih snovi dodamo v vino Folin-Ciocalteujev reagent, ki v alkalni raztopini (dodatek natrijevega karbonata) oksidira fenolne snovi. Reagent Folin-Ciocalteu (F.C.) je vodna raztopina natrijevega volframata(VI), natrijevega molibdata(VI) in litijevega sulfata; slednji prepreči obarjanje F.C. reagenta. Dodatek natrijevega karbonata je potreben za alkalnost reakcijske zmesi. Redukcija volframata(VI) in molibdata(VI) poteče le v prisotnosti fenolatnega aniona. Raztopina, ki vsebuje reducirani volframat(VI) in/ali molibdata(VI), je modro obarvana, medtem ko je raztopina nereducirane oblike rumene barve. Absorbanco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm. Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin odčitamo iz umeritvene krivulje in rezultat izrazimo kot mg galne kisline/L. Galno kislino uporabimo kot standardno referenčno spojino za določanje skupnih fenolnih spojin.

3.4.10 Določanje vsebnosti pepela (Košmerl, 1999)

Pepel predstavlja ostanek po odparitvi vode in sežigu vzorca pri 550 °C. Masno koncentracijo pepela (g/L) določimo z odparitvijo vode in etanola iz 25 mL vina v sušilniku ter žarenjem v žarilni peči pri temperaturi 525±25 °C do konstantne mase.

3.4.11 Določanje koncentracije višjih alkoholov in hlapnih snovi

Koncentracijo višjih alkoholov in hlapnih snovi v vzorcih smo določili s plinsko kromatografijo. Vzorcem smo po destilaciji alkohola na destilacijskem aparatu Gibertini določili koncentracijo višjih alkoholov in hlapnih snovi v alkoholnem destilatu na plinskem kromatografu Agilent Technologies 6890 Series II.

Kromatografski pogoji:

nosilni plin: helij, He
kolona: HP FFAP (25 m × 0,2 mm × 0,3 μm)
injektor: temperatura 220 °C
kolona: Hewlett Packard, tip FFAP,
Tz = 60 °C
temperaturni gradient: 10 °C/min
Tk = 150 °C
detektor: plamenski ionizacijski (FID), temperatura: 220 °C
zapis signala: integrator

3.4.12 Določanje koncentracije terpenov

Spektrofotometrična metoda (Dimitriadis in Williams, 1984)

Pri destilaciji pH-nevtralnega vina (pH=6,6-6,8) z vodno paro dobimo v destilatu proste aromatične spojine, medtem ko pri destilaciji vina z nizko vrednostjo pH (pH=2,0-2,2) dobimo monoterpene, ki izvirajo iz poliolov in glikozidno vezanih spojin. Predestilirane terpene določimo spektrofotometrično pri valovni dolžini 608 nm. Masno koncentracijo posameznih hlapnih terpenov izračunamo iz umeritvene krivulje in rezultat izrazimo v mg linaloola/L.

3.4.13 Senzorična analiza vina

Senzorična analiza mladega vina je bila opravljena z opisno metodo in z metodo po Buxbaumu. Po slednji je vino lahko ocenjeno največ z dvajsetimi točkami. Senzorično analizo vzorcev smo opravili na Biotehniški fakulteti v Ljubljani, Oddelek za živilstvo v Ljubljani. Vzorce so ocenjevali štirje ocenjevalci.

Po Buxbaumovi metodi se za vsak parameter upošteva naslednje število točk:

- bistrost: 0 do 2 točki
- barva: 0 do 2 točki
- vonj: 0 do 4 točke
- okus: 0 do 6 točk
- harmonija: 0 do 6 točk

3.4.14 Spremljanje nastanka CO₂ med fermentacijo

V vrelnih stekleničkah volumna 500 L, kjer je potekala identična fermentacija, smo tvorbo oddanega CO₂ spremljali tako, da smo steklenice dvakrat dnevno tehtali na tehtnici z natančnostjo 0,01 g.

3.4.15 Statistična analiza

Statistična analiza vzorcev vina »biotično« (vzorci B1, B2, B12 in Bbrez)

Rezultati poskusa so bili analizirani z uporabo GLM procedure (General Linear Models) v programu SPSS (SPSS 15.0 for Windows. Evaluation Version, 2006). Statistični model za kemijske parametre vina je vključeval vpliv dodatka hranil za kvasovke v mošt (D) in paralelke (P) (model 1).

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

kjer je $y_{ij} = ij$ – to opazovanje, μ = povprečna vrednost, D_i = vpliv dodatka hranil v mošt ($i = 1$ hranilo 1, $i = 2$ hranilo 2 in 3, $i = 3$ brez hranil, $i = 4$ hranila 1, 2 in 3); P_j = vpliv paralelke ($j = 1-2$) in e_{ij} = ostanek.

Srednje vrednosti za eksperimentalne skupine smo primerjali pri 5 % tveganju z uporabo Duncanovega testa.

Statistična analiza vzorcev vina »biotično« B1, B2, »klasično« KL1, KL2 in »kontrola« KO1, KO2

Rezultati poskusa so bili analizirani z uporabo GLM procedure (SPSS 15.0 for Windows. Evaluation Version, 2006). Statistični model za kemijske parametre vina je vključeval vpliv škropljenja (\check{S}), vpliv dodatka hranil za kvasovke v mošt (D), ter interakcije med škropljenjem in dodatkom hranil za kvasovke ($\check{S}*D$).

$$y_{ijk} = \mu + \check{S}_i + D_j + \check{S}*D_{ij} + e_{ijk} \quad (\text{model 2})$$

kjer je $y_{ijk} = ijk$ – to opazovanje, μ = povprečna vrednost, \check{S}_i = vpliv škropljenja ($i = 1$ biotično, $i = 2$ klasično, $i = 3$ kontrola); D_j = vpliv dodatka hranil za kvasovke v mošt ($j = 1$ hranilo 1, $j = 2$ hranilo 2 in 3); $\check{S}*D_{ij}$ = interakcija med škropljenjem \check{S}_i in dodatkom hranil za kvasovke D_j in e_{ijk} = ostanek.

Srednje vrednosti za eksperimentalne skupine smo primerjali pri 5 % tveganju z uporabo Duncanovega testa.

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI ANALIZ MOŠTA

V preglednici 7 so prikazani osnovni rezultati kemijske analize bistrega mošta po samobistrenju in pred dodatkom liofiliziranih kvasovk, ki je bila opravljena 21.9.2002. Iz rezultatov vidimo, da je način škropljenja vplival na sladkorno stopnjo mošta. Največjo vrednost je dosegel vzorec »biotično«, za 2 °Oe manj vzorec »klasično«, najmanj pa vzorec »kontrola«. Da način škropljenja vpliva na kakovost mošta in posredno tudi na potek alkoholne fermentacije lahko opazimo tudi pri rezultatih vrednosti pH ter vsebnostih titrabilnih in skupnih kislin. Vzorec »klasično« vsebuje najmanj le-teh, zato je pH pri tem vzorcu tudi največji; več od »klasičnega« vsebuje »biotično« (temu ustrezno je pH manjši). Največ skupnih kislin vsebuje vzorec »kontrola« in pri tem vzorcu je pH najmanjši. Opazne razlike so ravno tako pri dejanski pufrni kapaciteti (največjo doseže vzorec »kontrola«, manjšo »biotično«, najmanjšo »klasično«), pri vsebnosti prolina (približno enako »klasično« in »biotično«, najmanjšo pa »kontrola«). Pri vsebnosti FAN je vzorec »klasično« dosegel maksimalno vrednost, manjšo od le-te »biotično«, najmanjšo vsebnost FAN doseže vzorec, pri katerem so bila zadnja tri škropljenja izpuščena.

Preglednica 7: Rezultati analize mošta rebula glede na škropljenje

parameter	enota	vrednost / koncentracija		
		biotično	klasično	kontrola
sladkorna stopnja	°Oe	82	80	77
relativna gostota	/	1,08181	1,08002	1,07739
pH	/	3,36	3,38	3,28
orientacijska pufrna kapaciteta	mmol/L/pH	39,6	39,4	39,2
bazična pufrna kapaciteta	mmol/L/0,5 pH	18,2	17,5	19,4
kislinska pufrna kapaciteta	mmol/L/0,5 pH	17,7	18,1	18,3
dejanska pufrna kapaciteta	mmol/L/pH	35,9	35,6	37,7
titrabilne kisline (pH=7,0)	g/L	6,14	6,07	6,25
skupne kisline (pH=8,2)	g/L	6,46	6,32	6,52
kislo delujoče soli	g/L	0,29	0,25	0,27
prolin	mg/L	97,56	98,52	71,16
FAN	mg N/L	58,4	99,38	49,8

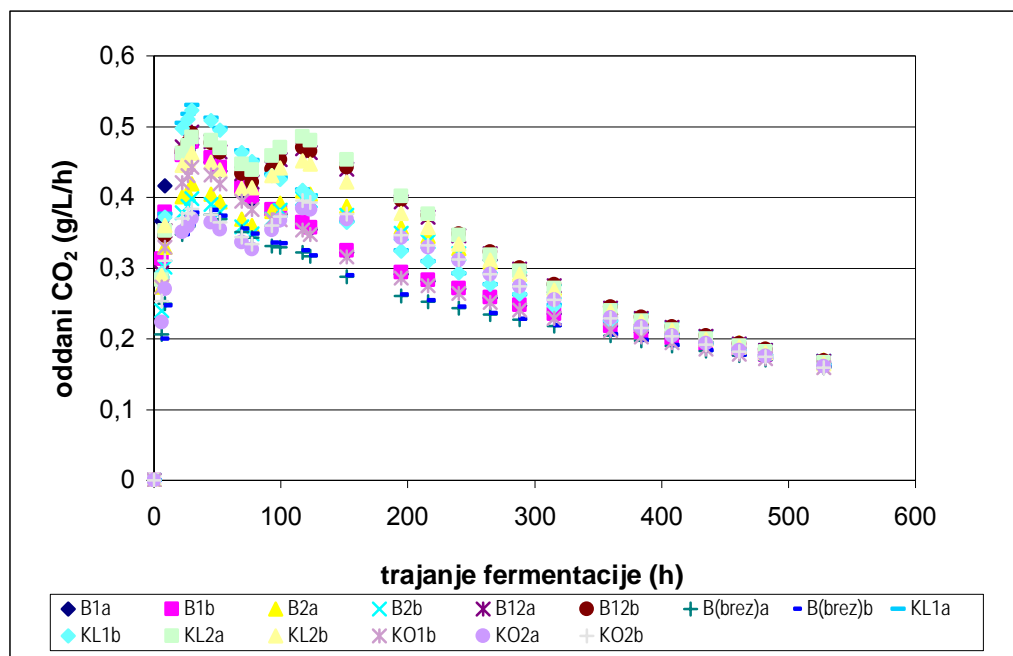
4.2 SPREMLJANJE ALKOHOLNE FERMENTACIJE

V preglednici 8 so predstavljeni rezultati fizikalno-kemijske analize fermentirajočega mošta, opravljene tretji dan alkoholne fermentacije (24.9.2002). Na podlagi teh so nam v laboratoriju Enochimico Polo v Trevisu (Italija) priporočili količino dodanih hranil 2 in 3, kot je prikazano v preglednici 6.

Preglednica 8: Fizikalne in kemijske analize fermentirajočega mošta rebula

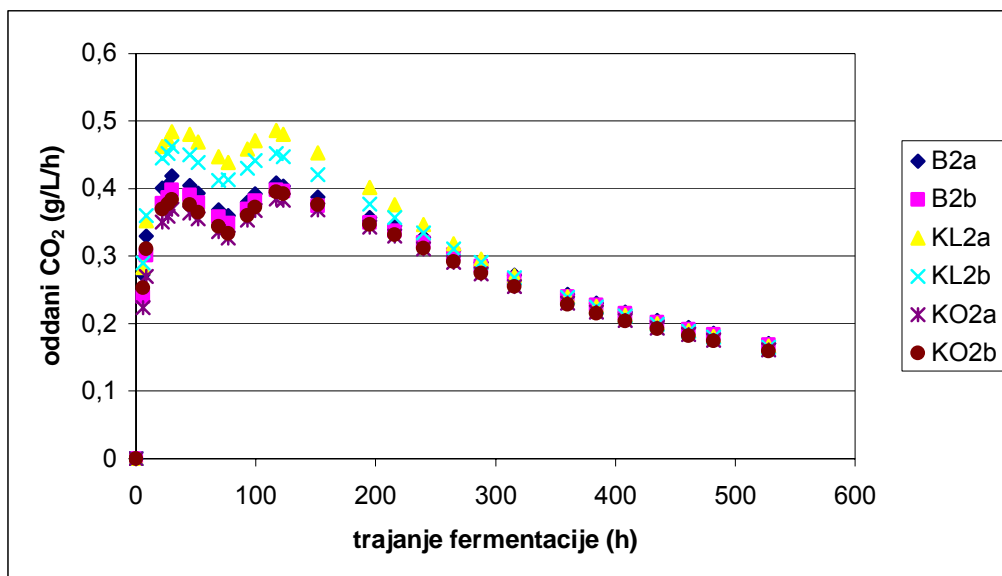
parameter	enota	vrednost / koncentracija		
		biotično	klasično	kontrola
pH	/	3,31	3,30	3,26
skupne kisline	g/L	6,65	6,75	6,95
skupna vinska kislina	g/L	3,57	3,62	3,92
prosta vinska kislina	% (g/L)	31,6 (1,13)	32,3 (1,17)	34,3 (1,34)
hidrogen tartratni ion	% (g/L)	60,6 (2,16)	60,1 (2,18)	58,8 (2,31)
tartratni ion	% (g/L)	7,9 (0,28)	7,6 (0,27)	6,8 (0,27)
skupna jabolčna kislina	g/L	3,75	3,72	3,69
prosta jabolčna kislina	% (g/L)	56,1 (2,10)	56,9 (2,12)	58,9 (2,17)
hidrogen malatni ion	% (g/L)	42,8 (1,60)	42,1 (1,57)	40,2 (1,48)
malatni ion	% (g/L)	1,1 (0,04)	1,0 (0,04)	0,9 (0,03)
citronska kislina	g/L	0,26	0,22	0,21
glukoza	g/L	73,7	68,5	69,7
fruktoza	g/L	80,2	76,7	74,5
ostanek sladkorja	%	15,39	14,52	14,42
etanol	vol. %	2,47	2,71	2,35
skupni alkohol	vol. %	11,70	11,42	11,00
glicerol	g/L	2,86	3,04	2,85
skupni polifenoli	mg/L	136	112	167
očetna kislina	g/L	0,13	0,12	0,13
jantarna kislina	g/L	0,28	0,26	0,24
piruvična kislina	mg/L	64,0	/	/

4.2.1 Spremljanje tvorbe CO₂ med fermentacijo



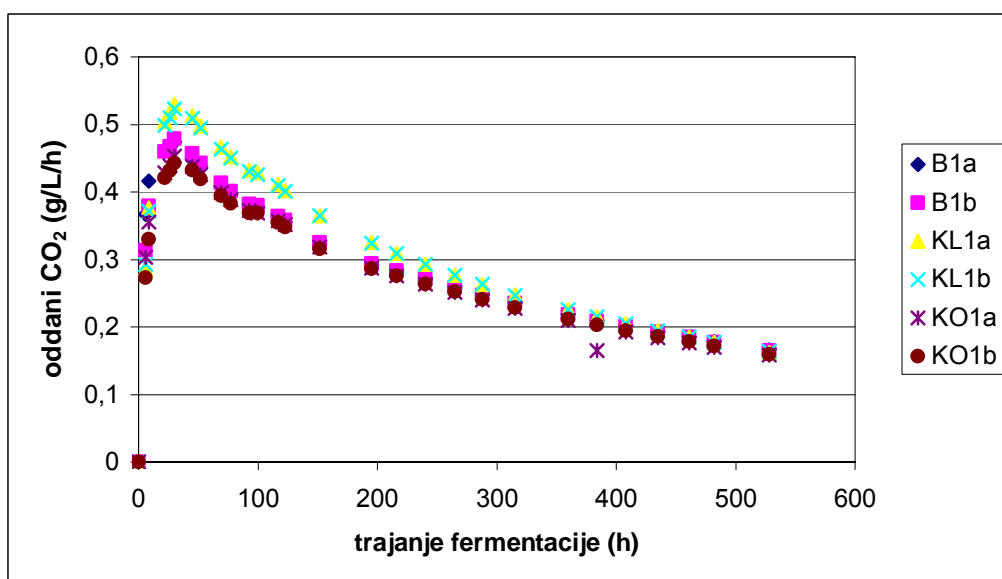
Slika 2: Hitrost tvorbe CO₂ (g/L/h) med fermentacijo pri različnih vzorcih rebule glede na škropljenje in dodatek hranil

Na sliki 2 so prikazane vrelnе krivulje vseh sedmih vzorcev skupaj. Vpliv posameznih parametrov na potek fermentacije smo spremljali na sledečih slikah.



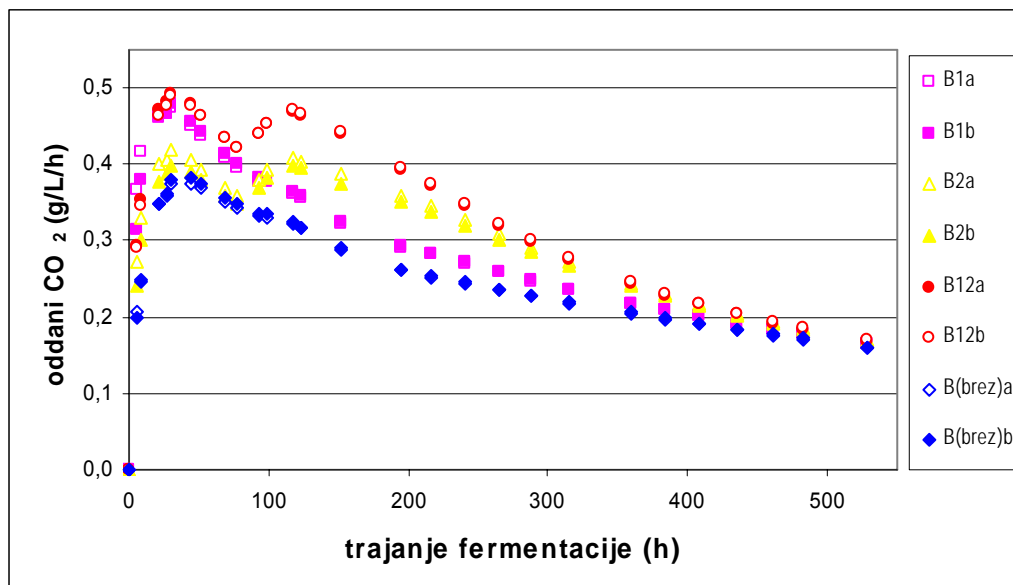
Slika 3: Vpliv škropljenja na hitrost tvorbe CO₂ (g/L/h) med fermentacijo pri vzorcih rebule z dodanima kompleksnima hraniloma

Pri opazovanju vpliva škropljenja na hitrost fermentacije pri vzorcih, ki smo jim dodali kompleksni hranili vidimo, da najhitreje fermentira vzorec »biotično«, sledi mu vzorec »klasično«, najpočasneje pa fermentira vzorec »kontrola«.



Slika 4: Vpliv škropljenja na hitrost tvorbe CO₂ (g/L/h) med fermentacijo pri vzorcih rebule z dodanim enostavnim hranilom

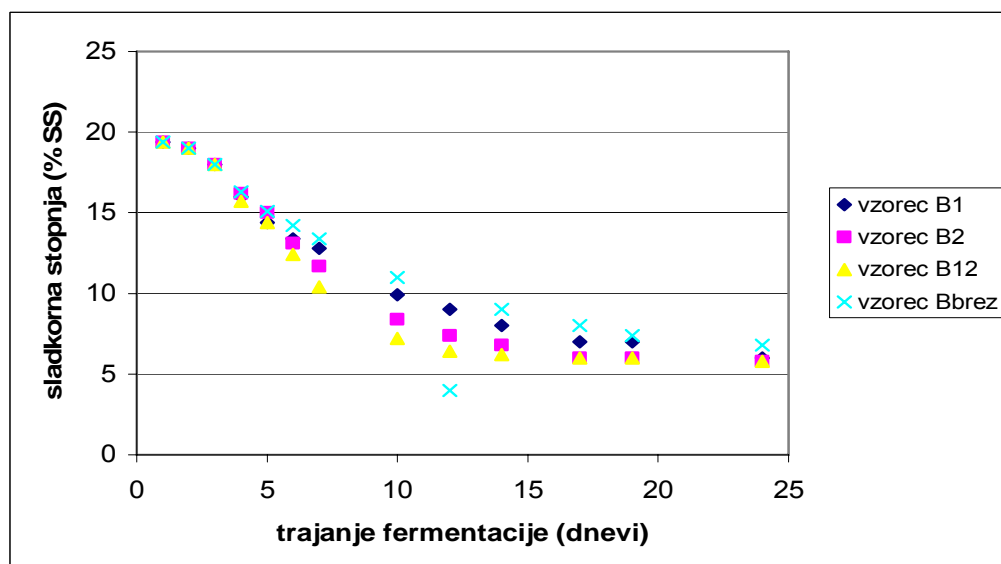
Tudi pri opazovanju kinetike fermentacije pri različno škropljenih vzorcih, ki smo jim med fermentacijo dodali enostavno hranilo, se ponovijo ugotovitve iz slike 3: najhitrejšo kinetiko rasti kvasovk kaže vzorec »klasično«, sledi mu vzorec »biotično«, najpočasnejša je kinetika rasti kvasovk pri vzorcu »kontrola«. Kljub vsemu lahko iz slik 3 in 4 razberemo, da uporabljeni načini škropljenja nimajo bistvenega vpliva na fermentacijsko kinetiko.



Slika 5: Vpliv vrste dodanega hranila na hitrost oddajanja CO₂ (g/L/h) med fermentacijo pri vzorcih »biotično«

Oddajanje CO₂ je bilo najhitrejše pri vzorcu mošta, ki smo mu dodali vsa tri hranila. Počasnejšo kinetiko fermentacije kaže vzorec s kompleksnima hraniloma, vzorec z dodanim enostavnim hranilom pa zaostaja za prejšnjim. Po pričakovanjih je najbolj počasni fermentiral mošt, ki mu nismo dodali hranil.

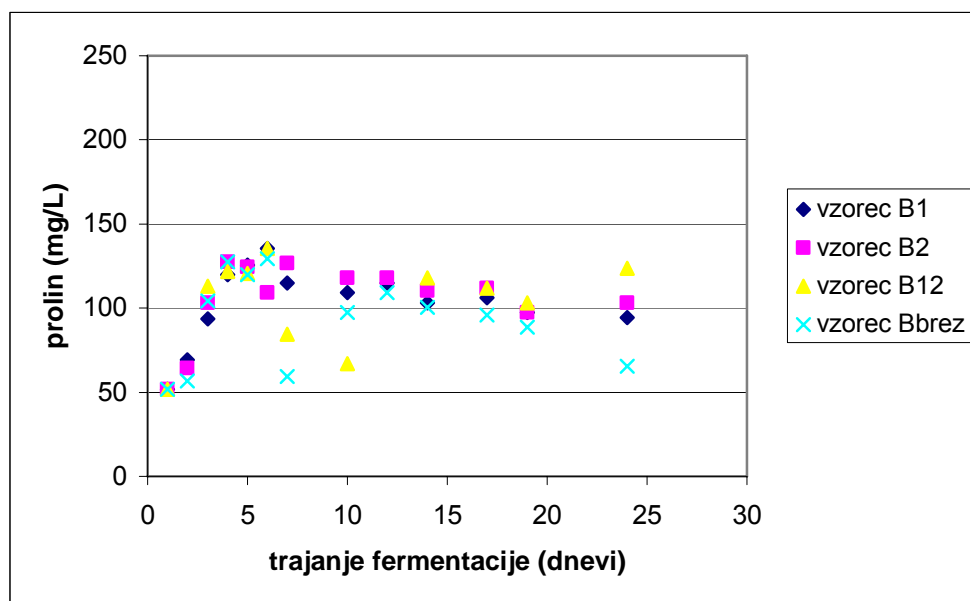
4.2.2 Spremljanje porabe sladkorjev med fermentacijo



Slika 6: Zmanjšanje sladkorne stopnje (% SS) med fermentacijo pri vzorcih »biotično«

Opazanja pri sliki 5 se tu ponovijo. Prve tri dni trajanja alkoholne fermentacije so v hitrosti porabe sladkorjev vsi vzorci izenačeni. V nadaljevanju nastanejo med njimi opazne razlike. Hitrost porabe sladkorjev v moštu je največja pri vzorcu, ki so mu bili dodani enostavnejše in kompleksni hranili, sledi vzorec s kompleksnima hraniloma, slednjemu vzorec z dodanim enostavnim hranilom. Najpočasneje se po pričakovanjih porabljajo sladkorji pri vzorcu brez dodanih hranil.

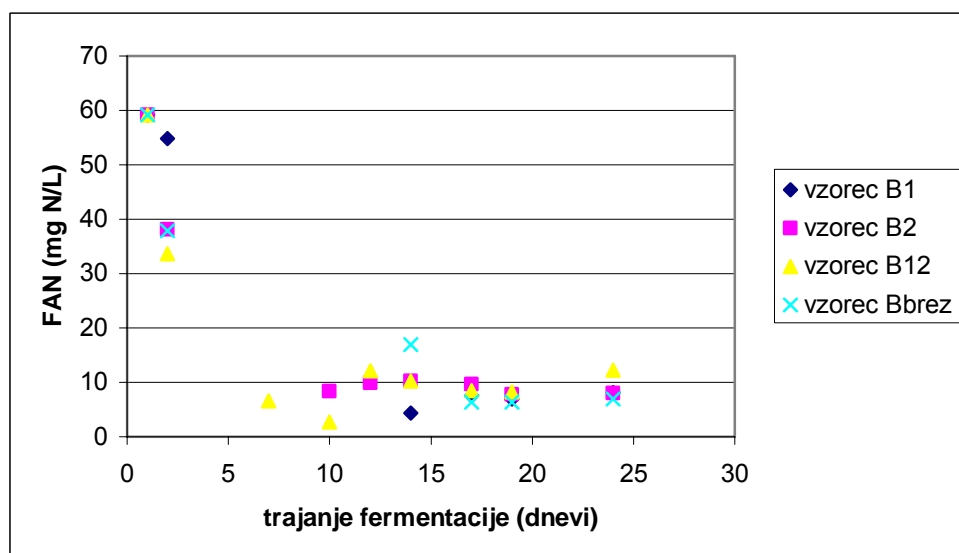
4.2.3 Spremljanje vsebnosti prolina med fermentacijo



Slika 7: Spremljanje vsebnosti prolina (mg/L) med fermentacijo pri vzorcih »biotično«

Vzorec s tremi dodanimi hranili vsebuje največ prolina po zaključeni alkoholni fermentaciji; sledi mu vzorec z dodanima kompleksnima hraniloma, nato pa vzorec z dodanim enostavnim hranilom. Najmanjšo vsebnost prolina ima vzorec, ki mu nismo dodali hranil, kar kaže na stresne razmere med fermentacijo (pomanjkanje dušikovih spojin) in izkoriščanje prolina.

4.2.4 Spremljanje vsebnosti FAN med fermentacijo

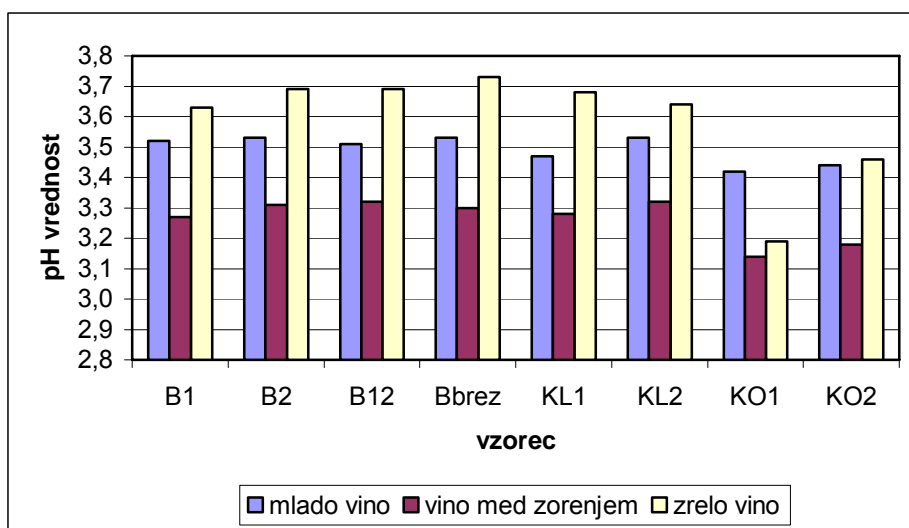


Slika 8: Spremljanje vsebnosti prostega aminokislinskega dušika (FAN) (mg N/L) med fermentacijo pri vzorcih »biotično«

Koncentracija FAN v moštu »biotično« je znašala 58,4 mg N/L. V prvih dveh dneh se je njegova vsebnost močno zmanjšala zaradi asimilacije, v nadaljevanju pa je ostajala bolj ali manj konstantna do konca fermentacije, ko se je rahlo povečala zaradi avtolize kvasovk.

4.3 REZULTATI ANALIZ VINA

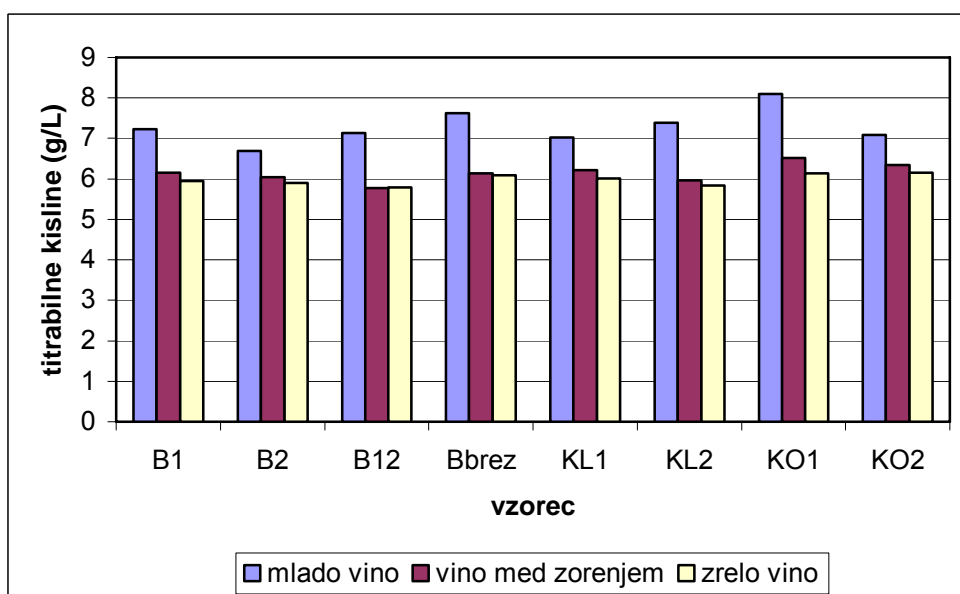
4.3.1 Vrednost pH



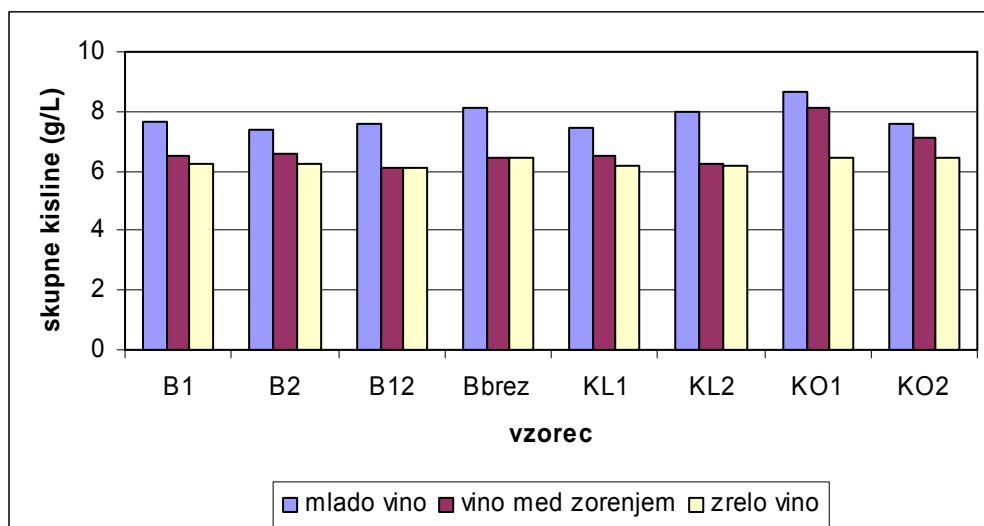
Slika 9: Vrednost pH med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Na sliki 9 je prikazano spreminjanje vrednosti pH med zorenjem vina. pH mošta (preglednica 7) je v primerjavi z vrednostmi pH vina nižji. Zrelo vino ima višji pH kot mlado vino, medtem ko smo za vino med zorenjem nepričakovano zabeležili za vse vzorce nižje vrednosti pH. Vzorec »kontrola« z enostavnim hranilom ima najnižjo, vzorec »biotično« brez dodanih hranil pa najvišjo vrednost pH v mladem in zrelem vinu.

4.3.2 Vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin



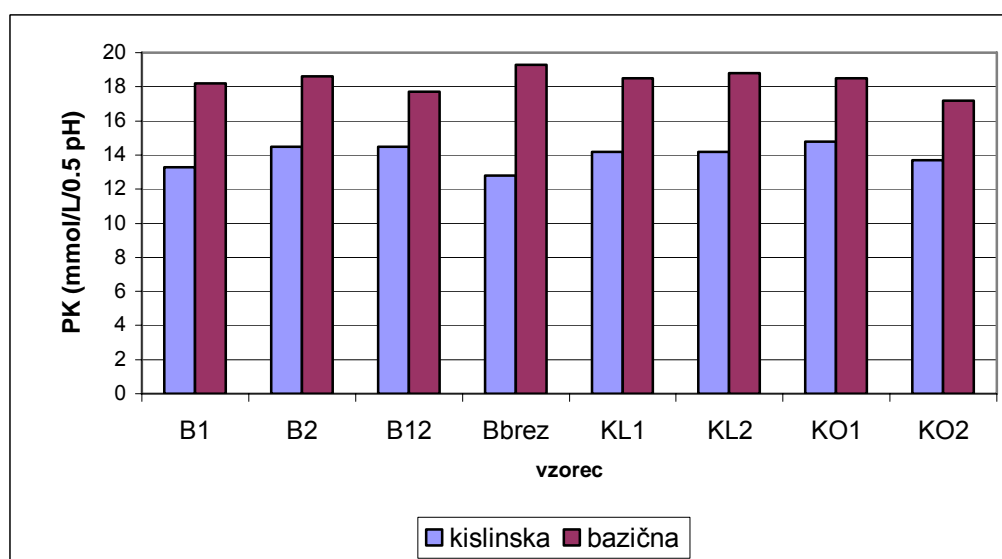
Slika 10: Vsebnost titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002



Slika 11: Vsebnost skupnih (g vinske kisline/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

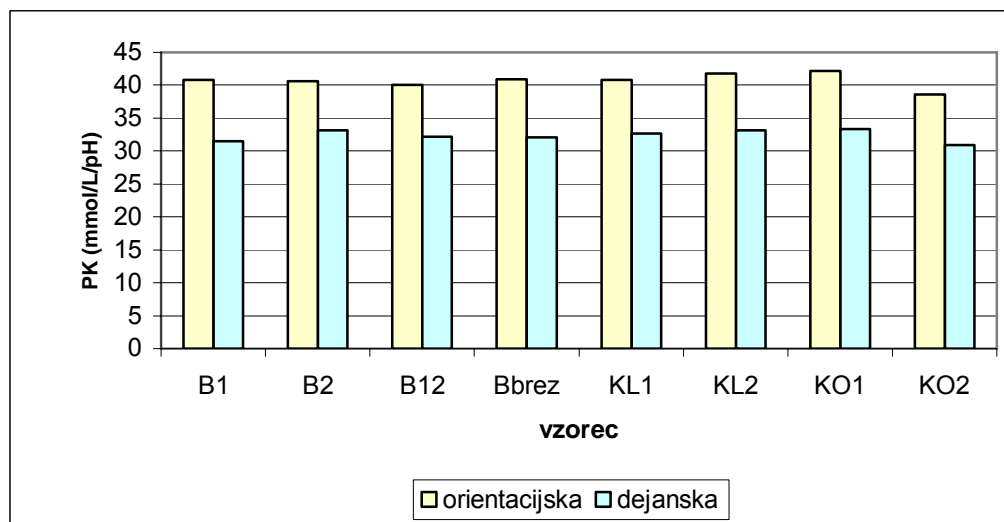
Koncentracija skupnih in titrabilnih kislin je v mladem vinu višja kot v moštu. Na slikah 10 in 11 vidimo, da se koncentracije skupnih in titrabilnih kislin v vzorcih vina med zorenjem zmanjšujejo. V vzorcu »kontrola« z enostavnim hranilom je koncentracija skupnih (tudi titrabilnih) kislin največja in znaša v zrelem vinu 6,43 g/L. Vzorec »biotično« s tremi dodanimi hranili doseže najmanjšo vrednost, to je 6,12 g/L v zrelem vinu.

4.3.3 Pufrna kapaciteta



Slika 12: Vrednosti bazične in kislinske pufrne kapacitete (mmol/L/0,5 pH) v vzorcih mladega vina sorte rebula letnik 2002

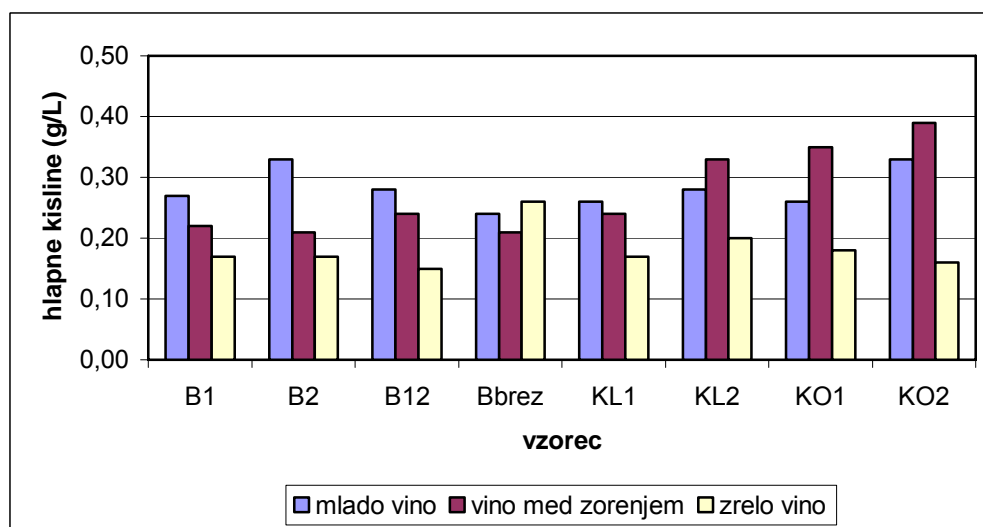
V vzorcu »biotično« brez dodanih hranil (mlado vino) doseže kislinska pufna kapaciteta najmanjšo vrednost, bazična pa največjo vrednost, obratno pa kislinska svojo največjo vrednost doseže pri vzorcu »kontrola« z enostavnim hranilom, bazična pufna kapaciteta pa najmanjšo vrednost pri vzorcu »kontrola« z dodanima kompleksnima hraniloma.



Slika 13: Vrednosti orientacijske in dejanske pufrne kapacitete (mmol/L/pH) v vzorcih mladega vina sorte rebula letnik 2002

V vrednostih orientacijske in dejanske pufrne kapacitete so vzorci precej izenačeni. Nekoliko izstopata le vzorec »kontrola« z enostavnim hranilom, ki ima največjo orientacijsko in dejansko pufrno kapaciteto, in vzorec »kontrola« s kompleksnima hraniloma, ki doseže najmanjšo vrednost obeh pufrnih kapacitet.

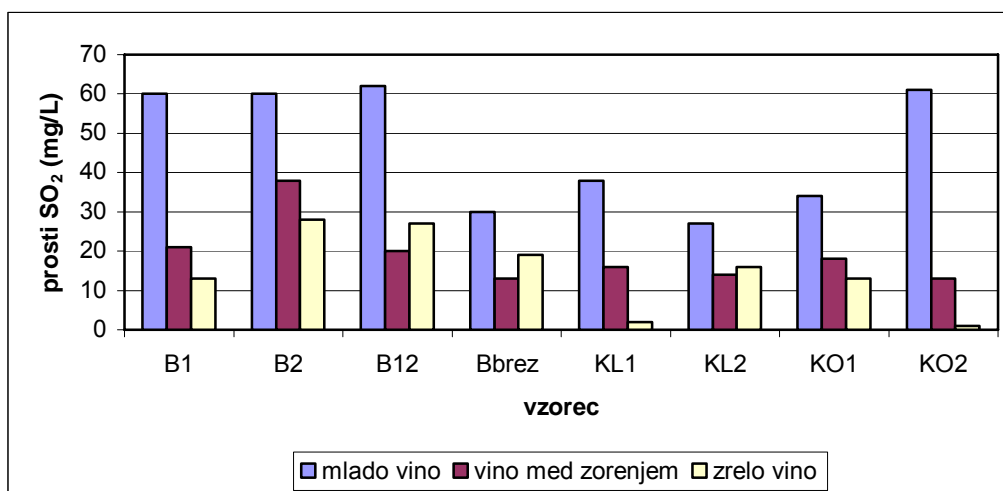
4.3.4 Vsebnost hlapnih kislin



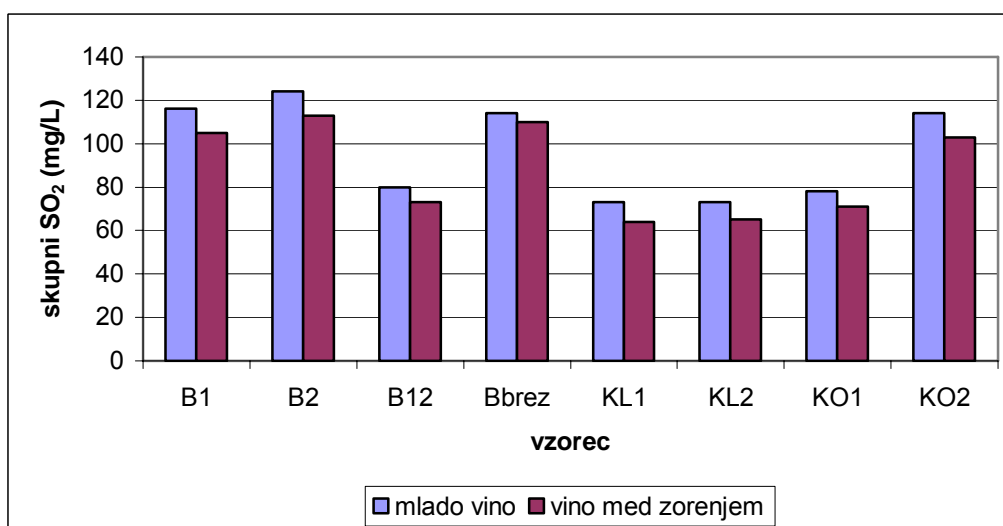
Slika 14: Vsebnost hlapnih kislin (g očetne kisline/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Po zaključeni fermentaciji ima vzorec »biotično«, ki mu nismo dodali hranil najmanjšo vrednost hlapnih kislin (0,24 g/L), največjo pa vzorca »biotično« in »kontrola« z dodanima kompleksnima hraniloma (0,33 g/L). V času zorenja prvim trem vzorcem in vzorcu KL1 hlapne kisline padajo, vzorcem KL2, KO1, in KO2 narastejo, v vseh teh vzorcih pa koncentracija pade na najnižjo vrednost v zrelem vinu. V vzorcu »biotično« brez hranil, ki ima sprva v mladem vinu najmanj hlapnih kislin, dosežejo v zrelem vinu najvišjo koncentracijo med vsemi vzorci (0,26 g/L).

4.3.5 Vsebnosti prostega in skupnega SO₂



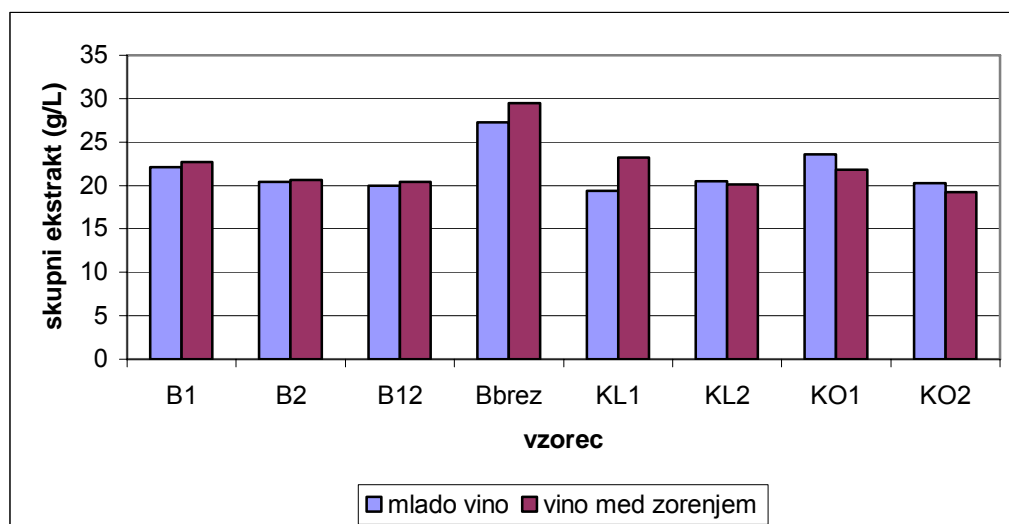
Slika 15: Sprememba vsebnosti prostega SO₂ (mg/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002



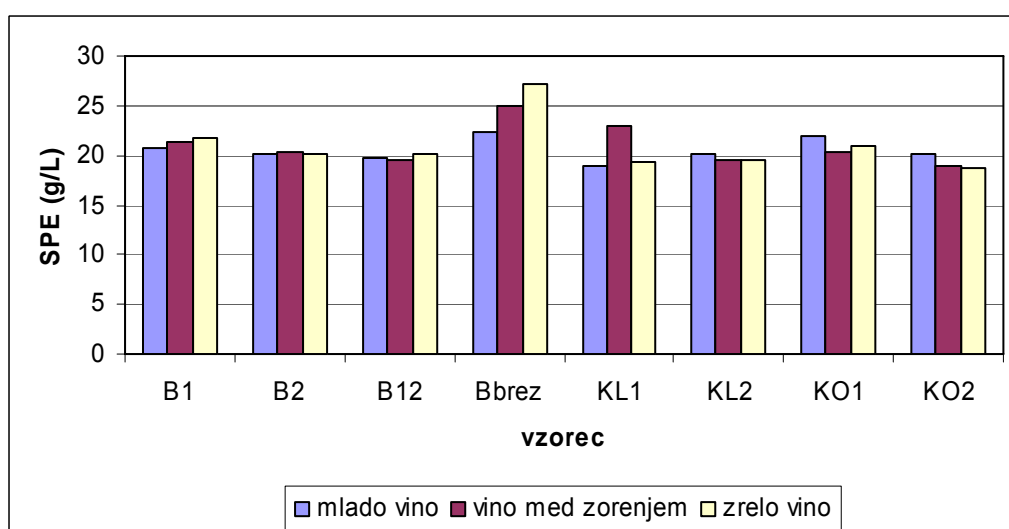
Slika 16: Sprememba vsebnosti skupnega SO₂ (mg/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Drozgo smo pred samobistrenjem žveplali s K₂S₂O. Po končani fermentaciji pa smo vzorce mladih vin pretočili in ponovno dožveplali. Na slikah 15 in 16 opazimo, da tekom zorenja koncentracije prostega SO₂ izraziteje padejo kot koncentracije skupnega SO₂. Le pri vzorcih B12, Bbrez in KL2 v zadnjem trimesečju zorenja spet malo narastejo. Kljub zadostnemu žveplanju (za kar so nam dokaz zadostne koncentracije skupnega SO₂) so vsebnosti prostega SO₂ razen pri vzorcih B2 in B12 nižje od priporočenih (25 g/L za mirna bela vina). Največje razmerje prosti/vezani SO₂ (0,34) doseže vzorec B2, sledi mu vzorec B12 (0,27). Najnižje razmerje imata vzorca Bbrez (0,12) in KO2 (0,13).

4.3.6 Vsebnosti skupnega in sladkorja prostega ekstrakta



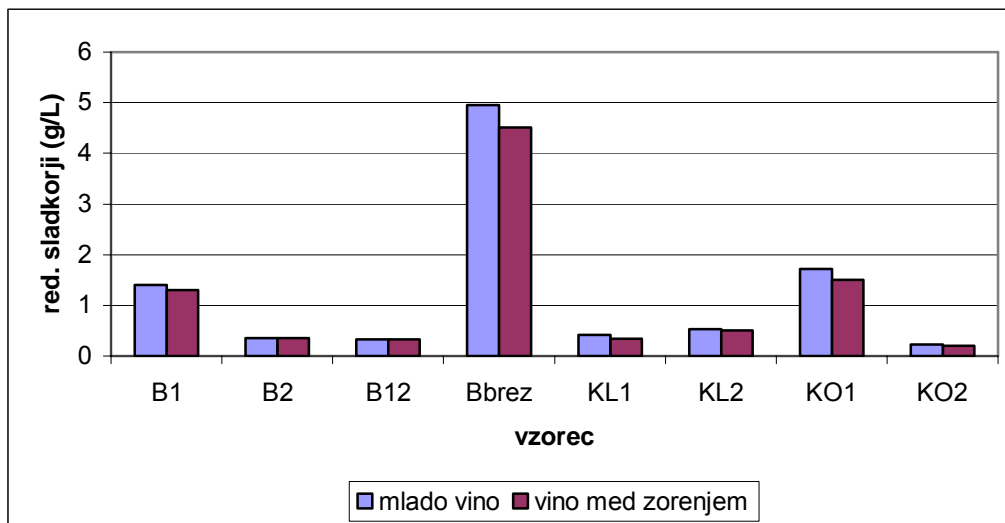
Slika 17: Vsebnosti skupnega ekstrakta (g/L) med zorenjem vina sorte rebula 2002



Slika 18: Vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta (g/L) med zorenjem vina sorte rebula 2002

Skupni ekstrakt in sladkorja prosti ekstrakt se pri vsakem vzorcu individualno spreminjata. Pri skupnem ekstraktu so te spremembe povezane tudi s spreminjanjem reducirajočih sladkorjev (slika 19). Med vzorci najbolj izstopa vzorec »biotično« brez dodanih hranil, pri katerem oba ekstrakta z zorenjem naraščata in dosežeta največjo vrednost (skupni ekstrakt 29,5 g/L v vinu med zorenjem, sladkorja prosti ekstrakt pa 27,1 g/L v zrelem vinu). Če primerjamo prve tri vzorce »biotičnega« škropljenja z dodanimi različnimi hranili (vzorec B1, B2 in B12) vidimo, da ima v mladem vinu najvišji ekstrakt vzorec z enostavnim hranilom. Edina dva vzorca, ki se vedeta po pričakovanjih, sta KL2 in KO2. Tu se ekstrakta v času zorenja znižujeta kot posledica izločanja vinskega kamna, beljakovin in fenolnih spojin.

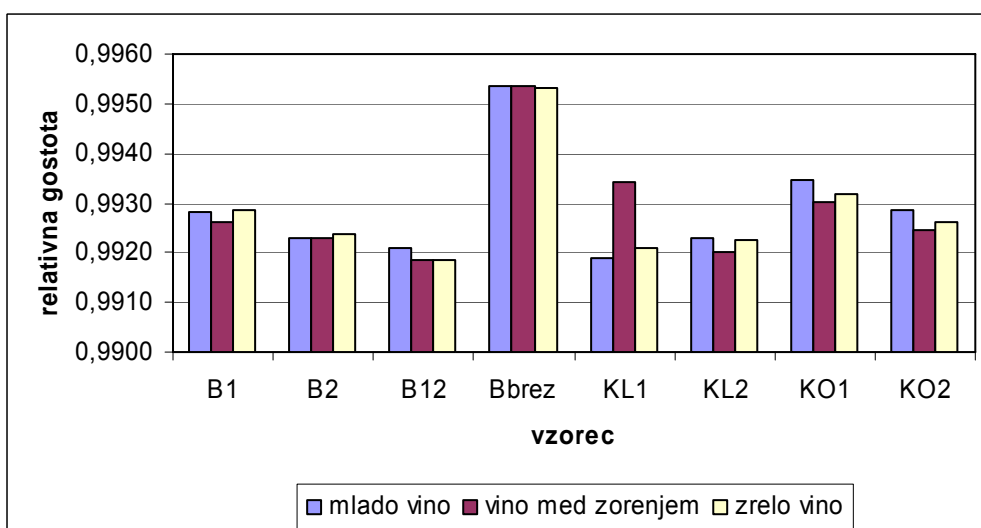
4.3.7 Vsebnost reducirajočih sladkorjev



Slika 19: Sprememba vsebnosti reducirajočih sladkorjev (g/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Po pričakovanjih opazimo največji preostanek reducirajočih sladkorjev v mladem vinu pri vzorcu, ki mu nismo dodali hranil (4,95 g/L), v skupini prvih štirih vzorcev mu sledijo vzorec z enostavnim hranilom, nato še vzorec s kompleksnima hraniloma. Najmanjši ostanek ima vzorec s tremi dodanimi hranili. Koncentracija reducirajočih sladkorjev se v naslednjih treh mesecih zorenja zmanjša ali ostane konstantna. Vsi vzorci padejo v kategorijo suhih vin, ker njihova vsebnost reducirajočih sladkorjev ne presega meje 9 g/L.

4.3.8 Relativna gostota

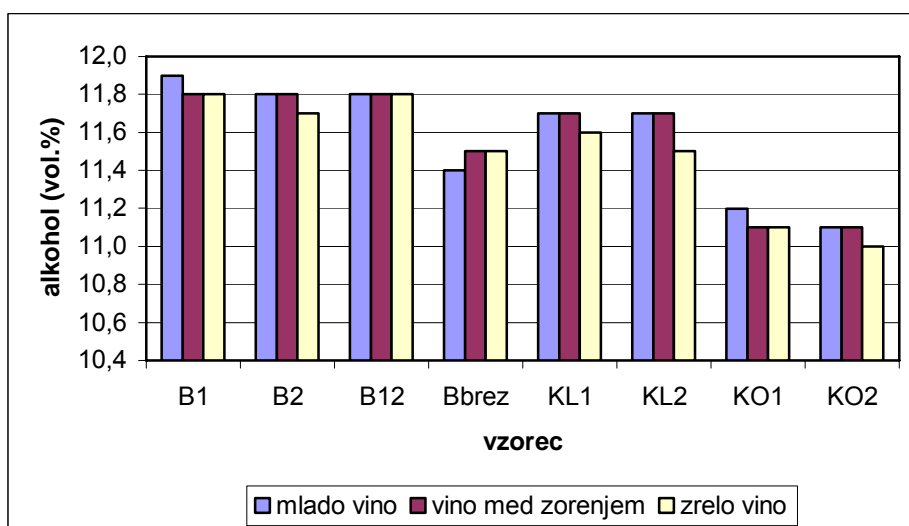


Slika 20: Sprememba relativne gostote med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Najvišjo relativno gostoto med vzorci »biotično« mladega in zrelega vina doseže vzorec brez hranil, sledi mu B1, najmanjšo ima vzorec s tremi dodanimi hranili. Pri vseh vzorcih so vrednosti v vinu med zorenjem nižje od vrednosti v mladem vinu. Izjema je vzorec KL1, pri katerem relativna gostota naraste. Vzorci mladega in zrelega vina, ki smo jih primerjali po

enakih dodanih hranilih (B1, KO1 in B2, KO2) kažejo enak trend in sicer vzorca z dodanim enostavnim hranilom imata višjo relativno gostoto od vzorcev z dodanima kompleksnima hraniloma.

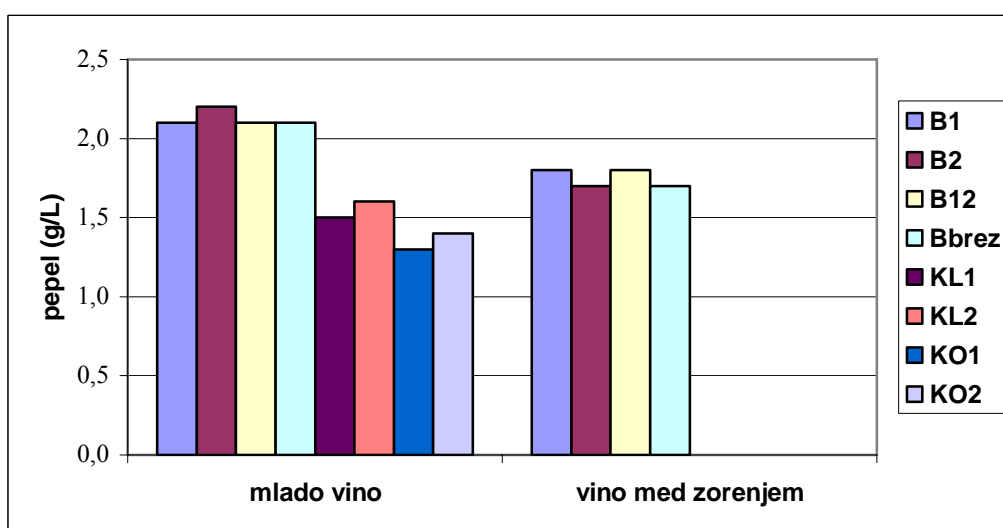
4.3.9 Vsebnost alkohola



Slika 21: Sprememba vsebnosti alkohola (vol.%) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Vsebnost alkohola se pri vseh vzorcih zaradi zorenja vina zmanjšuje, le vzorcu »biotično« brez dodanih hranil v prvih treh mesecih zorenja naraste za 0,1 vol.%. Isti vzorec med prvimi štirimi doseže v mladem vinu najnižjo alkoholno stopnjo (11,4 vol.%), najvišjo pa vzorec z enostavnim hranilom (11,9 vol.%), sledita vzorca B2 in B12 z enako stopnjo (11,8 vol.%). Če primerjamo vzorce B1, KO1 in KL1, ki smo jim dodali enostavno hranilo in vzorce B2, KL2 in KO2 z dodanima kompleksnima hraniloma, vidimo, da imajo vzorci z enostavnim hranilom višjo alkoholno stopnjo od vzorcev s kompleksnima hraniloma. Med vsemi vzorci ima najnižjo vsebnost alkohola vzorec »kontrola« s kompleksnima hraniloma (11,0 vol.%) v zrelem vinu.

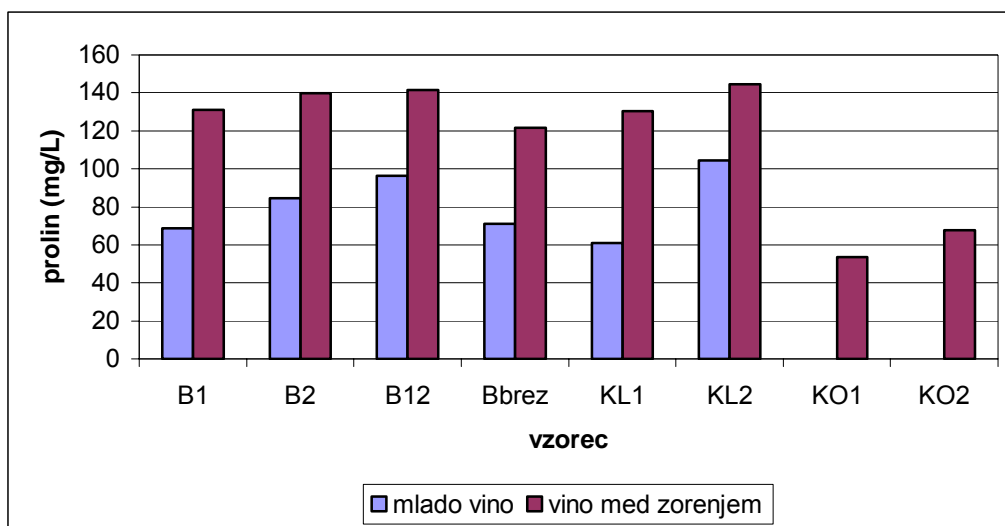
4.3.10 Vsebnost pepela



Slika 22: Sprememba vsebnosti pepela (g/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Po zaključeni fermentaciji imajo vzorci mladega vina »biotično« izrazito višjo vsebnost pepela od ostalih in jim v prvih treh mesecih zorenja pade. Najvišjo vsebnost v mladem vinu doseže vzorec s kompleksnima hraniloma (2,2 g/L), najnižjo pa vzorec »kontrola« z enostavnim hranilom (1,3 g/L). V mladem vinu vzorci, ki smo jim pred fermentacijo dodali kompleksni hranili dosežejo višjo vsebnost pepela kot vzorci, ki smo jim dodali enostavno hranilo.

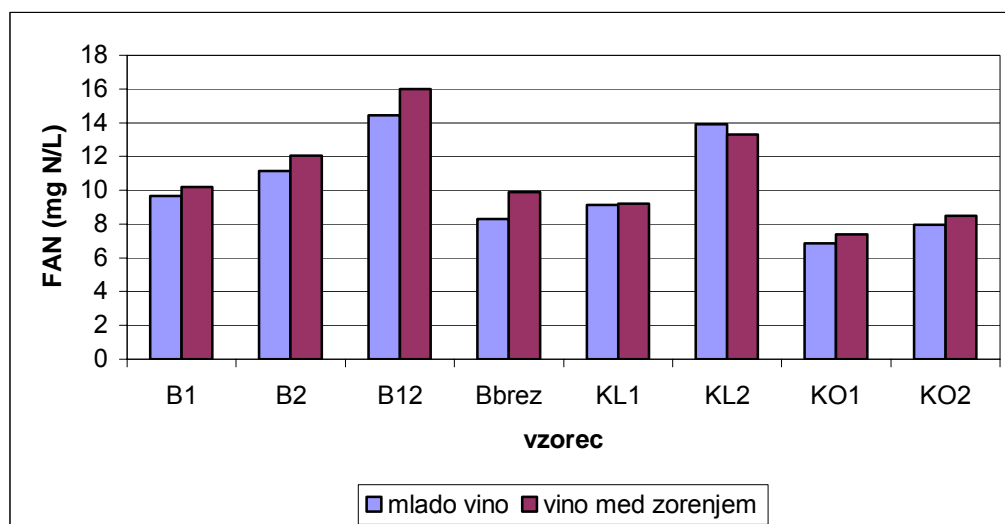
4.3.11 Vsebnost prolina



Slika 23: Sprememba vsebnosti prolina (mg/L) med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Na sliki 23 vidimo naraščanje koncentracije prolina s časom zorenja vina po končani fermentaciji zaradi avtolize kvasovk. Med prvimi štirimi vzorci vina med zorenjem ima vzorec s tremi dodanimi hranili najvišjo vsebnost prolina (141,61 mg/L), najnižjo vsebnost pa ima po pričakovanjih vzorec brez dodanih hranil (121,70 mg/L). Vsi vzorci, ki smo jim med fermentacijo dodali enostavno hranilo, vsebujejo manj prolina kot tisti, ki smo jim dodali kompleksni hranili. Izrazito najmanjšo koncentracijo v vinu med zorenjem imata vzorca »kontrola«.

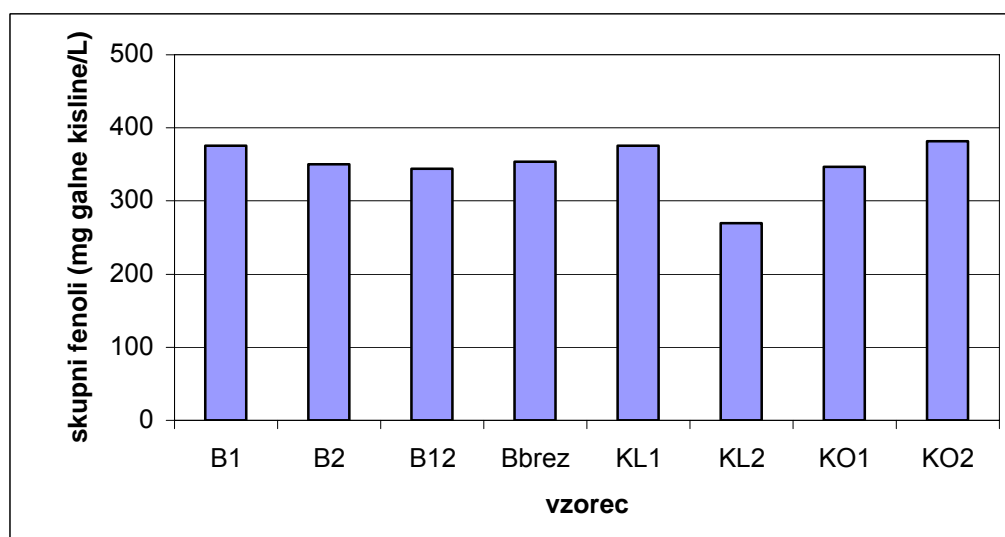
4.3.12 Vsebnost prostega aminokislinskega dušika (FAN)



Slika 24: Sprememba vsebnosti prostega aminokislinskega dušika (FAN) v mg N/L med zorenjem vina sorte rebula letnik 2002

Iz preglednice 7 je razvidno, da ima mošt najvišjo vsebnost FAN, ki po fermentaciji drastično pade. Ugotovitve ob sliki 23 se tu ponovijo. Koncentracije FAN s časom zorenja vina naraščajo. Med prvimi štirimi vzorci ima vzorec s tremi dodanimi hranili najvišjo vsebnost, sledijo vzorci B2, B1 in vzorec brez hranil (9,90 mg N/L) v vinu med zorenjem. Vsi vzorci, ki smo jim med fermentacijo dodali enostavno hranilo (to so vzorci B1, KL1, KO1), vsebujejo manj prostega aminokislinskega dušika kot tisti, ki smo jim dodali kompleksni hranili (vzorci B2, KL2 in KO2). Med vsemi ima najnižjo koncentracijo FAN vzorec »kontrola« z dodanim enostavnim hranilom.

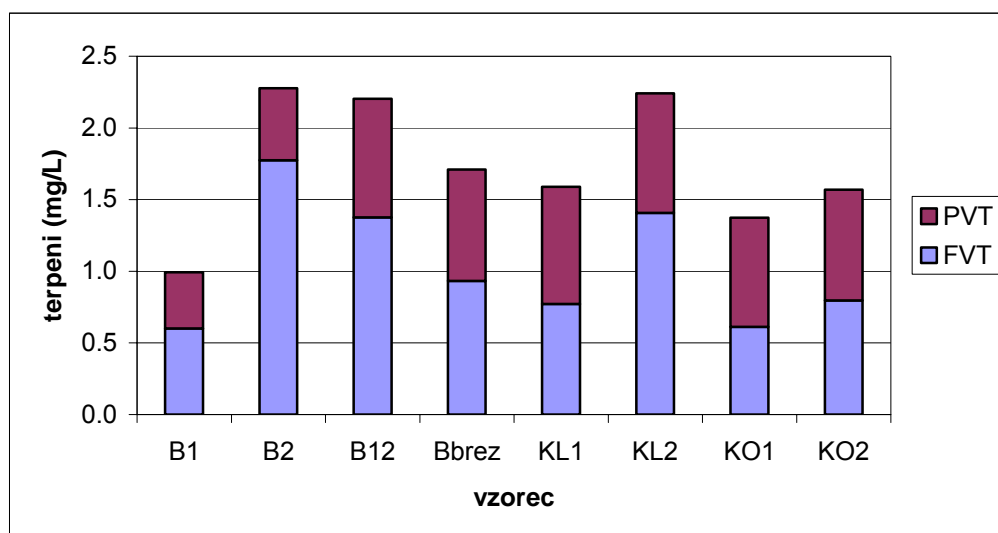
4.3.13 Vsebnost skupnih fenolnih spojin



Slika 25: Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg galne kisline/L) v vzorcih mladega vina sorte rebula letnik 2002

Vsebnosti skupnih fenolnih spojin so pri vseh vzorcih visoke kot posledica opravljene 12-urne hladne maceracije drozge po trgatvi. Največjo koncentracijo ima vzorec KO2 (382 mg galne kisline/L), najnižjo pa vzorec KL2 (270 mg galne kisline/L).

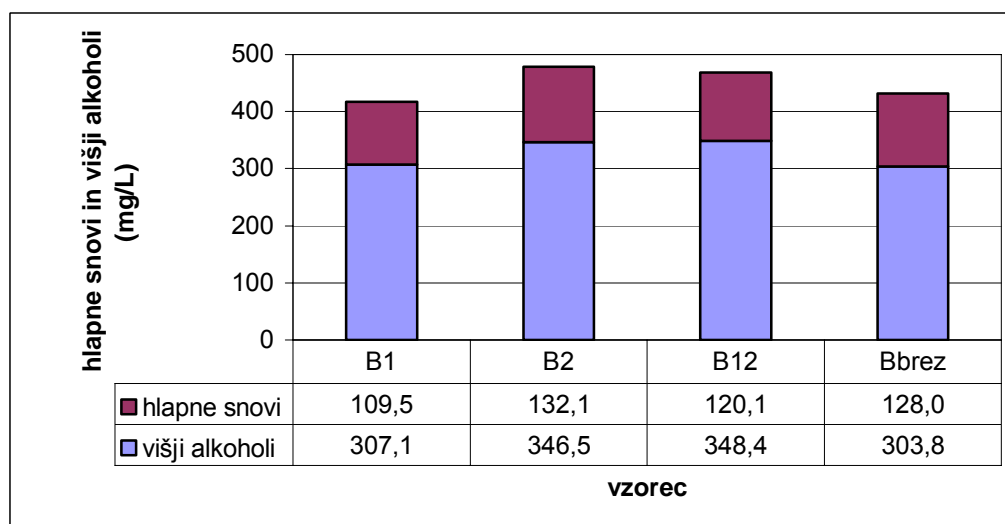
4.3.14 Vsebnost terpenov



Slika 26: Vsebnost prostih hlapnih terpenov (FVT) in potencialnih hlapnih terpenov (PVT) (mg/L) v vzorcih vina med zorenjem sorte rebula letnik 2002

Najvišjo vsebnost skupnih terpenov je dosegel vzorec B2 (2,278 mg/L), najmanjšo pa vzorec B1 (0,993 mg/L). Vzorci B1, KL1 in KO1 z dodanim enostavnim hranilom imajo nižjo koncentracijo skupnih terpenov v vinu med zorenjem kot vzorci z dodanima kompleksnima hraniloma (B2, KL2 in KO2).

4.3.15 Vsebnost hlapnih snovi in višjih alkoholov

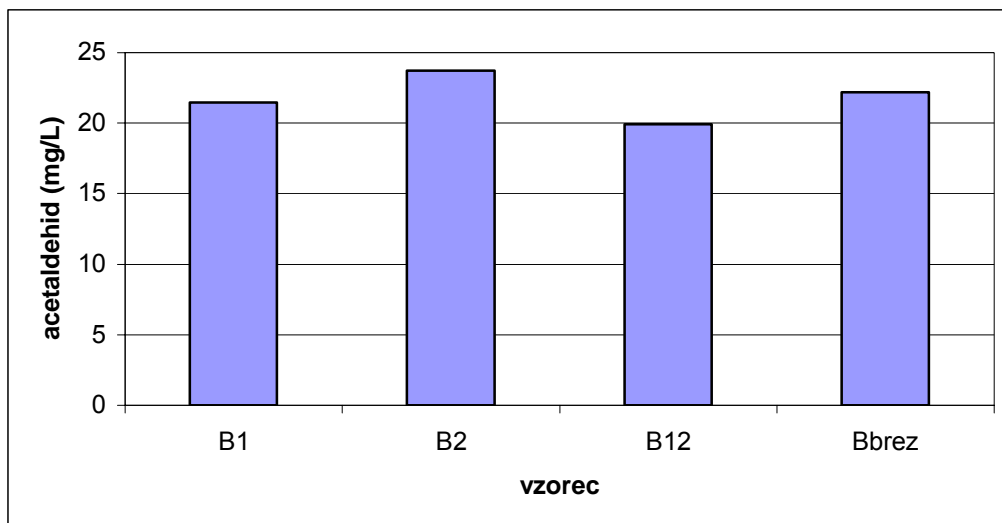


Slika 27: Razmerje vsebnosti hlapnih snovi in višjih alkoholov (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Kot lahko vidimo iz slike 27 je razmerje hlapne snovi/višji alkoholi vedno v prid višjim alkoholom. Najvišjo vsebnost obeh ima vzorec, ki smo mu med fermentacijo dodali kompleksni hranili in znaša 478,6 mg/L, manj vzorec s tremi hranili (468,5 mg/L) in vzorec

brez hranil (431,8 mg/L), najmanj pa vzorec, ki smo mu med fermentacijo dodali enostavno hranilo (416,6 mg/L).

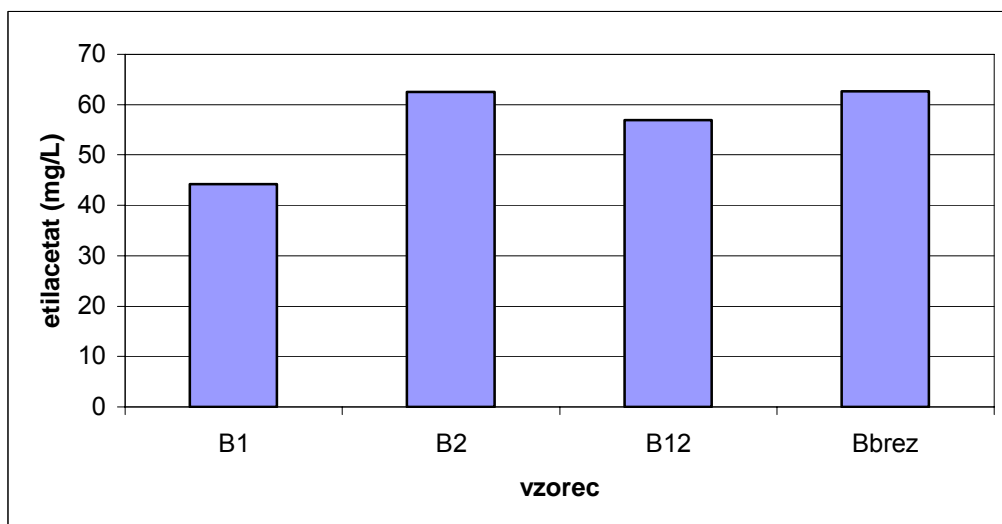
4.3.16 Vsebnost acetaldehida



Slika 28: Vsebnost acetaldehida (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Največ acetaldehida vsebuje vzorec s kompleksnima hraniloma (23,73 mg/L), manj od le-tega vzorec brez hranil, sledi mu vzorec z enostavnim hranilom, najmanj acetaldehida pa ima vzorec s tremi hranili (19,90 mg/L). Vrednosti so pod senzoričnim pragom zaznave in običajnih koncentracij za mlado vino.

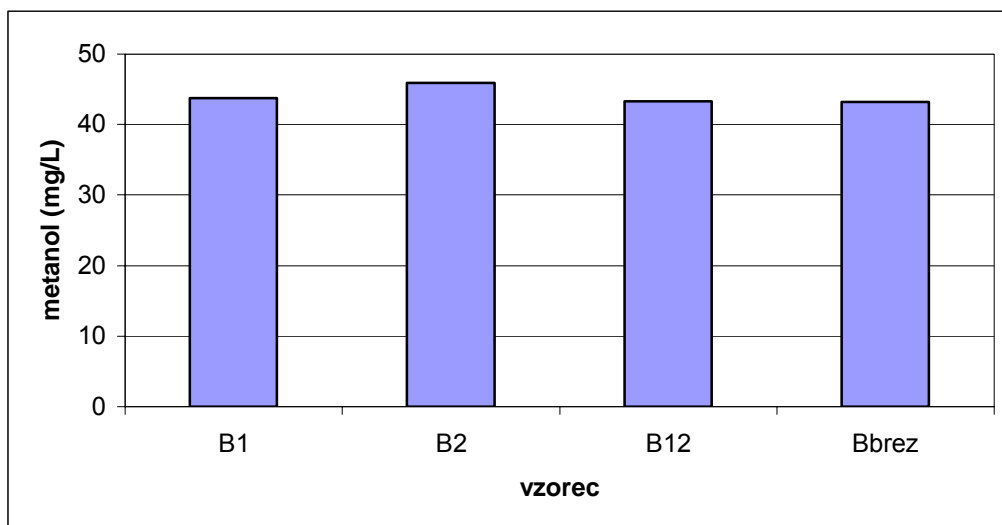
4.3.17 Vsebnost etilacetata



Slika 29: Vsebnost etilacetata (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Vzorec brez hranil in vzorec s kompleksnima hraniloma vsebujeta večjo koncentracijo etilacetata (okrog 60 mg/L), kot vzorec s tremi hranili in vzorec, ki smo mu dodali enostavno hranilo.

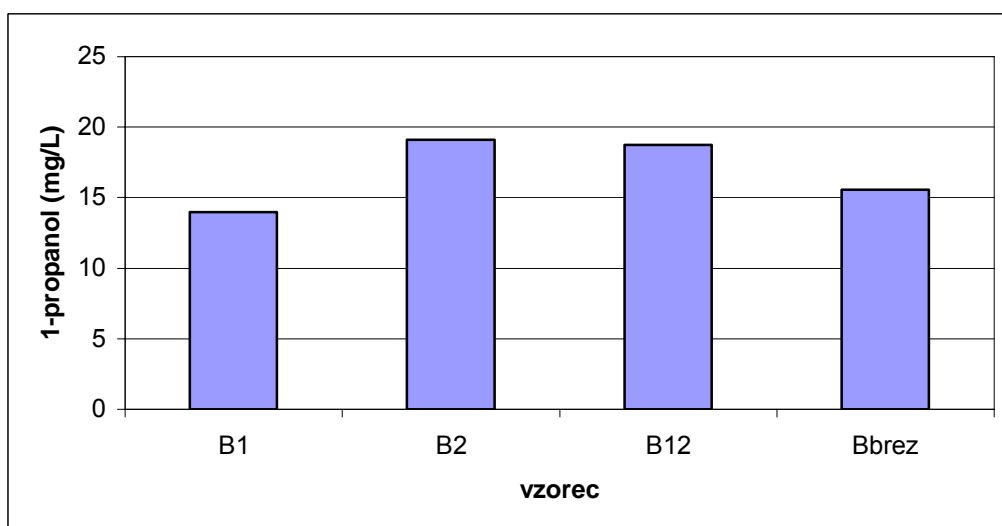
4.3.18 Vsebnost metanola



Slika 30: Vsebnost metanola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Vzorec brez hranil vsebuje metanola 43,22 mg/L, kar je najmanjša vrednost med analiziranimi vzorci. Največjo vsebnost ima vzorec B2 z 45,91 mg/L, kar pa je še daleč od zakonsko dovoljene meje (do 150 mg/L metanola v belih vinih). Bistvenih razlik med vzorci ni.

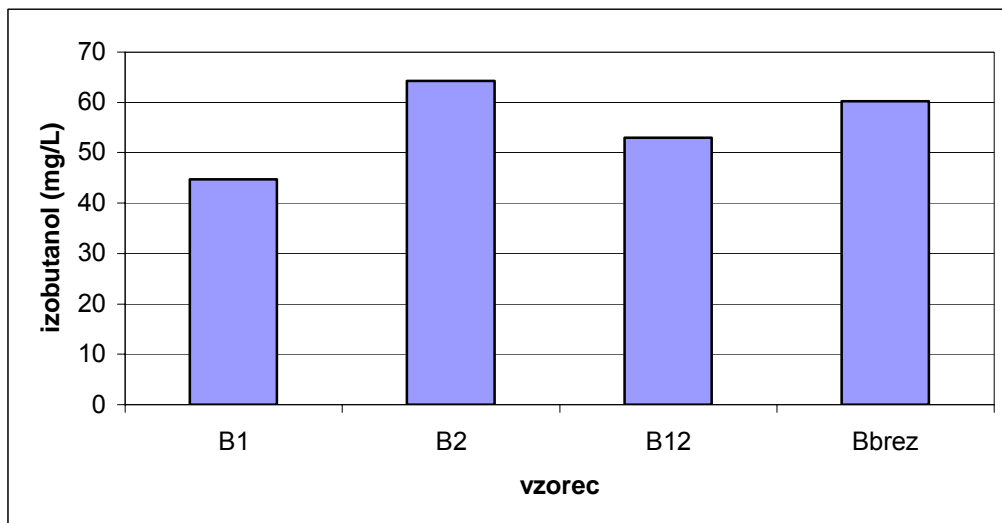
4.3.19 Vsebnost 1-propanola



Slika 31: Vsebnost 1-propanola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Koncentracije 1-propanola se gibljejo v razponu med najmanjšo koncentracijo 13,98 mg/L v vzorcu, ki smo mu dodali enostavno hranilo do maksimalne vrednosti 19,10 mg/L v vzorcu z dodanim kompleksnim hranilom. Znotraj intervala ima vzorec z dodanima enostavnim in kompleksnim hranilom večjo koncentracijo tega višjega alkohola od vzorca, ki mu nismo dodali hranil.

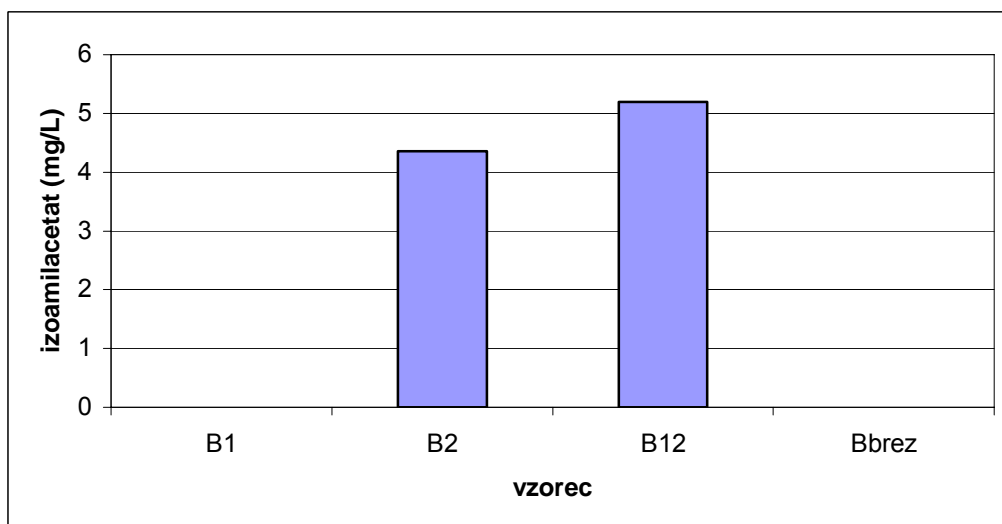
4.3.20 Vsebnost izobutanola



Slika 32: Vsebnost izobutanola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Koncentracije izobutanola precej nihajo od vzorca do vzorca. Največjo vrednost (64,27 mg/L) ima vzorec B2, nekoliko nižjo (60,17 mg/L) vzorec brez hranil, še nižjo od te (53,03 mg/L) pa vzorec B12. Najmanj izobutanola vsebuje vzorec, ki smo mu med fermentacijo dodali enostavno hranilo.

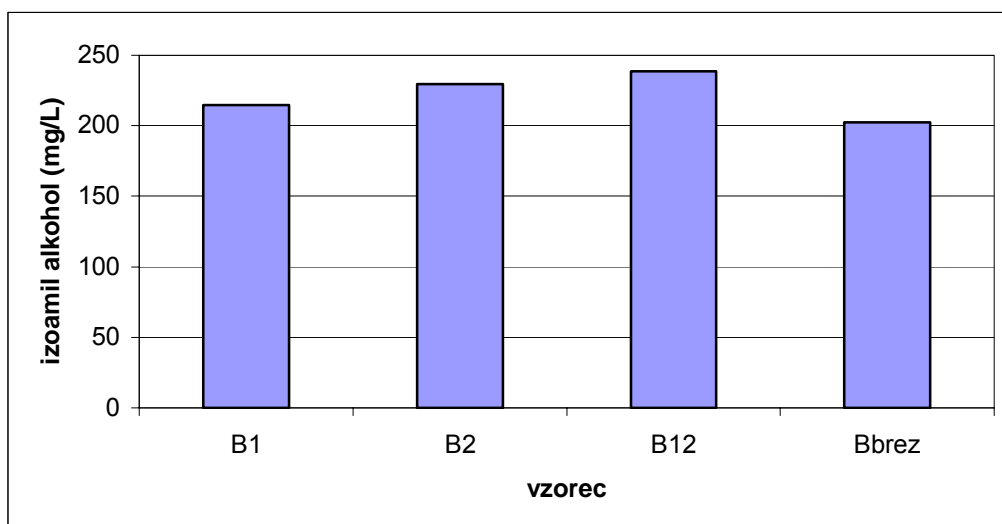
4.3.21 Vsebnost izoamilacetata



Slika 33: Vsebnost izoamilacetata (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Vzorec z enostavnim hranilom in vzorec brez hranil ne vsebujeta izoamilacetata (oziroma tako malo, da sta koncentraciji pod mejo detekcije z uporabljeno metodo), vzorec s tremi dodanimi hranili pa največ, to je 5,19 mg/L.

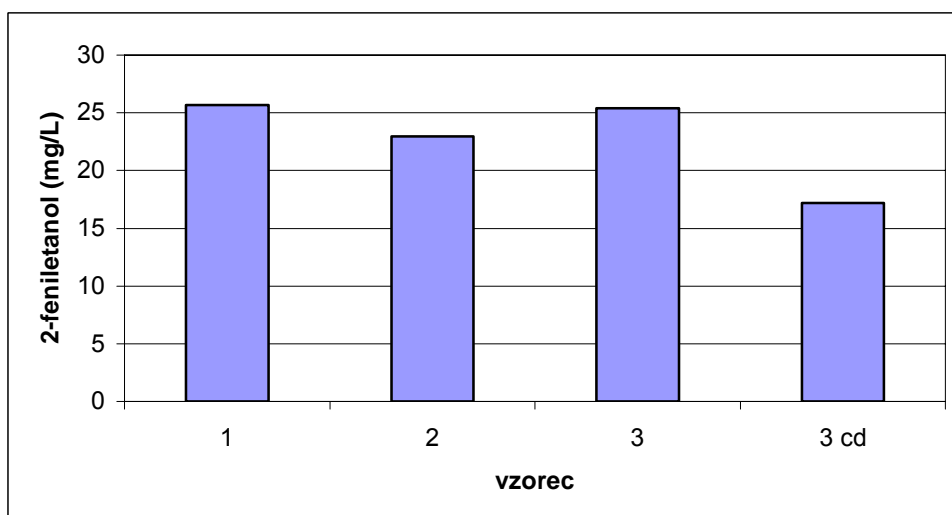
4.3.22 Vsebnost izoamil alkohola



Slika 34: Vsebnost izoamil alkohola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

V splošnem velja, da izoamil alkohol predstavlja več kot 50 % vseh višjih alkoholov, kar drži tudi za naš primer. Slika 34 kaže podoben trend padanja koncentracij kot slika 31, le da ima tu najmanjšo koncentracijo izoamil alkohola (202,48 mg/L) vzorec brez hranil. Največjo koncentracijo ima vzorec, ki smo mu dodali vsa tri hranila (238,49 mg/L).

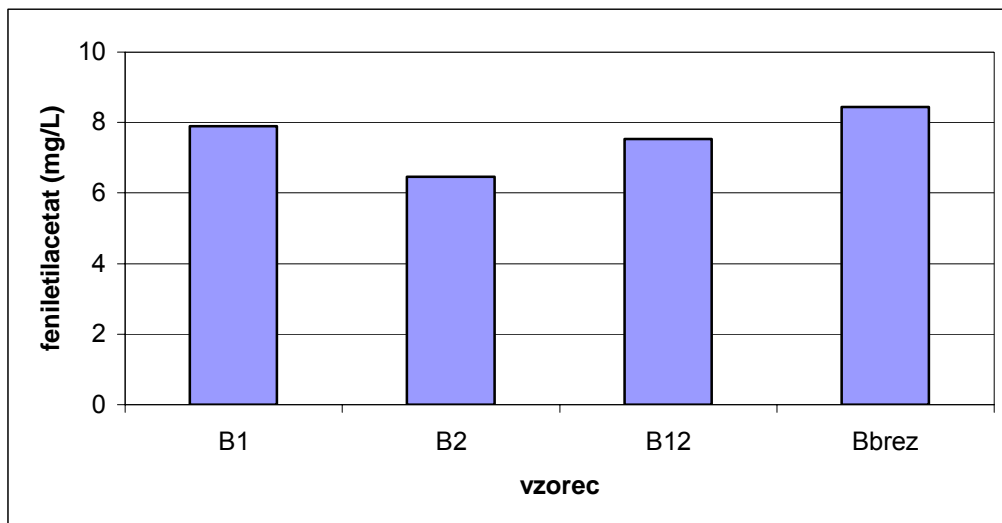
4.3.23 Vsebnost 2-feniletanola



Slika 35: Vsebnost 2-feniletanola (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Iz slike 35 je razvidno, da se v koncentraciji 2-feniletanola vzorec brez hranil zelo razlikuje od ostalih. To razliko lahko pripišemo fermentaciji brez dodanih hranil, saj smo vsem ostalim vzorcem v mošt dodali enostavnejše, kompleksno oziroma obe hranili.

4.3.24 Vsebnost feniletilacetata



Slika 36: Vsebnost feniletilacetata (mg/L) v vzorcih mladega vina »biotično«

Najmanjšo koncentracijo feniletilacetata vsebuje vzorec, ki smo mu med fermentacijo dodali kompleksni hranili (6,47 mg/L).

4.3.25 Senzorična ocena

Preglednica 9: Opisna senzorična ocena in ocena po Buxbaumovi metodi vzorcev mladega vina sorte rebula letnik 2002, pridelanega po različnih škropljnih in fermentacijskih načrtih

OZNAKA VZORCA	VONJ	OKUS	OCENA PO BUXBAUMU (TOČKE)
B1	++	+	15,6
B2	+++	++	16,7
B12	+++	+++	17,0
Bbrez	+	+	15,0
KL1	++	+	
KL2	++	++	
KO1	+	+	
KO2	-	+	

Iz preglednice 9 razberemo, da dodatek hranil vpliva na senzorično zaznavno razliko v kakovosti vina. Ne glede na škropljni načrt sta bila vzorca z dodanimi kompleksnima hraniloma (B2 in KL2) bolj ocenjena v vonju in okusu kot vzorca z enostavnim hranilom (B1 in KL1). Vzorec, ki so mu bila dodana vsa tri hranila, je bil tudi po pričakovanjih najbolj ocenjen. Najslabše so ocenjeni vzorci brez hranil, KL1 in KL2.

Pri senzorični oceni vzorcev rebula mladega vina »biotično« po Buxbaumovi metodi, ki smo jim med fermentacijo dodali različna hranila, sta največje število točk prejela vzorec z dodanimi tremi hranili (17,0) in vzorec z dodanimi kompleksnima hraniloma (16,7), medtem ko sta bila značilno slabše ocenjena vzorca z dodanim enostavnim hranilom (15,6) in vzorec, ki mu med fermentacijo nismo dodali hranil (15,0).

4.4 REZULTATI STATISTIČNE ANALIZE

Zbrani rezultati so bili statistično obdelani po postopku GLM (General Linear Models) v programskem paketu SPSS 15.0 for Windows. Evaluation Version. V preglednicah 10, 11 in 12 so prikazani rezultati analiz z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri za mlado vino, vino med zorenjem in zrelo vino »biotično«. Iz preglednic so razvidne razlike pri posameznih parametrih različnih vzorcev, torej pri uporabi različnih hranil za kvasovke pred alkoholno fermentacijo.

Preglednica 10: Rezultati kemijskih analiz mladega vina »biotično« z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

vzorec	B1					B2				
	n	\bar{x}	so	min	max	n	\bar{x}	so	min	max
pH vrednost	3	3,52	0,01	3,51	3,53	3	3,53	0,01	3,52	3,53
titrabilne kisline (pH=7,0)	2	7,23	0,00	7,23	7,23	2	7,69	0,00	7,69	7,69
skupne kisline (pH=8,2)	2	7,65	0,13	7,56	7,74	2	7,37	0,14	7,27	7,47
kislinska PK	2	13,30	0,00	13,30	13,30	2	14,47	0,00	14,50	14,50
bazična PK	2	18,20	0,00	18,20	18,20	2	18,60	0,00	18,60	18,60
dejanska PK	2	31,50	0,00	31,50	31,50	2	33,10	0,00	33,10	33,10
orientacijska PK	2	40,80	0,00	40,80	40,80	2	40,60	0,00	40,60	40,60
relativna gostota	2	0,99280	0,00013	0,99271	0,99290	2	0,99231	0,00000	0,99231	0,99231
alkohol	3	11,89	0,02	11,88	11,92	3	11,79	0,02	11,76	11,80
reducirajoči sladkorji	3	1,40	0,10	1,30	1,50	3	0,35	0,17	0,15	0,45
sladkorja prosti ekstrakt	3	20,70	0,10	20,60	20,80	3	20,10	0,17	19,90	20,20
skupni ekstrakt	3	22,10	0,20	21,90	22,30	3	20,40	0,17	20,30	20,60
prosti žveplov dioksid	2	60,00	0,00	60,00	60,00	2	60,00	0,00	60,00	60,00
skupni žveplov dioksid	2	116,00	0,00	116,00	116,00	2	124,00	0,00	124,00	124,00
prolin	3	69,00	3,72	64,70	71,20	3	84,53	5,83	77,80	87,90
FAN	3	9,67	0,23	9,40	9,80	2	11,15	0,35	10,90	11,40
skupne fenolne spojine	3	374,67	4,62	372,00	380,00	3	349,00	1,73	348,00	351,00
pepel	3	2,10	0,04	2,05	2,14	3	2,22	0,13	2,13	2,37
hlapne kisline	3	0,27	0,03	0,24	0,30	3	0,33	0,03	0,30	0,36

vzorec	B12					Bbrez				
	n	\bar{x}	so	min	max	n	\bar{x}	so	min	max
pH vrednost	2	3,51	0,00	3,51	3,51	3	3,53	0,01	3,52	3,53
titrabilne kisline (pH=7,0)	2	7,14	0,00	7,14	7,14	2	7,63	0,00	7,63	7,63
skupne kisline (pH=8,2)	2	7,56	0,08	7,50	7,62	2	8,13	0,23	7,97	8,30
kislinska PK	2	14,50	0,00	14,50	14,50	2	12,76	0,00	12,80	12,80
bazična PK	2	17,70	0,00	17,70	17,70	2	19,30	0,00	19,30	19,30
dejanska PK	2	32,20	0,00	32,20	32,20	2	32,10	0,00	32,10	32,10
orientacijska PK	2	40,00	0,00	40,00	40,00	2	40,900	0,00	40,90	40,90
relativna gostota	2	0,99210	0,00016	0,99199	0,99222	3	0,99535	0,00006	0,99528	0,99540
alkohol	2	11,79	0,06	11,75	11,84	3	11,41	0,01	11,41	11,42
reducirajoči sladkorji	3	0,33	0,10	0,25	0,45	3	4,95	0,15	4,80	5,10
sladk. prosti ekstrakt	3	19,66	0,23	19,40	19,80	3	22,37	0,11	22,30	22,50
skupni ekstrakt	3	20,00	0,36	19,60	20,30	3	27,30	0,17	27,10	27,40
prosti žveplov dioksid	2	62,00	0,00	62,00	62,00	2	30,00	0,00	30,00	30,00
skupni žveplov dioksid	2	80,00	0,00	80,00	80,00	2	114,00	0,00	114,00	114,00
prolin	2	96,20	16,5	84,50	107,90	3	71,13	5,77	67,80	77,80
FAN	2	14,45	0,01	14,40	14,50	3	8,30	0,20	8,10	8,50
skupne fenolne spojine	3	343,33	13,50	330,00	375,00	3	353,33	29,535	323,00	382,00
pepel	3	2,15	0,08	2,07	2,23	3	2,09	0,01	2,08	2,10
hlapne kisline	3	0,28	0,03	0,24	0,30	3	0,24	0,00	0,24	0,24

PK = pušna kapaciteta, FAN (Free Amino Nitrogen) = prosti aminokislinski dušik, n – število obravnavanj, \bar{x} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, so – standardni odklik

Preglednica 11: Rezultati kemijskih analiz vina »biotično« med zorenjem z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

vzorec parameter	B1					B2				
	n	\bar{x}	so	min	max	n	\bar{x}	so	min	max
pH vrednost	3	3,27	0,01	3,26	3,28	3	3,31	0,02	3,29	3,33
titrabilne kisline (pH=7,0)	2	6,15	0,25	5,97	6,33	3	6,16	0,07	6,09	6,23
skupne kisline (pH=8,2)	2	6,48	0,24	6,31	6,65	3	6,55	0,08	6,47	6,64
terpeni: - skupni	2	0,99	0,00	0,99	0,99	3	2,28	0,25	2,03	2,53
- FVT	2	0,60	0,01	0,59	0,61	3	1,77	0,28	1,50	2,06
- PVT	2	3,91	0,01	0,38	0,40	3	0,50	0,03	0,47	0,53
relativna gostota	2	0,99261	0,00007	0,99261	0,99262	2	0,99228	0,0000	0,99228	0,99228
alkohol	3	11,82	0,04	11,78	11,85	3	11,77	0,01	11,77	11,79
reducirajoči sladkorji	1	1,30		1,30	1,30	1	0,35		0,35	0,35
sladkorja prosti ekstrakt	2	20,10	0,00	20,10	20,10	2	20,00	0,00	20,00	20,00
skupni ekstrakt	2	21,40	0,00	21,40	21,40	2	20,30	0,00	20,30	20,30
prosti žveplov dioksid	1	21,00		21,00	21,00	1	38,00		38,00	38,00
skupni žveplov dioksid	1	105,00		105,00	105,00	1	113,00		113,00	113,00
prolin	3	131,17	1,67	130,20	133,10	3	139,73	8,26	130,20	144,50
FAN	2	10,20	0,14	10,10	10,30	2	12,02	0,21	11,90	11,20
pepel	2	1,84	0,03	0,82	0,86	2	1,84	0,14	1,74	1,94
hlapne kisline	1	0,22		0,22	0,22	1	0,21		0,21	0,21

vzorec parameter	B12					Bbrez				
	n	\bar{x}	so	min	max	n	\bar{x}	so	min	max
pH vrednost	2	3,32	0,01	3,31	3,33	3	3,30	0,01	3,30	3,31
titrabilne kisline (pH=7,0)	3	5,77	0,12	5,67	5,91	3	6,13	0,01	6,12	6,14
skupne kisline (pH=8,2)	3	6,09	0,12	5,97	6,20	3	6,44	0,00	6,44	6,44
terpeni: - skupni	2	2,20	0,00	2,20	2,20	2	1,71	0,04	1,676	1,739
- FVT	2	1,38	0,00	1,38	1,38	3	0,93	0,07	0,886	0,980
- PVT	2	0,83	0,00	0,83	0,83	2	0,78	0,02	0,759	0,790
relativna gostota	2	0,99186	0,00001	0,99186	0,99187	3	0,99534	0,00012	0,99520	0,99542
alkohol	3	11,84	0,01	11,84	11,85	2	11,53	0,01	11,52	11,54
reducirajoči sladkorji	1	0,33		0,33	0,33	1	4,51		4,51	4,51
sladkorja prosti ekstrakt	2	18,80	0,00	18,80	18,80	2	23,10	0,00	23,10	23,10
skupni ekstrakt	2	19,60	0,00	19,60	19,60	2	27,60	0,00	27,60	27,60
prosti žveplov dioksid	1	20,00		20,00	20,00	1	13,00		13,00	13,00
skupni žveplov dioksid	1	73,00		73,00	73,00	1	110,00		110,00	110,00
prolin	3	141,63	2,85	138,80	144,50	2	121,70	0,00	121,70	121,70
FAN	2	16,00	0,00	16,00	16,00	3	9,87	0,40	9,50	10,30
pepel	1	1,80		1,80	1,80	2	1,93	0,13	1,84	2,02
hlapne kisline	1	0,24		0,24	0,24	1	0,21		0,21	0,21

PK = pufna kapaciteta, FAN (Free Amino Nitrogen) = prosti aminokislinski dušik, n – število obravnavanj, \bar{x} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, so – standardni odklik

Preglednica 12: Rezultati kemijskih analiz zrelega vina »biotično« z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

vzorec parameter	B1					B2				
	n	\bar{x}	so	min	max	n	\bar{x}	so	min	max
pH vrednost	3	3,63	0,01	3,62	3,64	3	3,69	0,01	3,68	3,70
titrabilne kisline (pH=7,0)	3	5,94	0,05	5,88	5,97	3	5,90	0,02	5,88	5,93
skupne kisline (pH=8,2)	3	6,27	0,03	6,24	6,30	2	6,24	0,00	6,24	6,24
relativna gostota	3	0,99285	0,00005	0,99281	0,99290	3	0,99239	0,00097	0,99228	0,99247
alkohol	3	11,76	0,08	11,71	11,85	3	11,63	0,04	11,59	11,67
skupni ekstrakt	3	21,80	0,17	21,60	21,90	3	20,23	0,12	20,10	20,30
prosti žveplov dioksid	3	13,67	0,58	13,00	14,00	3	27,00	0,00	27,00	27,00
hlapne kisline	3	0,15	0,01	0,14	0,16	2	0,17	0,00	0,17	0,17

vzorec parameter	B12					Bbrez				
	n	\bar{x}	so	min	max	n	\bar{x}	so	min	max
pH vrednost	2	3,69	0,05	3,65	3,73	3	3,73	0,01	3,72	3,74
titrabilne kisline (pH=7,0)	2	5,79	0,03	5,77	5,81	3	6,09	0,00	6,09	6,09
skupne kisline (pH=8,2)	2	6,12	0,00	6,12	6,12	3	6,42	0,00	6,42	6,42
relativna gostota	3	0,991867	0,00102	0,99069	0,99248	3	0,99532	0,00010	0,99520	0,99539
alkohol	3	11,77	0,04	11,75	11,82	3	11,52	0,06	11,46	11,57
skupni ekstrakt	3	19,33	2,46	16,50	20,90	1	27,10		27,10	27,10
prosti žveplov dioksid	2	27,00	0,00	27,00	27,00	3	19,00	0,58	19,00	20,00
hlapne kisline	2	0,15	0,01414	0,14	0,16	3	0,26	0,00	0,26	0,26

PK = pušna kapaciteta, FAN (Free Amino Nitrogen) = prosti aminokislinski dušik, n – število obravnavanj, \bar{x} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, so – standardni odklik

V preglednicah 13, 14 in 15 so prikazani rezultati Duncanovega testa, s katerim smo ugotavljali, ali se vzorci mladega vina, vina med zorenjem in zrelega vina »biotično« glede na dodano hranilo med seboj razlikujejo.

Preglednica 13: Vpliv dodatka različnih hranil v mošt med fermentacijo na kemijske parametre mladega vina »biotično« (Duncanov test, P<0,05)

parameter	enota	B1	B2	B12	Bbrez	P-vrednost
pH vrednost	/	3,52	3,53	3,51	3,53	0,104
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	7,65 ^a	7,37 ^a	7,56 ^a	8,13 ^b	0,032
reducirajoči sladkorji	g/L	1,40 ^b	0,35 ^a	0,33 ^a	4,95 ^c	0,000
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,27 ^a	0,33 ^b	0,28 ^{a,b}	0,24 ^a	0,023
pepel	g/L	2,10	2,20	2,10	2,10	0,232
FAN	mg N/L	9,67 ^b	11,15 ^c	14,45 ^d	8,30 ^a	0,000
prolin	mg/L	69,00 ^a	84,53 ^{a,b}	96,20 ^b	71,13 ^a	0,022
skupne fenolne spojine	mg galne kisline/L	376	350	344	354	0,181
relativna gostota	/	0,99281 ^b	0,99231 ^a	0,99211 ^a	0,99535 ^c	0,000
alkohol	vol. %	11,89 ^c	11,79 ^b	11,79 ^b	11,41 ^a	0,000
skupni ekstrakt	g/L	22,10 ^b	20,40 ^a	20,00 ^a	27,30 ^c	0,000
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	20,70 ^c	20,10 ^b	19,67 ^a	22,37 ^d	0,000

P≤0,001 statistično zelo visoko značilno; P≤0,01 statistično visoko značilno; P≤0,05 statistično značilno; P>0,05 ni statistično značilnih razlik

Preglednica 14: Vpliv dodatka različnih hranil v mošt med fermentacijo na kemijske parametre vina »biotično« med zorenjem (Duncanov test, P<0,05)

parameter	enota	B1	B2	B12	Bbrez	P-vrednost
pH vrednost	/	3,27 ^a	3,31 ^b	3,32 ^b	3,30 ^b	0,021
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	6,15 ^b	6,16 ^b	5,77 ^a	6,13 ^b	0,017
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	6,48 ^b	6,56 ^b	6,10 ^a	6,44 ^b	0,010
pepel	g/L	1,80	1,70	1,80	1,70	0,761
FAN	mg N/L	10,21 ^a	12,06 ^b	16,00 ^c	9,90 ^a	0,000
prolin	mg/L	131,18 ^{a,b}	139,71 ^{b,c}	141,61 ^c	121,70 ^a	0,009
relativna gostota	/	0,99262 ^c	0,99228 ^b	0,991865 ^a	0,99535 ^d	0,000
alkohol	vol.%	11,80 ^c	11,80 ^b	11,80 ^c	11,50 ^a	0,000
terpeni: - skupni	µg/mL	0,99 ^a	2,28 ^c	2,20 ^c	1,71 ^b	0,001
- FVT	µg/mL	0,60 ^a	1,77 ^b	1,38 ^b	0,93 ^a	0,003
- PVT	µg/mL	0,39 ^a	0,50 ^b	0,83 ^d	0,78 ^c	0,000

P≤0,001 statistično zelo visoko značilno; P≤0,01 statistično visoko značilno; P≤0,05 statistično značilno; P>0,05 ni statistično značilnih razlik

Preglednica 15: Vpliv dodatka različnih hranil v mošt med fermentacijo na kemijske parametre zrelega vina »biotično« (Duncanov test, P<0,05)

parameter	enota	B1	B2	B12	Bbrez	P-vrednost
pH vrednost	/	3,63 ^a	3,69 ^b	3,69 ^b	3,73 ^b	0,007
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	5,94 ^b	5,90 ^b	5,79 ^a	6,09 ^c	0,000
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	6,27 ^b	6,24 ^b	6,12 ^a	6,42 ^c	0,000
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,17 ^a	0,17 ^a	0,15 ^a	0,26 ^b	0,000
prosti žveplov dioksid	mg/L	13,00 ^a	28,00 ^c	27,00 ^c	19,00 ^b	0,000
relativna gostota	/	0,99285 ^a	0,99239 ^a	0,99167 ^a	0,99532 ^c	0,000
alkohol	vol.%	11,76 ^c	11,63 ^b	11,77 ^c	11,52 ^a	0,002
skupni ekstrakt	g/L	21,80	20,23	19,33	27,10	0,016

P≤0,001 statistično zelo visoko značilno; P≤0,01 statistično visoko značilno; P≤0,05 statistično značilno; P>0,05 ni statistično značilnih razlik

V preglednicah 16 in 17 so prikazani viri variabilnosti (škropljenje, dodatek hranila in interakcija med škropljenjem in dodatkom hranila), odgovorni za vrednosti posameznih parametrov oz. lastnosti. Izračunana P-vrednost nam kaže, kako močan je posamezen vpliv na določeno lastnost. Primerjali smo vzorce B1, B2, KL1, KL2 in KO1, KO2.

Preglednica 16: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na kemijske parametre mladega vina

parameter	enota	Vir variabilnosti (P-vrednost)		
		škropljenje	dodatek hranila	škropljenje*dodatek hranila
pH vrednost	/	0,016	0,057	0,190
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	0,100	0,078	0,069
reducirajoči sladkorji	g/L	0,317	0,022	0,042
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,421	0,087	0,727
pepel	g/L	0,030	0,341	0,740
FAN	mg N/L	0,011	0,009	0,044
skupne fenolne spojine	mg galne kisline/L	0,000	0,010	0,003
relativna gostota	/	0,016	0,086	0,056
alkohol	vol.%	0,001	0,013	0,261
skupni ekstrakt	g/L	0,036	0,042	0,500
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	0,029	0,746	0,132

P≤0,001 statistično zelo visoko značilno; P≤0,01 statistično visoko značilno; P≤0,05 statistično značilno; P>0,05 ni statistično značilnih razlik

Iz preglednice 16 je razvidno, da od enajstih opazovanih parametrov mladega vina škropljenje vpliva statistično značilno na osem parametrov, dodatek hranila na pet parametrov, kombinacija škropljenja in dodatka pa vpliva le na tri opazovane parametre.

Preglednica 17: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na kemijske parametre zrelega vina

parameter	enota	Vir variabilnosti (P-vrednost)		
		škropljenje	dodatek hranila	škropljenje*dodatek hranila
pH vrednost	/	0,000	0,001	0,203
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	0,000	0,001	0,019
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	0,000	0,000	0,000
relativna gostota	/	0,000	0,000	0,000
alkohol	vol. %	0,000	0,041	0,990
skupni ekstrakt	g/L	0,000	0,000	0,000
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,032	0,001	0,000
prosti žveplov dioksid	mg/L	0,000	0,000	0,000

$P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilno; $P \leq 0,01$ statistično visoko značilno; $P \leq 0,05$ statistično značilno; $P > 0,05$ ni statistično značilnih razlik

V zrelem vinu škropljenje in dodatek hranil statistično značilno vplivata na vse opazovane parametre, kombinacija škropljenja in dodatka hranil pa nima vpliva le na dva izmed njih.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Razprava o dobljenih rezultatih analiz mošta

Iz rezultatov vidimo, da je način škropljenja vplival na sladkorno stopnjo mošta. Največjo vsebnost sladkorja je dosegel vzorec »biotično«, manj vzorec »klasično«, najmanj »kontrola«. Način škropljenja je vplival tudi na vrednosti pH ter vsebnost skupnih kislin. Vzorec »klasično« je vseboval najmanj le-teh, zato je bil pH pri tem vzorcu tudi največji; več od »klasičnega« je vseboval »biotično« (temu ustrezno je bil pH manjši). Največ skupnih kislin je vseboval vzorec »kontrola« in pri tem vzorcu je bil pH najmanjši.

Opazne razlike so bile tudi pri dejanski pufni kapaciteti (največjo je dosegel vzorec »kontrola«, najmanjšo »klasično«), pri vsebnosti prolina (tu sta bila »klasično« in »biotično«, približno izenačena, najmanjšo pa »kontrola«). Pri vsebnosti FAN je vzorec »klasično« dosegel maksimalno vrednost, najmanjšo vsebnost FAN je dosegel vzorec, pri katerem so bila zadnja tri škropljenja izpuščena.

Mošt »kontrola« je imel v primerjavi z ostalima dvema vzorcema najnižjo sladkorno stopnjo, najmanj prolina in najmanj FAN, zaradi česar lahko sklepamo, da je imel najslabši potencial za optimalen potek alkoholne fermentacije.

5.1.2 Spremljanje alkoholne fermentacije

Med različno škropljenimi vzorci, ki smo jim dodali kompleksni hranili, je najhitreje fermentiral vzorec »klasično«, najbolj počasi pa vzorec »kontrola«. Pri vzorcih, ki smo jim dodali enostavno hranilo, je slika enaka, zato povzamemo, da način škropljenja ni vplival na hitrost fermentacije.

Enostavno hranilo smo v vzorce »biotično« dodali takoj na začetku fermentacije. Vsi vzorci, tudi tisti, ki mu nismo dodali hranila, so v prvih 30-ih urah trajanja fermentacije dosegli maksimalno hitrost sproščanja CO₂, seveda slednji najmanjšo maksimalno hitrost v primerjavi z ostalimi. Potem, ko smo vzorcema B 2 in B 12 naknadno dodali še kompleksni hranili, je njuna hitrost oddajanja dosegla še en maksimum v 123. uri trajanja fermentacije. V nadaljevanju je hitrost logaritmično padala do konstantne vrednosti. Fermentacija je trajala 528 ur in smo jo smatrali kot zaključeno, ker se masa vrelnih steklenic po tem času ni več zmanjševala.

Oddajanje CO₂ je bilo najhitrejše pri vzorcu mošta, kateremu smo dodali vsa tri hranila. Počasnejšo kinetiko fermentacije je kazal vzorec, ki smo mu dodali samo kompleksni hranili, vzorec z dodanim enostavnim hranilom pa je zaostajal za prejšnjim. Po pričakovanjih je najbolj počasi fermentiral mošt, ki mu nismo dodali hranil.

Prve tri dni trajanja alkoholne fermentacije so bili v hitrosti porabe sladkorjev vsi vzorci izenačeni. V nadaljevanju se hitrosti razlikujejo glede na količino hranil, ki so ostala kvasovkam še na razpolago. Hitrost porabe sladkorjev je bila po petih dneh alkoholne fermentacije največja pri vzorcu, ki so mu bila dodana enostavno in kompleksni hranili, sledil mu je vzorec s kompleksnim hranilom, slednjemu vzorec z dodanim enostavnim hranilom. Najbolj počasi so se sladkorji porabljali pri vzorcu brez dodanih hranil. Isti vzorec je imel po zaključku fermentacije 4,95 g/L ostanka nepovretega sladkorja, vzorca B 1 in KO 1 malo čez

en gram, vsi ostali vzorci so povreli do konca (okrog 0,5 g/L reducirajočih sladkorjev in manj).

Vzorec z vsemi dodanimi hranili je vseboval največ prolina po zaključeni alkoholni fermentaciji; sledil mu je vzorec z dodanima kompleksnima hraniloma, nato pa vzorec z dodanim enostavnim hranilom. Najmanjšo vsebnost prolina je imel vzorec, ki mu nismo dodali hranil, kar kaže na stresne pogoje med fermentacijo (pomanjkanje dušikovih spojin) in izkoriščanje prolina.

Koncentraciji FAN v moštu »biotično« in »kontrola« sta znašali okrog 55 mg N/L, kar je po literaturnih podatkih veliko premalo za zadovoljiv potek in dokončanje alkoholne fermentacije. Še pred inokulacijo s selektiniranimi kvasovkami pa so mikroorganizmi, kot so neželene kvasovke in bakterije, ki so v mošt prišle iz vinograda in kletarske opreme, del teh hranil uporabile za svojo rast. V prvih dveh dneh fermentacije se je njegova vsebnost močno zmanjšala zaradi asimilacije kvasovk v lag fazi oz. fazi prilagajanja. Ob koncu fermentacije je rahlo narasla zaradi avtolize kvasovk. Fermentacije so kljub nizki vsebnosti FAN v moštu ob naknadnem dodatku hranil za kvasovke v mošt med fermentacijo potekle do konca.

5.1.3 Razprava o dobljenih rezultatih analiz vina

Vrednost pH, skupne kisline in pufrna kapaciteta

Vrednost pH je definirana kot negativni logaritem aktivnosti vodikovih ionov. Je merilo kislosti. Določitev pH je v bioloških sistemih, kot je vino, pomembnejša kot podatek o skupnih (titrabilnih) kislinah, saj se vpliv H_3O^+ ionov kaže v selektivnem delovanju na mikroorganizme, okusu, oksidacijsko-redukcijskem potencialu, razmerju prosti/vezani žveplov dioksid, ...

Vrednosti pH mladega vina so bile pri vseh vzorcih višje (okrog 3,49) kot v moštu (okrog 3,34) kot posledica fizikalno-kemijskih procesov med alkoholno fermentacijo. V zrelem vinu so vrednosti narasle pri vzorcih »biotično« in »klasično« še višje od vrednosti v moštu, pri vzorcih »kontrola« pa približno na vrednost v moštu »kontrola«. Torej je bil pri zadnjih pH zrelega vina izrazito najnižji. Z mikrobiološkega stališča sta bila vzorca »kontrola« z enostavnim in kompleksnima hraniloma stabilnejša od ostalih. Iz preglednic 16 in 17 je razvidno, da škropljenje statistično značilno vpliva na vrednost pH v mladem vinu, v zrelem vinu pa statistično zelo visoko značilno. Povišanje vrednosti pH v vzorcih je najverjetneje posledica mlečnokislinske fermentacije oz. spontanega biološkega razkisa. Pri opazovanju vpliva dodatka hranil na vrednost pH (preglednica 10) v mladem vinu opazimo, da ni statistično značilnih razlik, v zrelem vinu pa ima vzorec z dodanim enostavnim hranilom visoko statistično značilno nižji pH od ostalih treh. Nepričakovan padec vrednosti pH v vinu med zorenjem lahko razložimo le s sistematično napako pri izvedbi analiz.

Koncentracija skupnih in titrabilnih kislin je bila pri vseh vzorcih v mladem vinu višja kot v moštu zaradi tvorbe kislin med fermentacijo. Ko smo primerjali vzorce glede na dodano hranilo smo videli, da sta imela vzorca z enostavnim hranilom (B1 in KO1) višje skupne in titrabilne kisline kot vzorca z dodanima kompleksnima hraniloma (vzorca B2 in KO2). V primeru »klasičnega« škropljenja je bila slika obratna. Na podlagi statističnih analiz smo ugotovili, da škropljenje in dodatek hranila nimata vpliva na koncentracijo skupnih kislin v mladem vinu, v zrelem vinu pa imata tako škropljenje kot dodatek hranil zelo visoko značilen vpliv na ta parameter.

Med prvimi štirimi vzorci je imel vzorec brez dodanih hranil v mladem vinu statistično značilno najvišje skupne kisline. Vzorec, ki smo mu dodali vsa tri hranila, je imel v vinu med zorenjem in v zrelem vinu statistično zelo visoko značilno najnižjo koncentracijo skupnih kislin.

Koncentracija skupnih kislin se je pri vzorcih, ne glede na opravljeno škropljenje in dodatek hranila, z zorenjem vina zmanjševala. Padec je bil posebno očiten v prvih treh mesecih.

Pufno kapaciteto opišemo kot sposobnost mošta ali vina, da se upira spremembam pH ob dodatku kisline ali baze in je v neposredni povezavi z vrednostjo pH in skupnimi kisljinami mošta in vina. Vrednosti dejanske in kislinske pufne kapacitete so bile v vinu višje kot v moštu, orientacijska in bazična pa sta od mošta do vina ostali praktično nespremenjeni. Vzorci so si v vrednostih pufnih kapacitet podobni. Izstopata le vzorec »kontrola« z dodanima kompleksnima hraniloma, ki ima najnižjo orientacijsko in dejansko PK in vzorec »biotično«, ki mu nismo dodali hranil, z najnižjo bazično in najnižjo kislinsko PK.

Hlapne kisline

Hlapne kisline so vse tiste, ki jih predestiliramo z vodno paro. Med njimi je najpomembnejša očetna kislina, pa tudi mravljinčna in propionska. Očetna kislina ima v normalnih koncentracijah v vinu pomembno vlogo kot aromatična spojina pri tvorbi estrov. Pojavi se že med fermentacijo pod vplivom kvasovk. Njene povečane koncentracije, to je nad 0,8 g/L, so posledica delovanja škodljivih mikroorganizmov, predvsem očetnokislinskih bakterij. Istočasno je povečana tudi koncentracija etilacetata. V koncentraciji nad 0,7 g/L jo senzorično zaznamo. Maksimalna dovoljena koncentracija hlapnih kislin za vina pridelana v Sloveniji je za bela vina 1,0 g/L.

Po zaključeni fermentaciji je imel vzorec »biotično« brez dodanih hranil najmanj hlapnih kislin (0,24 g/L), največ pa vzorca »biotično« in »kontrola« (0,33 g/L) z dodanima kompleksnima hraniloma. V času zorenja so se prvim trem vzorcem in vzorcju »klasično« z enostavnim hranilom hlapne kisline zmanjšale, najverjetneje na račun tvorbe etilacetata. Vzorcem KL2, KO1 in KO2 so med zorenjem narasle, v vseh teh vzorcih pa je koncentracija padla na najnižjo vrednost v zrelem vinu. V vzorcju, ki mu nismo dodali hranil in je imel sprva v mladem vinu najmanj hlapnih kislin, so v zadnji fazi zorenja porasle na najvišjo koncentracijo med vsemi vzorci (0,26 g/L). Kljub vsemu so koncentracije hlapnih kislin v vseh vzorcih majhne in daleč pod mejo senzorične zaznave. Da sta imela med vzorci »biotično« vzorec s tremi dodanimi hranili in vzorec s kompleksnima hraniloma v mladem vinu višje hlapne kisline od vzorcev z enostavnim hranilom in vzorcem brez hranil je statistično značilno, v zrelem vinu pa je bilo za vzorec brez dodanih hranil statistično zelo visoko značilno, da je imel višje hlapne kisline od ostalih treh primerjanih. Vsi vzorci z dodanim enostavnim hranilom (B1, KL1 in KO1) so imeli nižje hlapne kisline kot vzorci z dodanima kompleksnima hraniloma (B2, KL2 in KO2). V mladem vinu med temi vzorci v vplivu škropljenja in dodatku hranil ni bilo statistično značilnih razlik. V zrelem vinu je dodatek hranil za kvasovke vplival na hlapne kisline teh vzorcev z visoko statistično značilnostjo. Kljub rezultatom statistične analize so koncentracije hlapnih kislin v vseh vzorcih med 0,25 in 0,35 g/L, kar pa so koncentracije, ki jih kvasovke tvorijo v optimalnih pogojih fermentacije in se ne glede na škropljenje in dodatek hranil ne razlikujejo bistveno.

Prosti, skupni, vezani žveplov dioksid in acetaldehid

Žveplov dioksid, raztopljen v moštu ali vinu, se nahaja v treh oblikah: molekularni (SO_2), bisulfitni (HSO_3^-) in sulfitni obliki (SO_3^{2-}). Skupni žveplov dioksid kot fizikalno-kemijski parameter zajema vse možne oblike žveplovega dioksida. Prosti žveplov dioksid predstavlja predvsem molekularno obliko, nevezano bisulfitno in nedisociirano sulfitno obliko (H_2SO_4). Z molekularno je povezano protimikrobno delovanje žvepla. Z razpoložljivo bisulfitno obliko se vežejo porabniki žvepla, kot so acetaldehid, piruvat, ketoglutarat, tanini in sladkorji. Tako se koncentracija prostega žveplovega dioksida zmanjšuje, dokler niso vezani vsi porabniki. Vezani žveplov dioksid torej obsega bisulfitno obliko s porabniki žvepla. Od vseh porabnikov je najpomembnejši prav acetaldehid, ki nastaja kot stranski produkt alkoholne fermentacije (odvisno od temperature, aeracije, pH, pomanjkanja vitaminov, zlasti tiamina), v večji meri pa pri mikrobiološki oksidaciji etanola v prisotnosti kisika pri tvorbi očetne kisline zaradi okužbe z očetnokislinskimi bakterijami. V vinu je nezaželen v večjih koncentracijah (Bavčar, 2006). Senzorični prag zaznave je med 100 in 125 mg/L in ga opišemo z vonjem po naribanih jabolkah, po oksidaciji.

V vzorcih so bile koncentracije skupnega SO_2 v mejah od 64 do 116 mg/L in so v prvih treh mesecih zorenja za malenkost padle. Razmerje prosti/vezani SO_2 je bilo v mladem vinu v korist prostega, izjema je bil le vzorec »biotično« brez dodanih hranil, pri katerem je vezani SO_2 dosegel maksimalno vrednost med vsemi ostalimi vzorci, to je 84 mg/L. Najmanjšo koncentracijo vezanega SO_2 v vinu po zaključeni fermentaciji je dosegel vzorec »biotično« s tremi dodanimi hranili (18 mg/L). Sklepamo lahko, da se je v vzorcu tvorilo veliko več porabnikov žvepla, ker med fermentacijo kvasovkam nismo dodali hranil. V vzorcu, ki smo mu dodali vsa tri hranila, so kvasovke proizvedle najmanj porabnikov. Vzorci z dodanim enostavnim hranilom so imeli manj vezanega SO_2 kot vzorci z dodanima kompleksnima hraniloma. V procesu zorenja se je razmerje med prostim in vezanim SO_2 obrnilo. Največjo vrednost v razmerju prosti/vezani SO_2 v vinu med zorenjem sta dosegla vzorca »biotično«, s kompleksnima hraniloma in vzorec »biotično« s tremi dodanimi hranili, najmanjšo vrednost v istem razmerju pa vzorec »biotično« brez hranil. Povzamemo lahko, da so kvasovke ob dodatku hranil v mošt med fermentacijo tvorile manj porabnikov žvepla, kot so acetaldehid, piruvat, ketoglutarat. Za prve štiri vzorce velja, da v zrelem vinu dodatek hranila statistično zelo visoko vpliva na koncentracijo prostega SO_2 . Pri vzorcih B1, B2, KL1, KL2 in KO1, KO2, tako škropljenje kot dodatek hranil vplivata na koncentracijo prostega SO_2 s statistično zelo visoko značilnostjo v zrelem vinu.

Vsebnost acetaldehida smo analizirali samo v mladem vinu. Koncentracije so se skladale z rezultati porabe SO_2 . Vzorca B2 in B brez dodanih hranil sta vsebovala veliko več tega glavnega porabnika kot vzorec »biotično«, ki je fermentiral ob dodatku vseh treh hranil.

Vsebnost reducirajočih sladkorjev, skupnega in sladkorja prostega ekstrakta

V skupini prvih štirih vzorcev je imel zelo visoko statistično značilno največji preostanek reducirajočih sladkorjev v mladem vinu vzorec, ki mu nismo dodali hranil, najmanj pa vzorec s tremi dodanimi hranili. Koncentracija reducirajočih sladkorjev se je v naslednjih treh mesecih zorenja zmanjšala ali ostala konstantna. Vsi vzorci so v kategoriji suhih vin, ker njihova vsebnost reducirajočih sladkorjev ni presegla meje 9 g/L. Zaradi različnih dodatkov hranil je med vzorci le statistično značilna razlika, zaradi različnih škropljenj pa statistično značilnih razlik ni.

Skupni ekstrakt sestavljajo nehlapne komponente vina (sladkorji, nehlapne kisline, glicerol, 2,3-butandiol, fenoli, del mlečne in očetne kisline). Da vina med seboj po ekstraktu lažje primerjamo, skupnemu ekstraktu odštejemo reducirajoče sladkorje in dobimo sladkorja prosti ekstrakt. V splošnem večji ekstrakt brez sladkorja pomeni tudi vino boljše kakovosti, bolj harmonična in polnejša vina.

Skupni ekstrakt in sladkorja prosti ekstrakt sta bila pri vsakem vzorcu zelo različna. Pri skupnem ekstraktu spremembe lahko povežemo z nihanjem reducirajočih sladkorjev (slika 18). Pri vzorcu »biotično« brez hranil je za oba ekstrakta statistično zelo visoko značilna razlika v vsebnosti; dosežena je bila največjo vrednost v mladem vinu (isti vzorec je istočasno vseboval največ skupnih kislin in reducirajočih sladkorjev). Ko smo primerjali prve tri vzorce »biotičnega« škropljenja z dodanimi različnimi hranili (vzorec B1, B2 in B12) smo ugotovili, da je imel v mladem vinu najvišji ekstrakt vzorec, ki smo mu dodali enostavno hranilo. Ekstrakta pri vzorcih KL2 in KO2 se v času zorenja zmanjšujeta kot posledica izločanja vinskega kamna, beljakovin ter fenolnih spojin. Vzorcju »biotično« brez dodanih hranil oba ekstrakta z zorenjem rasteta (tudi alkohol), sočasno pa vsebnost reducirajočih sladkorjev pada. Sklepamo lahko da so kvasovke nadaljevale s svojo fermentacijsko aktivnostjo, so pa zaradi alkoholnega stresa, prisotnosti SO₂, nizke temperature med zorenjem (10 °C) in pomanjkanja hranil tvorile več sekundarnih produktov. Posledično sta se v vinu skupni in sladkorja prosti ekstrakt povečala.

Relativna gostota

Relativna gostota je razmerje med gostoto mošta in gostoto vode pri enaki temperaturi. Na gostoto vzorca mošta ali vina vplivajo vse raztopljene snovi, ki so bodisi specifično lažje (sladkorji, kisline, glicerol) ali specifično težje od vode (alkohol) (Košmerl in Kač, 2007).

Za vzorec brez dodanih hranil v vseh treh fazah je statistično zelo visoko značilno, da ima najvišjo relativno gostoto med prvimi štirimi, najmanjšo pa s tremi dodanimi hranili. Opazimo lahko, da je najvišja relativna gostota vzorca brez hranil skladna s koncentracijo skupnih kislin, reducirajočimi sladkorji in ekstraktom. Relativna gostota je v prvih treh mesecih zorenja padla. Vzorca mladega in zrelega vina, ki smo jih primerjali po enakih dodanih hranilih so kazali enak trend in sicer vzorca z dodanim enostavnim hranilom sta imela višjo relativno gostoto od vzorcev z dodanimi enostavnima hraniloma. Iz statistične analize rezultatov povzamemo še, da škropljenje statistično značilno vpliva in sicer tako, da imajo vzorca mladega vina »kontrola« najvišjo relativno gostoto, »klasično« pa najmanjšo. V dodatku hranila ni statistično značilnih razlik med vzorci z dodanim enostavnim (vzorca B1, KL1, KO1) ali kompleksnima hraniloma (vzorca B2, KL2, KO2).

Vsebnost alkohola

Etanol je glavni produkt fermentacije, zato ga je bilo v vzorcih mladega vina največ. Vsebnost alkohola se je v vzorcih zaradi zorenja vina zmanjševala, kar je v največji meri posledica oksidacije etanola v acetaldehid in esterifikacije etanola z ustreznimi kislinami, predvsem očetno ob tvorbi etilacetata.

Vzorcju »biotično« brez hranil se je v prvih treh mesecih zorenja alkoholna stopnja povišala za 0,1 vol.%. Med vzorci »biotično« je v mladem vinu dosegel največ alkohola vzorec z enostavnim hranilom, sledila sta vzorca B2 in B12 z enako stopnjo. Vzorec, ki mu med fermentacijo nismo dodali hranil za kvasovke, je v mladem vinu, vinu med zorenjem in v

zrelem vinu dosegel nižjo alkoholno stopnjo v primerjavi z vzorci z dodanimi hranili s statistično zelo visoko značilnostjo. Hkrati iz rezultatov vidimo, da so imeli vzorci z enostavnim hranilom statistično značilno višjo alkoholno stopnjo od vzorcev s kompleksnima hraniloma. Škropljenje je v mladem in zrelem vinu z visoko statistično značilnostjo vplivalo na vsebnost alkohola in sicer so dosegli »biotični« najvišje alkohole, nižje klasično škropljeni vzorci, najnižjo vsebnost alkohola so dosegli vzorci »kontrola«. Razlike med stopnjami alkohola vzorcev »biotično« in klasično« so v intervalu od 11,4 do 11,9 vol.% in so lahko posledica analitske napake, saj je dovoljeno odstopanje v okviru 0,5 vol.%. Vzorec »kontrola«, ki smo mu dodali kompleksni hranili je imel najmanj alkohola, hkrati pa tudi najmanj reducirajočih sladkorjev. Sklepamo lahko, da je šla alkoholna fermentacija sladkorjev v smeri večje tvorbe glicerola, acetaldehida, višjih alkoholov in hlapnih snovi. Sklep potrjujejo tudi višji rezultati relativne gostote, vsebnosti skupnega žveplovega dioksida in hlapnih kislin.

Vsebnost pepela

Koncentracija mineralnih snovi je eden od pokazateljev kakovosti vina. Vpliva na okus, cvetico in barvo vina. Med predelavo vina mikroorganizmi porabljajo minerale, še več pa se jih izloči v obliki netopnih soli. V vinih je koncentracija pepela od 1,2 do 3 g/L. V našem poskusu imajo vina pepela od 1,7 do 1,9 g/L glede na to, da smo opravili 12-urno maceracijo. Po zaključeni fermentaciji imajo vzorci mladega vina »biotično« statistično značilno višjo vsebnost pepela od drugače škropljenih in jim v prvih treh mesecih zorenja pade, ker se del mineralnih snovi (zlasti kalij) veže na organske kisline ter preide iz topne v netopno obliko (kalijev hidrogen tartrat oz. vinski kamen). Najvišjo vsebnost v mladem vinu doseže vzorec s kompleksnima hraniloma, najnižjo pa vzorec »kontrola« z enostavnim hranilom. V mladem vinu vzorci, ki smo jim pred fermentacijo dodali kompleksni hranili dosežejo višjo vsebnost pepela kot vzorci, ki smo jim dodali enostavno hranilo. Kljub tem ugotovitvam pa po statistični analizi med vzorci »biotično« v vsebnosti pepela ni statistično značilnih razlik ne v mladem vinu niti kasneje v vinu med zorenjem.

Vsebnost prolina

Pri nemoteni rasti kvasnih celic in alkoholni fermentaciji kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* se prolin praktično ne vključuje v njihov metabolizem, izjemoma ga metabolirajo v stresnih pogojih, ob pomanjkanju drugih virov dušika. Je pa ravno tako pomembna aminokislina za normalen potek fermentacije, saj vpliva na preživelost kvasovk. Skupaj z glicinom in betainom blaži stres kvasovk zaradi sladkorja in nastalega alkohola.

Koncentracije prolina je s časom zorenja vina po končani fermentaciji narasla zaradi avtolize kvasovk. Za prve štiri vzorce mladega vina je statistično značilno, da imata vzorca B2 in B12 večjo koncentracijo prolina kot vzorca B1 in vzorec brez dodanih hranil, za iste vzorce vina med zorenjem je ta lastnost statistično zelo visoko značilna. Vsi vzorci, ki smo jim med fermentacijo dodali enostavno hranilo so vsebovali manj prolina kot tisti, ki smo jim dodali kompleksni hranili. Iz rezultatov se tudi jasno kaže, da tako kot v moštu tudi v vinu škropljenje vpliva na koncentracijo prolina, saj ga imata vzorca »kontrola« najmanj.

Vsebnost prostega aminokislinskega dušika (FAN)

Mošt je imel najvišjo vsebnost FAN, ki pa je med fermentacijo zaradi asimilacije kvasovk močno padla. Koncentracija FAN je z zorenjem vina naraščala zaradi absorpcije produktov avtolize kvasovk. Dodatek hranil je imel na koncentracijo FAN v vzorcih mladega vina in vina med zorenjem statistično zelo visok vpliv in sicer je imel med prvimi štirimi vzorci vzorec s tremi hranili največjo vsebnost, sledila sta vzorca B2, B1, in vzorec brez hranil z najnižjo vsebnostjo. Za vzorce, ki smo jim pred fermentacijo dodali enostavno hranilo, je bilo statistično visoko značilno, da so vsebovali manj prostega aminokislinskega dušika kot tisti, ki smo jim dodali kompleksni hranili. Glede na škropljenje sta imela statistično značilno najmanjšo koncentracijo FAN vzorca »kontrola« ravno tako kot pri vsebnostih prolina v moštu in v vinu.

Vsebnost skupnih fenolnih spojin

Koncentracije skupnih fenolnih spojin smo spremljali samo v mladem vinu in so bile pri vseh vzorcih velike, saj smo drozgo pred stiskanjem 12 ur macerirali in tako s podaljšanim stikom mošta z jagodno kožico ter pečkami omogočili intenzivnejšo ekstrakcijo fenolnih snovi. Med vzorci »biotično« ni statistično značilnih razlik. Na ostale vzorce škropljenje vpliva z zelo visoko statistično značilnostjo, tako da ima »kontrola« višjo vsebnost fenolnih spojin kot »klasično«.

Vsebnost terpenov

Terpeni spadajo med aromatične spojine grozdja, ki so v vinu razpoznavne komponente sortnosti. Locirani so predvsem v jagodni kožici (geraniol, nerol) ali izjemoma v jagodnem mesu (linalool). Skupna koncentracija terpenov z dozorevanjem grozdja in višjo temperaturo narašča in tudi po dosegu polne zrelosti vendar predvsem vezana oblika oz. glikozidi, prosti monoterpeni alkoholi pa se sočasno izgubljajo zaradi hlapnosti. Prisotnost plesni vrste *Botrytis cinerea* zmanjša njihovo vsebnost. Ker se del prostih terpenskih snovi veže v nehlapne glikozide (s sladkorji) ali pa v njihove oksidirane produkte, je aroma mošta dozorelega grozdja manj intenzivna, kot bi pričakovali glede na skupno koncentracijo terpenov. Njihovo vsebnost povečujemo z maceracijo in dodatkom encimov. V splošnem velja, da so dokaj stabilni med fermentacijo, v času zorenja pa se počasi sproščajo z encimsko hidrolizo glikozidov.

Koncentracijo terpenov smo določali samo v vinu med zorenjem. S statistično zelo visoko značilnostjo sta vzorca B2 in B12 dosegla višjo vsebnost skupnih terpenov, najmanjšo pa vzorec B1. Prav tako z zelo visoko statistično značilnostjo je vzorec z dodanimi tremi hranili dosegel največjo koncentracijo potencilanih hlapnih monoterpenov, najmanjšo pa vzorec z dodanim enostavnim hranilom. V koncentraciji prostih hlapnih terpenov se vzorci statistično visoko razlikujejo in sicer sta imela vzorca z enostavnim hranilom in vzorec brez dodanih hranil nižje vsebnosti le-teh, vzorca B2 in B12 pa višje. Vzorca B1, KL1 in KO1 z dodanim enostavnim hranilom so imeli nižjo koncentracijo skupnih terpenov kot vzorci z dodanimi kompleksnima hraniloma (B2, KL2 in KO2).

Vsebnost hlapnih snovi

Etilacetat

Etilacetat je ester očetne kisline in etanola z vonjem po sadju, vinskem kislu in lepilu. Je najbolj zastopan ester in v koncentracijah od 30 do 60 mg/L ugodno prispeva k aromi. V večjih koncentracijah več kot 150 mg/L deluje negativno na kakovost vina (etilacetatni ton) in je ob sočasni povišani koncentraciji očetne kisline (več kot 0,8 g/L) posledica delovanja škodljivih mikroorganizmov, predvsem očetnokislinskih bakterij.

Največjo koncentracijo etilacetata je vseboval vzorec, ki mu v mošt pred fermentacijo nismo dodali hranil za kvasovke (62,58 mg/L), le za 0,08 mg/L manj vzorec z dodanim kompleksnima hraniloma, sledil je vzorec z dodanimi enostavnim in kompleksnima hraniloma s koncentracijo 56,90 mg/L. Najmanjšo koncentracijo je imel vzorec z dodanim enostavnim hranilom in sicer 44,27 mg/L.

Vsebnost metanola

Metanol ni produkt alkoholne fermentacije ampak nastane kot posledica hidrolize pektinskih snovi pod vplivom encima pektinmetilesteraze. Encimska aktivnost narašča v zadnji fazi zorenja grozdja in se nadaljuje tudi s podaljšano maceracijo. Torej je njegova koncentracija odvisna predvsem od sorte grozdja in načina predelave. Metanol nima bistvenega vpliva na senzorične lastnosti vina in minimalno reagira z drugimi spojinami v vinu.

Vsi vzorci mladega vina »biotično« so v našem poskusu vsebovali okrog 44,5 mg/L metanola in so bili v koncentracijah precej izenačeni. Sklepamo lahko, da z dodatkom hranil za kvasovke v mošt ne vplivamo na vsebnost metanola v mladem vinu.

Vsebnost višjih alkoholov

Med alkoholno fermentacijo poteka sinteza višjih alkoholov vzporedno s sintezo alkohola. Nastajajo iz ustreznih aminokislin ali pa skladkorjev. Kvasovke povečajo tvorbo višjih alkoholov tudi zaradi stresa ob pomanjkanju sladkorjev na koncu fermentacije. Hkrati pa velja, da pomanjkanje amonijaka in prostega aminokislinskega dušika v moštu prisili kvasovke, da izkoristijo dušik iz prostih aminokislin in zato se poveča koncentracija višjih alkoholov. Nasprotno pa višek razpoložljivega dušika prispeva po fermentaciji manjšo končno koncentracijo višjih alkoholov.

V našem poskusu so rezultati pokazali ravno obratno sliko od literarnih podatkov. Najvišjo koncentracijo višjih alkoholov je imel vzorec, ki smo mu med fermentacijo dodali enostavnejše hranilo in obe kompleksni hranili, t.j. 348,4 mg/L, za približno 3 mg/L manj vzorec, ki smo mu dodali obe kompleksni hranili. Vzorca z dodanim enostavnim hranilom in vzorec, ki mu v mošt nismo dodali hranil imata precej nižje vsebnosti od prvih dveh in sicer vzorec z enostavnim hranilom 307,1 mg/L, vzorec brez dodanih hranil pa najnižjo vrednost (303,8 mg/L).

Vsebnost izoamil alkohola

Ugotovili so negativno povezavo med koncentracijo izoamil alkohola in skupnim dušikom v moštu. Na sintezo vpliva tudi temperatura mošta med fermentacijo, sev kvasovk in je večja pri povečani aeraciji. Glede na dodana hranila so bile vsebnosti izoamila alkohola v vzorcih razporejene v nasprotju s podatki iz literature takole: največjo koncentracijo je imel vzorec z vsemi tremi hranili (238,49 mg/L), sledita vzorec s kompleksnima hraniloma, nato vzorec z enostavnim hranilom. Najnižjo koncentracijo izoamil alkohola v mladem vinu (202,48 mg/L)

je imel vzorec, ki mu nismo dodali hranil. Podobno razporeditev koncentracij glede na dodana hranila je v svoji raziskavi ugotovil tudi Lisjak (2002).

Vsebnost 1-propanola

1-propanol je alifatski alkohol in se tvori iz produktov metabolizma sladkorja (kondezacija piruvata in acetylCoA), medtem ko se po Erlichovi poti tvori iz prekursorja 2-amino butanojske kisline, ki je v moštu ni.

Koncentracije 1-propanola se gibljejo v razponu med 13,98 in 19,10 mg/L. Vzorca B2 in B12 imata večjo koncentracijo tega višjega alkohola kot vzorec z enostavnim hranilom in vzorec brez hranil. Povzamemo lahko, da z dodatkom kompleksnih hranil povečamo tvorbo 1-propanola med fermentacijo.

Vsebnost izobutanola

Koncentracija izobutanola v mladem vinu je v negativni korelaciji s povečanjem koncentracije dušikovih snovi v grozdju in moštu.

Največjo vrednost izobutanola med vzorci mladega vina »biotično« (64,27 mg/L) je imel v nasprotju s podatki iz literature vzorec, ki smo mu med fermentacijo v mošt dodali kompleksni hranili za kvasovke, nekoliko nižjo vsebnost (60,17 mg/L) kontrolni vzorec. Najmanj izobutanola je vseboval vzorec, ki smo mu pred fermentacijo dodali enostavno hranilo. Zadnja dva vzorca se kot smo pričakovali v koncentracijah razlikujeta v skladu z vsebnostjo dušika v moštu. Enako razporeditev razporeditev koncentracij glede na dodana hranila je v svoji raziskavi ugotovil tudi Lisjak (2002).

Koncentracije izobutanola nihajo od vzorca do vzorca, vseeno pa iz rezultatov ne moremo sklepati, da dodatek in vrsta dodatka hranila v mošt za kvasovke značilno vplivata na koncentracijo izobutanola v mladem vinu.

Vsebnost izoamilacetata

Izoamilacetat je ester izoamil alkohola in očetne kisline in ima vonj po bananah, zato ga imenujemo tudi sadni ester. Je kot tak sestavni del sadno cvetlične arome mladih belih vin. Manjše koncentracije žveplovega dioksida, bistrenje mošta in odsotnost kisika med fermentacijo pozitivno vplivajo na tvorbo in akumulacijo sadnih estrov, pa tudi nižje temperature (<15 °C) alkoholne fermentacije pospešujejo tvorbo izoamilacetata.

Vzorec z enostavnim hranilom in kontrolni vzorec nista vsebovala izoamilacetata. Vzorec z dodanima enostavnim in kompleksnim hranilom za kvasovke je imel večjo koncentracijo, to je 5,19 mg/L, kot vzorec z dodanim kompleksnim hranilom (4,36 mg/L). Tudi ti dve koncentraciji sta bili zelo majhni. V našem poskusu dodatek in vrsta dodatka nista vplivala bistveno na vsebnost izoamilacetata v mladem vinu.

Vsebnost 2-feniletanola

2-feniletanol je višji alkohol, sestavni del sortne arome, ki daje vinu vonj po cvetju in vrtnicah. Tudi ta alkohol je v negativni korelaciji s povečanjem koncentracije dušikovih snovi v grozdju in moštu, kar pa iz rezultatov v našem poskusu ni razvidno.

Vzorec brez dodanih hranil za kvasovke se je s svojo najmanjšo koncentracijo pod 20 mg/L zelo razlikoval od ostalih. Vzorec z enostavnim hranilom in vzorec z obema dodanima hranilom sta si v vsebnostih zelo blizu in sicer oba vsebujeta 2-feniletanola malenkost več kot 25 mg/L. Na osnovi teh rezultatov lahko zaključimo, da dodatek hranila za kvasovke v mošt pred ali med fermentacijo neglede na vrsto dodatka poveča vsebnost 2-feniletanola v mladem vinu.

Vsebnost feniletilacetata

Ta hlapni ester nastane v reakciji med očetno kislino in 2-feniletanolom. Prav tako kot prekursorski alkohol je del sadno cvetlične arome mladih belih vin in ima vonj po španskem bezgu.

Vsebnosti feniletilacetata v naših vzorcih so bile med 6,47 in 8,44 mg/L, torej razlike niso bistvene. Najmanjšo koncentracijo feniletilacetata je vseboval vzorec, ki smo mu med fermentacijo dodali kompleksno hranilo, največjo pa kontrolni vzorec brez hranil. Vzorca z enostavnim in obema dodanima hraniloma sta bila skoraj izenačena z vrednostmi 7,90 mg/L in 7,54 mg/L prav tako kot pri vsebnostih 2-feniletanola. Vzorec brez dodanih hranil je imel najvišjo vsebnost feniletilacetata, kljub temu, da je imel v primerjavi z ostalimi vzorci najmanj obeh prekursorjev v mladem vinu.

Senzorična analiza vzorcev mladega vina

Skladno s koncentracijami višjih alkoholov in hlapnih snovi je bil med vzorci »biotično« najbolje ocenjen vzorec, kjer smo uporabili tako enostavno hranilo že na samem začetku fermentacije, naknadno po opravljeni analizi pa še kompleksni hranili in to s 17-imi točkami. Razlika je več kot očitna v kompleksnosti in večplastnosti prijetnih in za rebulo neznačilnih vonjav (poleg izrazite sadnosti in svežine); okus je nekoliko polnejši, harmonija pa bistveno večja. Po senzorični oceni za njim za tri desetinke slabše ocenjen zaostaja vzorec, ki smo mu dodali samo kompleksno hranilo, za več kot eno točko razlike (ocena 15,6) pa vzorec z dodanim enostavnim hranilom. Po pričakovanjih je bil najslabši kontrolni vzorec s pripombo povišane hlapne kisline in etilacetat (ocena 15,0). Pri senzorični primerjavi vzorcev glede na dodano hranilo ne glede na škropilni načrt, sta bila vzorca, ki smo jima med fermentacijo dodali kompleksni hranili (B2 in KL2) bolje ocenjena kot vzorca, ki smo jima v mošt dodali enostavno hranilo za kvasovke (B1 in KL1). Opazen je tudi vpliv škropljenja na senzorično zaznavno kvaliteto vina. Najslabše sta bila ocenjena vzorca »kontrola«.

5.2 SKLEPI

Iz rezultatov analize mošta sklepamo, da način škropljenja vpliva na sestavo mošta, natančneje na sladkorno stopnjo, na vrednost pH ter vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin, na dejansko pufrno kapaciteto, vsebnost prolina in vsebnost FAN.

Iz opazovanj kinetike alkoholne fermentacije lahko sklepamo, da izbrana škropiva po škropilnem načrtu IPGV v uporabljenih količinah nimajo inhibitornega učinka na fermentacijsko aktivnost kvasovk, hkrati pa le-te niso inhibirane s katerimi koli drugimi mikroorganizmi zaradi izpuščenih zadnjih treh škropljenj. Dodatek hranil za kvasovke v mošt vpliva na kinetiko fermentacije in sicer z dodatkom hranil povečamo hitrost oddajanja CO₂ oziroma hitrost porabe sladkorjev. Tako fermentirana vina imajo manjši preostanek sladkorja in večjo koncentracijo prolina po zaključeni fermentaciji.

Iz rezultatov fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz pridelanih vin sklepamo, da:

- enostavno hranilo vpliva na pH in sicer tako, da zniža pH vina v primerjavi z vini, ki smo jim dodali druga hranila ali jih sploh nismo dodali;
- se zaradi dodatka hranil za kvasovke v mošt zmanjša koncentracija skupnih kislin v vinu na račun izločanja kristalov vinskega kamna v večjem obsegu;

- z dodatkom enostavnega hranila v mošt povečamo pufrno kapaciteto pridelanega vina, z dodatkom kompleksnih hranil pa jo zmanjšamo;
- dodatek hranil za kvasovke v uporabljenih količinah in uporabljeni načini škropljenja nimajo vpliva na vsebnost hlapnih kislin;
- z dodatkom hranil za kvasovke zmanjšamo potrebo po žveplanju;

- z dodatkom hranil zmanjšamo preostanek reducirajočih sladkorjev v vinih in posledično povečamo alkoholno stopnjo;
- škropljenje vpliva na vsebnost alkohola v vinu in sicer je dosegla »kontrola« največjo vsebnost alkohola, manjšo klasično škropljeni vzorci, najmanjšo vsebnost alkohola pa so dosegli vzorci »biotično«;
- z dodatkom hranil povečamo koncentracijo FAN v vzorcih mladega vin in vina med zorenjem;
- dodatek hranil nima vpliva na vsebnost fenolnih spojin, škropljenje pa vpliva z zelo visoko statistično značilnostjo, tako da vsebuje vzorec »klasično« najmanj fenolnih spojin, »kontrola« pa največ;
- dodatek hranil vpliva na vsebnost terpenov (primarnih aromatičnih snovi) tako, da je v vinu med zorenjem vzorec z dodanima kompleksnima hraniloma dosegel največjo vsebnost skupnih terpenov in potencialnih hlapnih monoterpenov, najmanjšo pa vzorec z dodanim enostavnim hranilom. V koncentraciji prostih hlapnih terpenov se vzorci statistično visoko razlikujejo in sicer sta imela vzorca z enostavnim hranilom in vzorec brez dodanih hranil nižje vsebnosti le-teh kot vzorca s kompleksnim hranilom;
- dodatek hranila vpliva na skupno vsebnost višjih alkoholov in izoamilalkohola v vinu. Vzorec z enostavnejšim hranilom in obema kompleksnima hraniloma ima večjo skupno koncentracijo višjih alkoholov kot vzorec, ki smo mu dodali samo obe kompleksni hranili. Vzorca z dodanim enostavnejšim hranilom in vzorec, ki mu v mošt nismo dodali hranil, imata precej nižje vsebnosti od prvih dveh;
- da dodatek hranila v mošt pred ali med fermentacijo ne vpliva na vsebnost metanola, 1-propanola, izobutanola, izoamilacetata in feniletacetata v mladem vinu;
- z dodatkom hranil v mošt zmanjšamo vsebnost etilacetata v mladem vinu, vendar pa imajo vzorci fermentirani s kompleksnim hranilom večje koncentracije etilacetata kot vzorec, fermentiran z enostavnim hranilom;
- dodatek hranila za kvasovke v mošt pred ali med fermentacijo, ne glede na vrsto dodatka, poveča vsebnost 2-feniletanola v mladem vinu;
- dodatek hranil bistveno vpliva na senzorično zaznavno razliko v kakovosti vina. Vzorec z dodanima enostavnim in kompleksnima hraniloma ter vzorec s kompleksnima hraniloma sta po senzorično oceni uvrščena v razred kakovostnih vin ZGP (17,0 in 16,7 točk), vzorec z enostavnim hranilom in vzorec brez dodanih hranil pa v razred namiznih vin PGO (15,6 in 15,0 točk). O vpliv način škropljenja na senzorično kakovost vina pa lahko sklepamo le to, da so vzorci »kontrola« najslabše ocenjeni.

6 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil raziskati vpliv različnih zaščitnih sredstev za varstvo vinske trte in dodatka hranilnih snovi na potek alkoholne fermentacije in posledično na končno kakovost vina bele vinske sorte rebula letnik 2002 iz vinorodnega okoliša Goriška Brda.

V vinogradu smo uporabili škropiva predpisana s Pravilnikom o integrirani pridelavi grozdja in vina in biološki fitofarmaceutski pripravek »Kanne«. Po trgatvi je sledil tehnološki del naloge: pecljanje, drozganje, maceracija, stiskanje in samobistrenje.

V nadaljevanju smo v vzorce mošta iz različno škropljenih delov vinograda dodajali hranila za kvasovke v primerjavi s kontrolo (brez hranil) z namenom potrditi njihov vpliv na fermentacijo. Uporabili smo enostavnejše in kompleksni hranili. V sklopu analiznega dela diplomske naloge smo analizirali številne fizikalno-kemijske parametre grozdnega soka, mošta med fermentacijo, vina po pretoku, vinu po treh in nato šestih mesecih zorenja. Vina smo tudi senzorično ocenili.

Na podlagi rezultatov analiz mošta smo ugotovili, da škropljenje vpliva na razlike med vzorci in sicer je imel mošt, pri katerem smo zadnja tri škropljenja izpustili, v primerjavi s preostalima dvema vzorcema najnižjo sladkorno stopnjo, najmanjšo vsebnost prolina in FAN, zaradi česar lahko sklepamo, da je imel najslabši potencial za optimalen potek alkoholne fermentacije. Vpliv škropljenja na potek alkoholne fermentacije je zanemarljiv. Na podlagi statistične analize rezultatov smo ugotovili, da v zrelem vinu vpliva način škropljenja z zelo visoko statistično značilnostjo na koncentracije skupnih kislin, prostega SO₂, fenolnih spojin, visoko statistično značilno pa na vsebnost alkohola. Vzorci z izpuščenimi zadnjimi tremi škropljenji so tudi senzorično najslabše ocenjeni.

Iz rezultatov statistične analize je tudi razvidno, da dodatek kompleksnih dušikovih hranil za kvasovke v mošt med fermentacijo vpliva na hitrost oddajanja CO₂ oziroma hitrost porabe sladkorjev. Tako fermentirana vina imajo po zaključeni fermentaciji bistveno manjši preostanek sladkorja in večje koncentracije prolina, FAN, skupnih terpenov, potencialnih hlapnih monoterpenov, prostih hlapnih terpenov in višjih alkoholov. Po drugi strani so vina vsebovala manjše koncentracije skupnih kislin ter prostega in vezanega SO₂. Dodatek hranil ima zelo izrazit vpliv na senzorično kakovost vin. Najbolje je bil ocenjen vzorec, kjer smo uporabili tako enostavno hranilo že na samem začetku fermentacije, naknadno po opravljeni analizi pa še kompleksni hranili, po pričakovanjih pa je najslabše ocenjen kontrolni vzorec.

Povzamemo lahko, da z uporabo kompleksnih dušikovih hranil za kvasovke med fermentacijo izboljšamo fizikalno-kemijske parametre vina, posebej pa senzorično kakovost, kar je tako za vinarja kot za potrošnika najpomembnejše. Fitofarmaceutski pripravek »Kanne« naj bi vinogradniki uporabljali v kombinaciji z zaščitnimi sredstvi po IPGV smernicah in tako omogočili obrambo proti oidiju ob manjši uporabi klasičnih zaščitnih sredstev.

7 VIRI

Arsenović N. 2003. Kakovostni parametri mošta in vina sorte "Rebula" pri uporabi fitofarmaceutskega pripravka "Kanne". Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 2-5

Barre P. 1998. La levure de fermentation alcoolique. V: Oenologie. Fondements scientifique et technologique. Collection sciences et technique agroalimentaires. Flanzly C. (cord.). Paris, Technique & Documentation: 415-480

Batič K. 2005. Novejši tehnološki postopki pri predelavi grozdja sorte rebula. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 2-9

Bavčar D. 2006. Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas: 68-105

Biostimol Original. 2002. Treviso, Polo Enologia (navodila na embalaži)

Biostimol Plus. 2002. Treviso, Polo Enologia (navodila na embalaži)

Bonaga G., Pallotta U., Syrghi K. 1990. Influenza delle sostanze polifenoliche sulla qualita dei vini bianchi. Vini d'Italia, 32,4: 13-30

Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, The Chapman & Hall Enology Library: 604 str.

Cabanis J.C. 1987. Lipides. V: Oenologie. Fondements scientifique et technologique. Collection sciences et technique agroalimentaries. Flanzly C. (coord.). Paris, Technique & Documentation: 95-115

Cravero M. C., Bosso A., Castino M. 1996. Must treatments in pre-fermentation : influence on chemical and sensory characters of some white wines. Industrie delle Bevande, 25:217-224

Čuš F., Hačnik J., Martinčič M., Prus M. 2002. Primerjava konvencionalne, integrirane in ekološke pridelave grozdja v Sloveniji. V: Vinogradi in vina za tretje tisočletje?. 2. slovenski vinogradniško-vinarski kongres z mednarodno udeležbo. Otočec, 31.1. – 2.2.2002. Puconja M. (ur.). Celje, Strokovno društvo vinogradnikov in vinarjev Slovenije, Zveza društev vinogradnikov in vinarjev Slovenije, Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo Slovenije: 155-163

Dimitriadis E., Williams P. J. 1984. Laboratory procedures. V: Zoecklein B.W., Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S. 1995. Wine analysis and production. New York, Chapman & Hall: 508-511

Fermol Arome Plus: PB 2010, N reg. INRA CUB 2043. 2002. V: Fermol: Izberite idealno kvasovko za vsak tip vašega vina. Sežana, AEB, Ill de France, Pascal Biotech: 3 str.

Garoglio P.G. 1981. Nuova enologia enciclopedia vitivinicola mondiale. Brescia, AEB S.p.A.: 692 str.

Hranila za kvasovke: Fermoplus, Enovit, Fermocel, Celloferm. 2002. Sežana, AEB, Ill de France, Pascal Biotech: 8 str.

Hrček L., Korošec-Koruza Z. 1996. Sorte in podlage vinske trte. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas: 79-81

Johnson H., Robinson J. 2003. *Atlante mondiale dei vini*. 2^a ed. Milano, Mondadori editore S.p.A.: 352 str.

Kanne–Biologische Pflanzen-Pflege. 1998. Selm Bork, Kanne Brottrunk: 3 str.

Košmerl T. 1999. Reološke lastnosti vina. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 121 str.

Košmerl T. 2002. Metabolizem dušikovih spojin in vzroki za upočasnitev ali zaustavitev alkoholne fermentacije. V: *Vinarski dan 2002*. Ljubljana, 16. april 2002. Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 34-45

Košmerl T. 2003 Pomen hranilnih snovi za optimalen potek alkoholne in jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. V: *Vinarski dan 2003*. Ljubljana, 12. junij 2003. Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 13-35

Košmerl T. 2004. Vpliv dodatkov hranil v mošt pred in med alkoholno fermentacijo : predavanje na Furumu za vinarstvo spodnje Vipavske doline, 1. september 2004, Dornberk. Nova Gorica: Cubist - Inštitut za kreativne študije.

Košmerl T., Kač M. 2007. Osnove kemijske analize mošta in vina. Laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 3. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.

Kristančič D. 2001. Podatki o škroplilnem načrtu za poskus na Biotehniški fakulteti: Interno gradivo. Medana, Kristančič: 1 str.

Lafon Lafourcade S. 1983. Wine and brandy. V: *Biotechnology. A comprehensive treatise in 8 volumes. Volume 5. Food and feed production with microorganisms*. Reed G (ed.). Weinheim, Verlag-Chemie: 83-162

Lamrechts M.G., Pretorius I.S. 2000. Yeast and its importance to wine aroma – A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21, Special Issue: 97-125

Lisjak K. 2002. Kakovost vina sorte Malvazija v odvisnosti od fermentacijskih in zorilnih pogojev. Diplomsko delo. Ljubljana. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 14, 15

Mortimer R. 1999. Ecology of *S. cerevisiae*. Yeast strain and wine flavor: Nature and nurture. V: *Chemistry of wine flavor*. Waterhouse A.L., Ebeller S.E.(eds.). Washington, American Chemical Society.: 66-77. Citirano po: Košmerl T. 2003 Pomen hranilnih snovi za optimalen potek alkoholne in jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. V: *Vinarski dan 2003*. Ljubljana, 12. junij 2003. Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 13-35

Nemanič J. 1999. Spoznajmo vino. Ljubljana, Kmečki glas: 63, 102-104

Ough C.S., Amerine M.A. 1988. Methods for analysis of musts and wines. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons, Inc.: 80-222

Pravilnik o integrirani pridelavi grozdja in vina. 2002. Uradni list Republike Slovenije, 12, 63: 6733-6739

Radovanovič V. 1986. Tehnologija vina. Beograd, IRO Gradevinska knjiga: 31-73

Ribéreau-Gayon P., Duburdieu D., Doneche B., Lonvaud A. 2000. Handbook of enology. Volume 1: The microbiology of wine and vinifications. New York, John Wiley & Sons, Ltd.: 51-106

Ribéreau-Gayon P., Duburdieu D., Doneche B., Lonvaud A. 2003a. Trattato di enologia. Volume 1: Microbiologia del vino e Vinificazioni. 2^a ed. Bologna, Edagricole:459 str.

Ribéreau-Gayon P., Duburdieu D., Glories Y., Maujean A. 2003b. Trattato di enologia. Volume 2: Chimica del vino Stabilizzazione e trattamenti. 2^a ed. Bologna, Edagricole: 537 str.

SPSS. 2006. SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version. Chicago, SPSS Incorporation: softwear

Šikovec S. 1993. Vinarstvo. Od grozdja do vina. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 8-93

Šikovec S. 1996. Vino pijača doživetja. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 223-227

Štabuc R., Hauptman S., Škvarč A., Brodnik M., Maljevič J., Novak E., Vršič S. 2007. Slovenske trte in vina v Evropski uniji. V: Slovenske trte in vina v Evropski uniji. Zbornik referatov. 3. slovenski vinogradniško-vinarski kongres, Maribor 15.-16. 11. 2007. Vršič S. (ur.). Maribor, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Maribor: 1-18

Vršič S., Lešnik M. 2001. Vinogradništvo. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 265 str.

Wondra M. 1998. Vpliv kvasovk na senzorične lastnosti vina. V: Vinogradniško-vinarski dan 1998, Ljubljana, 30. jan. 1998. Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 64-74

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici Tatjani Košmerl za razumevajoče mentorstvo in stalno dosegljivost.

Zahvaljujem se recenzentu Rajku Vidrihu za končen podroben pregled naloge.

Zahvaljujem se prijateljici Urški Kropf za statistično obdelavo podatkov in bodrenje, prof. Mojmirju Wondri za senzorično ocenjevanje vzorcev in Zdenki Župančič za pomoč pri opravljanju praktičnega dela diplomske naloge.

Ivici Hočevar in Lini Burkan iz Knjižnice Oddelka za živilstvo za pomoč pri zbiranju literature in urejanju diplomske naloge.

Posebej sem hvaležna staršem, ki so mi omogočili študij. Očetu za življenjske izkušnje, moralno podporo in vlivanje samozavesti z zanimanjem za znanje, ki sem si ga nabirala med študijem. Zahvaljujem se tudi vsem ostalim domačim in sorodnikom, Mariji in Čemažarjevim za varstvo otrok, Marku in Poloni za pomoč pri oblikovanju naloge.

Največjo zahvalo pa dolgujem možu Borisu: v času zaključevanja študija mi je stal ob strani, me vzpodbujal in verjel vame. Nenazadnje tudi otrokoma Adamu in Vidu, ki sta potrpežljivo prenašala mamino odsotnost.

PRILOGE

Priloga A: Rezultati kemijske analize mladega vina rebula po alkoholni fermentaciji

parameter	enota	vrednost / koncentracija			
		B1	B2	B12	Bbrez
vrednost pH	/	3,52	3,53	3,51	3,53
kislinska PK	mmol/L/0,5 pH	13,3	14,5	14,5	12,8
bazična PK	mmol/L/0,5 pH	18,2	18,6	17,7	19,3
dejanska PK	mmol/L/pH	31,5	33,1	32,2	32,1
orientacijska PK	mmol/L/pH	40,8	40,6	40,0	40,9
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	7,23	6,96	7,14	7,63
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	7,65	7,37	7,56	8,13
reducirajoči sladkorji	g/L	1,40	0,35	0,33	4,95
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,27	0,33	0,28	0,24
pepel	g/L	2,1	2,2	2,1	2,1
prosti žveplov dioksid	mg/L	60	60	62	30
skupni žveplov dioksid	mg/L	116	124	80	114
FAN	mg N/L	9,67	11,13	14,43	8,30
prolin	mg/L	68,83	84,52	96,21	71,16
skupne fenolne spojine	mg galne kisline/L	376	350	344	354
relativna gostota	/	0,992805	0,99231	0,992105	0,99535
alkohol	vol. %	11,9	11,8	11,8	11,4
skupni ekstrakt	g/L	22,1	20,4	20,0	27,3
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	20,7	20,1	19,7	22,4
senz. ocena po Buxbaumu	točke	15,6	16,7	17,0	15,0

Legenda: PK = pufna kapaciteta, FAN (Free Amino Nitrogen) = prosti aminokislinski dušik

parameter	enota	vrednost / koncentracija			
		KL1	KL2	KO1	KO2
vrednost pH	/	3,47	3,53	3,42	3,44
kislinska PK	mmol/L/0,5 pH	14,2	14,2	14,8	13,7
bazična PK	mmol/L/0,5 pH	18,5	18,8	18,5	17,2
dejanska PK	mmol/L/pH	32,7	33,1	33,3	30,9
orientacijska PK	mmol/L/pH	40,8	41,8	42,2	38,6
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	7,02	7,38	8,10	7,09
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	7,48	7,96	8,66	7,56
reducirajoči sladkorji	g/L	0,42	0,53	1,72	0,23
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,26	0,28	0,26	0,33
pepel	g/L	1,5	1,6	1,3	1,4
prosti žveplov dioksid	mg/L	38	27	34	61
skupni žveplov dioksid	mg/L	73	73	78	114
FAN	mg N/L	9,13	13,91	6,87	7,97
prolin	mg/L	61,13	104,56	/	/
skupne fenolne spojine	mg galne kisline/L	376	270	347	382
relativna gostota	/	0,99191	0,992307	0,993473	0,99287
alkohol	vol. %	11,7	11,7	11,2	11,1
skupni ekstrakt	g/L	19,4	20,5	23,6	20,3
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	19,0	20,1	21,9	20,1

Legenda: PK = pufna kapaciteta, FAN (Free Amino Nitrogen) = prosti aminokislinski dušik

Priloga B: Vsebnosti hlapnih snovi in višjih alkoholov v vzorcih mladega vina rebula

parameter	enota	vrednost / koncentracija			
		B1	B2	B12	Bbrez
acetaldehid	mg/L	21,44	23,73	19,90	22,20
etilacetat	mg/L	44,27	62,50	56,90	62,58
metanol	mg/L	43,78	45,91	43,32	43,22
1-propanol	mg/L	13,98	19,10	18,76	15,55
izobutanol	mg/L	44,75	64,27	53,03	60,17
izoamilacetat	mg/L	0,00	4,36	5,19	0,00
izoamil alkohol	mg/L	214,79	229,36	238,49	202,48
feniletilacetat	mg/L	7,90	6,47	7,54	8,44
2-feniletanol	mg/L	25,70	22,96	25,39	17,20
hlapne snovi	mg/L	109,49	132,14	120,12	128,00
višji alkoholi	mg/L	307,12	346,52	348,40	303,84
HS + VA	mg/L	416,61	478,66	468,52	431,84

Legenda: HS = hlapne snovi, VA = višji alkoholi

Priloga C: Rezultati kemijske analize vina rebula med zorenjem

parameter	enota	vrednost / koncentracija			
		B1	B2	B12	Bbrez
vrednost pH	/	3,27	3,31	3,32	3,30
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	6,15	6,04	5,78	6,13
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	6,48	6,59	6,10	6,44
reducirajoči sladkorji	g/L	1,3	0,35	0,33	4,51
hlapne kisline	g ocetne kisline/L	0,22	0,21	0,24	0,21
pepel	g/L	1,8	1,7	1,8	1,7
prosti žveplov dioksid	mg/L	21	38	20	13
skupni žveplov dioksid	mg/L	105	113	73	110
FAN	mg N/L	10,21	12,06	16,00	9,90
prolin	mg/L	131,18	139,71	141,61	121,7
relativna gostota	/	0,992615	0,99228	0,991865	0,99535
alkohol	vol. %	11,8	11,8	11,8	11,5
skupni ekstrakt	g/L	22,7	20,6	20,4	29,5
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	21,4	20,3	19,6	25,0
terpeni: - skupni	µg/mL	0,993	2,278	2,204	1,709
- FVT	µg/mL	0,602	1,775	1,376	0,932
- PVT	µg/mL	0,391	0,503	0,828	0,777

Legenda: FAN (Free Amino Nitrogen) = prosti aminokislinski dušik, FVT = prosti hlapni terpeni, PVT = potencialni hlapni terpeni

parameter	enota	vrednost / koncentracija			
		KL1	KL2	KO1	KO2
vrednost pH	/	3,28	3,32	3,14	3,18
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	6,22	5,96	6,52	6,34
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	6,49	6,22	8,10	7,09
reducirajoči sladkorji	g/L	0,34	0,50	1,50	0,20
hlapne kisline	g ocetne kisline/L	0,24	0,33	0,35	0,39
prosti žveplov dioksid	mg/L	16	14	18	13
skupni žveplov dioksid	mg/L	64	65	71	103
FAN	mg N/L	9,2	13,3	7,4	8,5
prolin	mg/L	130,23	144,45	53,5	67,7
relativna gostota	/	0,99342	0,99202	0,993025	0,99245
alkohol	vol. %	11,7	11,7	11,1	11,1
skupni ekstrakt	g/L	23,2	20,1	21,8	19,2
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	22,9	19,6	20,3	19,0
terpeni: - skupni	µg/mL	1,589	2,241	1,374	1,569
- FVT	µg/mL	0,773	1,407	0,612	0,798
- PVT	µg/mL	0,816	0,834	0,762	0,771

Legenda: FAN (Free Amino Nitrogen) = prosti aminokislinski dušik, FVT = prosti hlapni terpeni, PVT = potencialni hlapni terpeni

Priloga D: Razmerje med prostim in skupnim žveplovim dioksidom v vinu rebula med zorenjem

parameter (enota)	vrednost / koncentracija							
	B1	B2	B12	Bbrez	KL1	KL2	KO1	KO2
skupni žveplov dioksid (mg/L)	105	113	73	110	64	65	71	103
prosti žveplov dioksid (mg/L)	21	38	20	13	16	14	18	13
razmerje prosti/skupni žveplov dioksid	0,20	0,34	0,27	0,12	0,25	0,21	0,25	0,13

Priloga E: Rezultati kemijske analize zrelega vina rebula

parameter	enota	vrednost / koncentracija			
		B1	B2	B12	Bbrez
vrednost pH	/	3,63	3,69	3,69	3,73
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	5,94	5,9	5,79	6,09
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	6,27	6,24	6,12	6,42
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,17	0,17	0,15	0,26
prosti žveplov dioksid	mg/L	13	28	27	19
relativna gostota	/	0,99285	0,99239	0,99187	0,99532
alkohol	vol. %	11,8	11,7	11,8	11,5
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	21,8	20,2	20,2	27,1

parameter	enota	vrednost / koncentracija			
		KL1	KL2	KO1	KO2
vrednost pH	/	3,68	3,64	3,19	3,46
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	6,01	5,83	6,13	6,15
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	6,19	6,18	6,43	6,42
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,17	0,20	0,18	0,16
prosti žveplov dioksid	mg/L	2	16	13	1
relativna gostota	/	0,99211	0,99224	0,99319	0,99263
alkohol	vol. %	11,6	11,5	11,1	11,0
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	19,3	19,6	20,9	18,8