

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Etjen BIZAJ

**VPLIV SESTAVE GROZDNEGA SOKA NA POTEK ALKOHOLNE  
FERMENTACIJE**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**THE INFLUENCE OF GRAPE JUICE COMPOSITION ON THE  
ALCHOCOLIC FERMENTATION COURSE**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2006

Diplomsko delo je bilo opravljeno v laboratoriju Katedre za vinarstvo na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Odbor za študijske zadeve Oddelka za živilstvo je za mentorja diplomskega dela imenoval doc. dr. Mojmirja Wondro in za recenzenta doc. dr. Marjana Simčiča.

Mentor: doc. dr. Mojmir Wondra

Recenzent: doc. dr. Marjan Simčič

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 663.252/.253:663.221(043)=863
- KG vino / grozdje / zrelost grozdja / sorta Rebula / grozdni sok / mošt / mlado vino/  
kemična sestava / spontana alkoholna fermentacija / starterske kulture / kinetika rasti  
kvasovk/
- AV BIZAJ, Etjen
- SA WONDRA, Mojmir (mentor)/ SIMČIČ, Marjan (recenzent)/
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška Fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2006
- IN VPLIV SESTAVE GROZDNEGA SOKA NA POTEK ALKOHOLNE  
FERMENTACIJE
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XV, 112 s., 1 pregl., 32 slik, 48 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AL Namen poskusa je bil ugotoviti kako kemična sestava grozdnega soka sorte Rebula vpliva na kinetiko in kakovost alkoholne fermentacije ter končnih produktov v mladem vinu. Vzorec grozdja je bil iz vinorodnega okoliša Goriška Brda (Snežatno). Po napovedi Kmetijsko-veterinarskega zavoda Nova Gorica o datumu trgatve za sorto Rebula, smo glede na ta datum polne zrelosti določili trikratno odvzem vzorca.. Prvo trgatev smo opravili en teden pred optimalnim datumom (26.09.2005), drugo 04.10.2005 na datum napovedane polne zrelosti in tretjo 10.10.2005, en teden kasneje po predvideni polni zrelosti. Grozdje je bilo predelano po klasični predelovalni tehnologiji. Mošt smo razdelili na tri enake dele, sledila je alkoholna fermentacija. V dveh poskusih je potekala vodena alkoholna fermentacija, v enem poskusu pa spontana. Alkoholne fermentacije so bile spremljane s tehtanjem mase oddanega CO<sub>2</sub>. V moštu smo analizirali: vrednost pH, reducirajoče sladkorje, titrabilne kisline, pufrno kapaciteto, prosti aminokislinski dušik, specifično gostoto, skupne fenole, fruktozo in glukozo ter organske kisline (vinska, jabolčna, citronska, jantarna, mlečna). V mladem vinu so poleg prej omenjenih parametrov bili analizirani še: hlapne kisline, skupni in sladkorja prosti ekstrakt, alkohol, absorbanco pri 420 in 600 nm, estre (izoamil-acetat, metil-laktat, etil-laktat, etil-acetat), višje alkohole (1-propanol, izobutanol, izoamilni alkohol in 2-fenil-etanol), ostale hlapne snovi (acetaldehid, metanol, diacetil in acetoin) ter saharozo in glicerol. Z analizo parametrov mladih vin in moštov in s spremljanjem kinetike alkoholne fermentacije smo ugotovili, da v primeru bolj dozorele surovine in posledično tudi boljše kemične sestave grozdnega soka je alkoholna fermentacija učinkovitejša, s tem se izboljša kemično sestavo in fizikalne parametre mladega vina.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Dn

DC UDC 663.252/.253:663.221(043)=863

CX winemaking / grapes / grape ripening /cultivar Rebula /grape juice / musts /wines /  
chemical composition / spontaneous alcoholic fermentation / starters/ fermentation kinetics  
/

AU BIZAJ, Etjen

AA WONDRA, Mojmir (supervisor)/ SIMČIČ, Marjan (co-adviser)/

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and  
Technology

PY 2006

TI THE INFLUENCE OF GRAPE JUICE COMPOSITION ON THE ALCOHOLIC  
FERMENTATION COURSE

DT Graduation thesis (University studies)

NO XV, 112 p., 1 tab., 32 fig., 48 ref.

LA sl

AL sl/en

AB The goal of the experiment was to investigate the influence of chemical composition of the grape juice (cv. Rebula) and the alcoholic fermentation kinetics on the quality of young wine. The grapes were from wine-growing district Goriška Brda, area Snežatno. On the basis of the prognose on the harvesting date of cv. Rebula, we planned a three times vintage. The first vintage date was one week before the predicted date (26.9.2005), then the second vintage was on the predicted date (04.10.2005), and the last one was one week later (10.10.2005). We used the classic winemaking procedure for white grapes. The must was divided into three parts. Two parts were fermented with active dry yeasts, the other one was fermented with the autochtones yeasts. The fermentation kinetics was followed with the weight loss caused by the evolution of CO<sub>2</sub>. Numerous physico-chemical analysis were done in grape juice and young wine: pH value, concentration of reducing sugars, titratable acidity, buffer capacity, free amino nitrogen, organic acids (tartaric, malic, citric, succinic, lactic), relative density, total phenols, fructose, glucose, saccharose and glycerol concentration, total and sugar free extract, A (420nm) and A (600nm) absorbances, alcohol, volatile acids, esters(isoamyl-acetate, methyl-lactate, ethyl-lactate, ethyl-acetate), higher alcohols (1-propanol, isobutanol, isoamyl alcohol and 2-phenyl-ethanol) and other volatile compounds (acetaldehyde, methanol, diacetyl and acetoin.) According to the physico-chemical analysis and the fermentation kinetics, we find out, that the most mature the grapes are, better is the physico-chemical composition of the grape juice. Yeasts can work better in must from more mature grapes, the quality of the fermentation is better and the wine quality and composition too.

## KAZALO VSEBINE

<b>Ključna dokumentacijska informacija (KDI)</b>	<b>III</b>
<b>Key words documentation (KWD)</b>	<b>IV</b>
<b>Kazalo preglednic</b>	<b>XI</b>
<b>Kazalo slik</b>	<b>XII</b>
<b>Kazalo prilog</b>	<b>XIV</b>
<b>Okrajšave in simboli</b>	<b>XV</b>
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
<b>1.1 NAMEN POSKUSA</b>	<b>2</b>
<b>1.2 DELOVNA HIPOTEZA</b>	<b>2</b>
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>3</b>
<b>2.1 GORIŠKA BRDA</b>	<b>3</b>
<b>2.2 REBULA</b>	<b>3</b>
<b>2.3 GROZDJE</b>	<b>5</b>
<b>2.3.1 SESTAVA IN OBLIKA GROZDA</b>	<b>5</b>
<b>2.3.1.1 Pecljevina</b>	<b>5</b>
<b>2.3.1.2 Grozdna jagoda</b>	<b>5</b>
<b>2.3.1.2.1 PEČKE</b>	<b>6</b>
<b>2.3.1.2.2 KOŽICA</b>	<b>6</b>
<b>2.3.1.2.3 JAGODNO MESO</b>	<b>7</b>
<b>2.3.1.2.3.1 SESTAVA JAGODNEGA MESA</b>	<b>7</b>
<b>2.4 MORFOLOŠKO FIZIOLOŠKE SPREMEMBE MED ZORENJEM IN DOZOREVANJEM GROZDJA</b>	<b>8</b>
<b>2.4.1 RAST IN MEHČANJE JAGOD</b>	<b>8</b>
<b>2.4.2 AKUMULACIJA SLADKORJEV</b>	<b>9</b>
<b>2.4.3 BIOKEMIJA KISLIN</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3.1 Vinska kislina</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3.2 Jabolčna kislina</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3.3 Citronska kislina</b>	<b>11</b>
<b>2.4.3.4 Mlečna kislina</b>	<b>11</b>
<b>2.4.4 MINERALNE SNOVI</b>	<b>11</b>
<b>2.4.5 MIGRACIJA DUŠIČNIH SNOVI</b>	<b>12</b>
<b>2.4.6 PEKTINSKE SNOVI</b>	<b>12</b>

<b>2.4.7 FENOLNE SPOJINE</b>	<b>12</b>
<b>2.4.8 AROMATSKE SPOJINE</b>	<b>13</b>
<b>2.4.9 LIPIDI</b>	<b>13</b>
<b>2.4.10 VITAMINI GROZDJA</b>	<b>13</b>
<b>2.5 VPLIVI NA DOZOREVANJE GROZDJA</b>	<b>13</b>
<b>2.5.1 PRIDELEK</b>	<b>13</b>
<b>2.5.2 SONČNA SVETLOBA</b>	<b>14</b>
<b>2.5.3 TEMPERATURA</b>	<b>14</b>
<b>2.5.4 VLAŽNOST IN VETROVI</b>	<b>14</b>
<b>2.6 ZRELOSTI</b>	<b>14</b>
<b>2.7 KEMIČNA SESTAVA MOŠTA IN VINA</b>	<b>15</b>
<b>2.7.1 MOŠT</b>	<b>15</b>
<b>2.7.2 VODA</b>	<b>15</b>
<b>2.7.3 OGLJIKOVI HIDRATI</b>	<b>15</b>
<b>2.7.3.1 Monosaharidi</b>	<b>16</b>
<b>2.7.3.2 Disaharidi</b>	<b>16</b>
<b>2.7.4 ORGANSKE KISLINE</b>	<b>16</b>
<b>2.7.4.1 Vinska kislina</b>	<b>17</b>
<b>2.7.4.2 Jabolčna kislina</b>	<b>17</b>
<b>2.7.4.3 Mlečna kislina</b>	<b>18</b>
<b>2.7.4.4 Citronska kislina</b>	<b>18</b>
<b>2.7.4.5 Druge kisline v moštu in vinu</b>	<b>18</b>
<b>2.7.5 FENOLNE SNOVI</b>	<b>18</b>
<b>2.7.6 DUŠIKOVE SPOJINE</b>	<b>20</b>
<b>2.7.6.1 Anorganske dušikove spojine</b>	<b>20</b>
<b>2.7.6.2 Organske dušikove spojine</b>	<b>20</b>
<b>2.7.7 MINERALNE SNOVI</b>	<b>22</b>
<b>2.7.8 PEKTINSKE SNOVI</b>	<b>22</b>
<b>2.7.9 KOLOIDNE SNOVI</b>	<b>22</b>
<b>2.7.10 AROMATIČNE SNOVI</b>	<b>23</b>
<b>2.7.11 ENCIMI</b>	<b>23</b>
<b>2.7.12 VITAMINI</b>	<b>24</b>
<b>2.8 ALKOHOLNA FERMENTACIJA</b>	<b>24</b>
<b>2.8.1 MIKROFLORA NA GROZDJU IN MOŠTU</b>	<b>24</b>
<b>2.8.1.1 Bakterije</b>	<b>25</b>
<b>2.8.1.2 Plesni</b>	<b>25</b>
<b>2.8.1.3 Kvasovke</b>	<b>26</b>
<b>2.8.2 KVASOVKE</b>	<b>27</b>
<b>2.8.2.1 Klasifikacija kvasovk</b>	<b>27</b>
<b>2.8.2.2 Morfologija in celična organizacija</b>	<b>28</b>
<b>2.8.2.3 Zimocidna aktivnost</b>	<b>28</b>
<b>2.8.2.4 Celična agregacija in adhezija</b>	<b>28</b>

<b>2.8.2.5 Razmnoževanje kvasovk</b>	<b>28</b>
<b>2.8.2.5.1 Vegetativno razmnoževanje</b>	<b>28</b>
<b>2.8.2.5.2 Spolno razmnoževanje</b>	<b>29</b>
<b>2.8.2.6 Posebnosti metabolizma saharidov</b>	<b>29</b>
<b>2.8.2.7 Vinske kvasovke</b>	<b>29</b>
<b>2.8.2.8 Izvor <i>Saccharomyces cerevisiae</i></b>	<b>30</b>
<b>2.8.2.9 Vinske kvasovke na začetku spontane fermentacije</b>	<b>31</b>
<b>2.8.2.10 Vinske kvasovke med burno fazo fermentacije</b>	<b>31</b>
<b>2.8.2.11 Vinske kvasovke na koncu fermentacije</b>	<b>32</b>
<b>2.8.2.12 Spontana ali vodena alkoholna fermentacija</b>	<b>32</b>
<b>2.8.2.13 Selekcionirane vinske kvasovke</b>	<b>32</b>
<b>2.8.2.13.1 STARTER KULTURE</b>	<b>33</b>
<b>2.8.2.14 Kinetika rasti kvasovk v zaprtem bioprocesu</b>	<b>33</b>
<b>2.8.2.15 Vpliv ekoloških faktorjev na delovanje kvasovk med alkoholno fermentacijo</b>	<b>34</b>
<b>2.8.2.15.1 OBDELAVA GROZDNEGA SOKA</b>	<b>34</b>
<b>2.8.2.15.2 OSMOTSKI STRES</b>	<b>35</b>
<b>2.8.2.15.3 DUŠIKOVE SPOJINE</b>	<b>35</b>
<b>2.8.2.15.4 ETANOL</b>	<b>35</b>
<b>2.8.2.15.5 ŽVEPLOV DIOKSID</b>	<b>36</b>
<b>2.8.2.15.6 PRISOTNOST OZIROMA ODSOTNOST KISIKA</b>	<b>36</b>
<b>2.8.2.15.7 TEMPERATURA</b>	<b>37</b>
<b>2.8.2.15.8 h</b>	<b>37</b>
<b>2.8.2.15.9 EKSOGENI INHIBITORJI</b>	<b>37</b>
<b>2.8.2.15.10 OGLJIKOV DIOKSID</b>	<b>37</b>
<b>2.8.2.15.11 VPLIV FENOLOV</b>	<b>38</b>
<b>2.8.2.15.12 DRUGI ENDOGENI INHIBITORJI</b>	<b>38</b>
<b>2.8.2.15.13 INTERAKCIJE VINSKIH KVASOVK Z OSTALIMI MIKROORGANIZMI</b>	<b>38</b>
<b>2.8.2.15.13.1 INTERAKCIJE S PLESNIMI</b>	<b>38</b>
<b>2.8.2.15.13.2 INTERAKCIJE Z BAKTERIJAMI</b>	<b>38</b>
<b>2.8.2.16 Hranilne potrebe za rast kvasovk</b>	<b>39</b>
<b>2.8.2.16.1 SLADKORJI</b>	<b>39</b>
<b>2.8.2.16.2 DUŠIKOVE SPOJINE</b>	<b>39</b>
<b>2.8.2.16.3 ŽVEPLOVE SPOJINE</b>	<b>40</b>
<b>2.8.2.16.4 MINERALNE KOMPONENTE</b>	<b>40</b>
<b>2.8.2.16.5 VITAMINI (RASTNI FAKTORJI)</b>	<b>40</b>
<b>2.8.2.16.6 LIPIDI</b>	<b>42</b>
<b>2.8.2.16.7 POLIFENOLI</b>	<b>42</b>
<b>2.8.3 PRODUKTI ALKOHOLNE FERMENTACIJE</b>	<b>43</b>
<b>2.8.3.1 Etanol</b>	<b>43</b>
<b>2.8.3.2 Metanol</b>	<b>44</b>
<b>2.8.3.3 Glicerol</b>	<b>44</b>
<b>2.8.3.4 Acetaldehid</b>	<b>44</b>

<b>2.8.3.5 Hlapne kisline</b>	<b>45</b>
<b>2.8.3.6 Višji alkoholi</b>	<b>45</b>
<b>2.8.3.7 Organske kisline</b>	<b>46</b>
<b>2.8.3.8 Estri</b>	<b>47</b>
<b>2.8.3.9 Plini</b>	<b>47</b>
<b>2.8.3.10 Komponente fermentacijske arome</b>	<b>47</b>
<b>2.9 KLASIČNA PREDELAVA BELEGA GROZDJA DO MLADEGA VINA</b>	<b>48</b>
<b>2.9.1 TRGATEV</b>	<b>49</b>
<b>2.9.2 PECLJANJE</b>	<b>49</b>
<b>2.9.3 DROZGANJE</b>	<b>49</b>
<b>2.9.4 STISKANJE DROZGE</b>	<b>50</b>
<b>2.9.5 BISTRENJE</b>	<b>50</b>
<b>2.9.6 ALKOHOLOVA FERMENTACIJA</b>	<b>50</b>
<b>3 MATERIAL IN METODE DELA</b>	<b>51</b>
<b>3.1 ZASNOVA POSKUSA</b>	<b>51</b>
<b>3.2 MATERIAL</b>	<b>52</b>
<b>3.3 METODE DELA</b>	<b>52</b>
<b>3.3.1 TRGATEV</b>	<b>52</b>
<b>3.3.2 TEHNOLOGIJA PREDELAVE GROZDJA</b>	<b>52</b>
<b>3.4 FIZIKALNE IN KEMIJSKE ANALIZE MOŠTA IN VINA</b>	<b>53</b>
<b>3.4.1 DOLOČANJE VSEBNOSTI REDUCIRAJOČIH SLADKORJEV V MOŠTU IN VINU</b>	<b>53</b>
<b>3.4.2 DOLOČANJE pH VINA</b>	<b>53</b>
<b>3.4.3 DOLOČANJE SKUPNIH (TITRABILNIH) KISLIN V VINU</b>	<b>53</b>
<b>3.4.4 DOLOČANJE (DEJANSKE) PUFERNE KAPACITETE VINA</b>	<b>54</b>
<b>3.4.5 DOLOČANJE RELATIVNE GOSTOTE MOŠTA IN VINA TER SKUPNEGA EKSTRAKTA IN ALKOHOLA V VINU</b>	<b>54</b>
<b>3.4.6 DOLOČANJE HLAJNIH KISLIN V VINU</b>	<b>55</b>
<b>3.4.7 DOLOČANJE FENOLNIH SNOVI</b>	<b>56</b>
<b>3.4.8 DOLOČANJE PROSTEGA AMINOKISLINSKEGA DUŠIKA V VINU</b>	<b>56</b>
<b>3.4.9 DOLOČANJE BARVE VINA</b>	<b>57</b>
<b>3.4.10 DOLOČANJE SLADKORJEV IN ORGANSKIH KISLIN</b>	<b>57</b>
<b>3.4.11 DOLOČANJE VIŠJIH ALKOHOLOV IN HLAJNIH SNOVI</b>	<b>58</b>
<b>3.4.12 STATISTIČNA ANALIZA</b>	<b>58</b>
<b>3.5 MERITVE MED FERMENTACIJO</b>	<b>59</b>



<b>3.5.1 MERJENJE FERMENTACIJSKE TEMPERATURE</b>	<b>59</b>
<b>3.5.2 SPREMLJANJE KONTROLNE FERMENTACIJE</b>	<b>59</b>
<b>4 REZULTATI</b>	<b>60</b>
<b>4.1 REZULTATI ANALIZE MOŠTA</b>	<b>60</b>
<b>4.2 REZULTATI ANALIZE MLADEGA VINA</b>	<b>61</b>
4.2.1 VREDNOST pH	61
4.2.2 KONCENTRACIJA TITRABILNIH KISLIN (titracija do pH=7,0)	62
4.2.3 KONCENTRACIJA TITRABILNIH KISLIN (titracija do pH=8,2)	63
4.2.4 KONCENTRACIJA HLAPNIH KISLIN	64
4.2.5 KONCENTRACIJA SKUPNEGA EKSTRAKTA BREZ REDUCIRAJOČIH SLADKORJEV	65
4.2.6 VSEBNOST ALKOHOLA	66
4.2.7 KONCENTRACIJA REDUCIRAJOČIH SLADKORJEV	67
4.2.8 KONCENTRACIJA SKUPNIH FENOLOV	68
4.2.9 DEJANSKA PUFERNA KAPACITETA	69
4.2.10 KONCENTRACIJA PROSTEGA AMINOKISLINSKEGA DUŠIKA (FAN)	70
4.2.11 ABSORBANCA PRI 420 nm (INTENZIVNOST BARVE BELEGA VINA)	71
4.2.12 ABSORBANCA PRI 600nm (MOTNOST)	71
4.2.13 REZULTATI ANALIZE KONTROLNIH FERMENTACIJ	72
4.2.13.1 Kinetika alkoholne fermentacije moštov sorte Rebula prve trgatve	72
4.2.13.2 Kinetika alkoholne fermentacije moštov sorte Rebula druge trgatve	74
4.2.13.3 Kinetika fermentacije moštov sorte Rebula tretje trgatve	76
4.2.14 REZULTATI ANALIZ HLAPNIH KOMPONENT MLADEGA VINA SORTE REBULA (GC)	78
4.2.14.1 Višji alkoholi	78
4.2.14.2 Koncentracije acetaldehida, metanola, diacetila in acetoina	79
4.2.14.3 Koncentracije estrov	80
4.2.15 REZULTATI ANALIZ KONCENTRACIJ ORGANSKIH KISLIN SLADKORJEV IN GLICEROLA V MLADIH VINIH SORTE REBULA	81
4.2.15.1 Vinska in jabolčna kislina v mladem vinu	81
4.2.15.2 Citronska, jantarna in mlečna kislina v mladem vinu	82
4.2.15.3 Koncentracija glukoze, fruktoze in saharoze ter glicerola v mladem vinu	83
<b>5 RAZPRAVA</b>	<b>85</b>
<b>5.1 RAZPRAVA O GROZDNEM SOKU SORTE REBULA</b>	<b>85</b>
<b>5.2 RAZPRAVA O MLADEM VINU SORTE REBULA</b>	<b>87</b>
5.2.1 h VREDNOST V MLADEM VINU SORTE REBULA	87
5.2.2 TITRABILNE KISLINE V MLADEM VINU SORTE REBULA	87
5.2.3 HLAPNE KISLINE V MLADEM VINU SORTE REBULA	88
5.2.4 SLADKORJA PROSTI EKSTRAKT V MLADEM VINU SORTE REBULA	88

<b>5.2.5 VSEBNOST ALKOHOLA V MLADEM VINU SORTE REBULA</b>	<b>89</b>
<b>5.2.6 REDUCIRAJOČI SLADKORJI V MLADEM VINU SORTE REBULA</b>	<b>89</b>
<b>5.2.7 SKUPNI FENOLI V MLADEM VINU SORTE REBULA</b>	<b>89</b>
<b>5.2.8 PUFRNA KAPACITETA V MLADEM VINU SORTE REBULA</b>	<b>90</b>
<b>5.2.9 INTENZIVNOST BARVE (A 420 nm) IN MOTNOST (A 600 nm) MLADEGA VINA SORTE REBULA</b>	<b>90</b>
<b>5.2.10 KONCENTRACIJA PROSTEGA AMINOKISLINSKEGA DUŠIKA MLADIH VIN SORTE REBULA</b>	<b>91</b>
<b>5.2.11 FERMENTACIJSKE KRIVULJE</b>	<b>92</b>
<b>5.2.12 VIŠJI ALKOHOLI V MLADIH VINIH SORTE REBULA</b>	<b>92</b>
<b>5.2.13 ACETALDEHID, ACETOIN, DIACETIL IN METANOL V MLADIH VINIH SORTE REBULA</b>	<b>94</b>
<b>5.2.14 ESTRI V MLADIH VINIH SORTE REBULA</b>	<b>95</b>
<b>5.2.15 ORGANSKE KISLINE V MLADIH VINIH SORTE REBULA</b>	<b>97</b>
<b>5.2.16 SLADKORJI IN GLICEROL V MLADIH VINIH SORTE REBULA</b>	<b>99</b>
<b>6 POVZETEK IN SKLEPI</b>	<b>101</b>
<b>6.1 POVZETEK</b>	<b>101</b>
<b>6.2 SKLEPI</b>	<b>103</b>
<b>7 PRILOGE</b>	<b>104</b>
<b>8 VIRI</b>	<b>109</b>

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Rezultati analiz razsluzenih grozdnih sokov sorte Rebula treh trgatev opravljenih 26.09 (prva trgatev), 04.10 (druga trgatev) in 10.10.2005 (tretja trgatev)	60
---	----

## KAZALO SLIK

Slika 1: Glikoliza z alkoholno fermentacijo (Boulton in sod., 1996)	43
Slika 2: Sinteza glicerola (Boulton in sod., 1996)	44
Slika 3: Formacija višjih alkoholov s pomočjo konverzije aminokislin (Ramp in Versini, 1996)	45
Slika 4: Klasična predelava belega grozdja do mladega vina	48
Slika 5: Shema poskusa	51
Slika 6: Vrednosti pH v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	61
Slika 7: Koncentracija titrabilnih kislin v mladih sorte Rebula vinih pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	62
Slika 8: Koncentracija titrabilnih kislin v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	63
Slika 9: Koncentracija hlapnih kislin v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	64
Slika 10: Koncentracija skupnega ekstrakta brez reducirajočih sladkorjev v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	65
Slika 11: Koncentracija alkohola v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	66
Slika 12: Koncentracija reducirajočih sladkorjev v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	67
Slika 13: Koncentracija skupnih fenolov v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	68
Slika 14: Pufna kapaciteta mladih vin sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	69
Slika 15: Koncentracija prostega aminokislinskega dušika v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	70
Slika 16: Intenzivnost barve mladih vin sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	71
Slika 17: Absorbanca pri 600nm oziroma motnost mladih vin sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	71

Slika 18: Kinetika fermentacije moštov sorte Rebula prve trgateve	72
Slika 19: Oddajanje CO <sub>2</sub> pri alkoholni fermentaciji moštov sorte Rebula prve trgateve	73
Slika 20: Temperature pri alkoholni fermentaciji moštov sorte Rebula prve trgateve	73
Slika 21: Kinetika fermentacije moštov sorte Rebula druge trgateve	74
Slika 22: Oddajanje CO <sub>2</sub> pri fermentaciji moštov sorte Rebula druge trgateve	75
Slika 23: Temperatura pri fermentaciji moštov sorte Rebula druge trgateve	75
Slika 24: Kinetika fermentacije moštov sorte Rebula tretje trgateve	76
Slika 25: Oddajanje CO <sub>2</sub> pri fermentaciji moštov sorte Rebula tretje trgateve	77
Slika 26: Temperatura pri fermentaciji moštov sorte Rebula tretje trgateve	77
Slika 27: Koncentracija višjih alkoholov v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	78
Slika 28: Koncentracija acetaldehida, metanola, diacetila in acetoina v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	79
Slika 29: Koncentracija izoamil acetata, metil-laktata, etil-laktata in etil-acetata v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	80
Slika 30: Koncentracija jabolčne in vinske kisline v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	81
Slika 31: Koncentracija citronske, jantarne in mlečne kisline v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	82
Slika 32: Koncentracija fruktoze, glukoze, saharoze in glicerola v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo	83

## KAZALO PRILOG

Priloga A1: Rezultati analize mošta sorte Rebula z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri	104
Priloga A2: Vpliv trgatve na parametre mošta sorte Rebula	104
Priloga B1: Rezultati analize vina sorte Rebula z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri	105
Priloga B2: Vpliv načina fermentacije na parametre vina sorte Rebula v odvisnosti od trgatve	106

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

E1in1- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 1. trgatve(paralelka 1)

E1in2- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 1. trgatve(paralelka 2)

E2in1- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 2. trgatve(paralelka 1)

E2in2- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 2. trgatve(paralelka 2)

E3in1- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 3. trgatve(paralelka 1)

E3in2- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 3. trgatve(paralelka 2)

E1sp= Spontana 1

E2sp= Spontana 2

E3sp= Spontana 3

Spontana 1- spontana alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 1. trgatve

Spontana 2- spontana alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 2. trgatve

Spontana 3- spontana alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 3. trgatve

Vodena 1- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 1. trgatve

Vodena 2- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 2. trgatve

Vodena 3- vodena alkoholna fermentacija s katero je bilo pridelano vino iz grozdja 3. trgatve

Prva trgatve-trgatev opravljena dne 26.09.05 v poskusnem vinogradu

Druga trgatve- trgatev opravljena dne 04.10.05 v poskusnem vinogradu

Tretja trgatve -trgatev opravljena dne 10.10.05 v poskusnem vinogradu

## 1 UVOD

Tako kot velja za vse živilske proizvode oziroma pridelke, velja tudi za vino; iz slabe surovine ni mogoče pridelati dobrega izdelka, lahko le slabšega. Surovina pri pridelavi vina je grozdje. Da je to grozdje kakovostno, mora ustrezati nekaterim pomembnim zahtevam. Če se osredotočimo na kakovost je jasno, da je najpomembnejša zadeva njegova kemična sestava. Kemična sestava grozdja, oziroma grozdnega soka pogojuje prav vse korake pri predelavi grozdnega soka v vino.

Glavni vzrok, da iz mošta nastane vino je alkoholna fermentacija. »Krivci« za potek le-te so vinske kvasovke. Če kvasovke obravnavamo kot kader, ki ga zaposlimo v našem podjetju sta pomembni predvsem dve stvari; kader mora biti kvalificiran, selekcioniran in če se da, mora biti boljši od vse ostale konkurence. Da kader vrhunsko opravlja svoje delo, mora imeti zagotovljene optimalne pogoje. Prav te optimalne pogoje, ki spodbujajo njihovo vrhunsko delovanje, moramo preslikati v optimalno kemično sestavo grozdnega soka. Torej če imamo vrhunski kader, optimalne pogoje za njegovo delovanje in dobro zastavljen cilj, na podlagi katerega morata biti tudi prejšnji dve zahtevi izbrani (tip vina, ki ga hočemo pridelati), smo za razvoj vrhunske kakovosti našega vina nedvomno zmagali. Danes, kar se dobrih selekcioniranih kvasovk tiče ni več noben problem. Na izbiro imamo široko paletu različnih sevov kvasovk s specifičnimi lastnostmi in tendencami. Če slabo izbiramo se tudi tu lahko zalomi, vendar je verjetnost, da tu zgrešimo majhna. Največji problem je ustvariti pogoje, v katerih bodo kvasovke speljale najbolj optimalno fermentacijo. Problem je, ker ni vse odvisno od tehnologa, ampak je vino eden izmed redkih pridelkov, pri katerem je odločujoč letnik. Seveda se lahko odločimo za nekatere tehnološke ukrepe, s katerimi bomo zmanjšali vpliv slabega letnika, vendar je najbolj pomembno odločiti se in zaznati kdaj je tisti čas, pri katerem je najbolj odločujoča sestava grozdnega soka optimalna. Ni dvoma, da morata biti nato izpeljani optimalna strojna predelava in zorenje vina, ki sta zelo kritična koraka. Vendar je za optimalen potek alkoholne fermentacije in sinteze pomembnih snovi, ki bodo krojile vrhunskost bodočega izdelka, esencialen prav najzgodnejši korak, oziroma sestava grozdnega soka.

Zaradi pomembnosti dejavnika smo se odločili, da bomo opravili raziskovalno delo prav na tem področju tehnologije vina. Osnovno vprašanje je, kako posamezne sestavine grozdnega soka vplivajo na delovanje kvasovk in kakšno naj bi bilo njihovo optimalno razmerje in koncentracija za čim bolj optimalen potek alkoholne fermentacije, optimalno kemično sestavo mladega vina in posledično vrhunsko kakovost bodočega vina.

Sorta Rebula je brez kakršnegakoli dvoma prva sorta Goriških Brd. Kljub temu, da je vsem znano, da ni avtohtona, je ta sorta gojena največ v Brdih, v Sloveniji, kjer predstavlja okoli 25% vseh posajenih površin. Pridelujejo jo tudi po drugih okoliših vinorodne dežele Primorska, vendar ima manjši vsesplošni pomen. Poleg slovenskih Brd jo pridelujejo tudi pridelovalci iz italijanske strani, vendar jo v znatno manjših količinah. Z vstopom v evropsko zvezo so se trgi močno liberalizirali. Sorte kot so Chardonnay, Sauvignon,... pridelujejo po celem svetu v znatno večjih količinah in po nižjih cenah. Zato bomo v tekmi z njimi gladko izgubili. Naše posebnosti in hkrati pomembne tržne niše, katere še zdaleč ne izkoriščamo dovolj, nima nihče drug. Kljub temu, da so količine vina, ki jih lahko pridelamo majhne, bi na dolgi rok s pravim pristopom, ki naj bi temeljil na elitizmu, z vrhunsko kakovostjo skoraj zagotovo uspeli.



Če bo naša raziskovalna naloga pripomogla vsaj v taki meri, kot kapljica v oceanu, bomo zadovoljni, kajti za vrhunske rezultate je potrebno posvetiti veliko pozornosti vsakemu milimetru dolge poti.

## **1.1 NAMEN POSKUSA**

Namen poskusa je bil ugotoviti, kako kemična sestava grozdnega soka sorte Rebula vpliva na kinetiko in kakovost alkoholne fermentacije ter končnih produktov v mladem vinu. S pravilno izbiro časa trgatve smo hoteli doseči optimalno kemijsko sestavo grozdnega soka, ter hiter začetek in enakomeren potek alkoholne fermentacije. S tem smo hoteli doseči optimalno kemijsko sestavo in kakovost mladega vina.

## **1.2 DELOVNA HIPOTEZA**

Ničelni hipotezi našega poskusa sta:

- kemijsko-fizikalni parametri vina so boljši pri vinih pridobljenih z vodeno alkoholno fermentacijo;
- grozdni sok, ki je bil pridobljen iz grozdja z večjo stopnjo zrelosti ima primernejšo kemično sestavo.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 GORIŠKA BRDA

Vinorodna dežela Primorska, ki meji z Italijo, obsega poleg koprškega s slovensko Istro ter kraškega in vipavskega tudi okoliš Goriška Brda (Prinčič, 2002). V preteklih časih so se, tako kot tudi danes, ljudje na področju Goriških Brd ukvarjali z različnimi stvarmi, a le delo z zemljo jim je zagotavljalo osnovno hrano za preživetje. V starih zapiskih so dokumenti, ki potrjujejo, da je bilo vinogradništvo na tem področju razširjeno že v 12. stoletju (Batič, 2005).

Goriška Brda merijo komaj 140 km<sup>2</sup>. Ob Soči na vzhodu se začenjajo s hribom Sabotin (609 m), nadaljujejo pa po slemenu do Korade (812 m nadmorske višine). Od Furlanije jih na zahodu ločuje reka Idrija. Proti jugu se gričevnat svet znižuje in prehaja v Prevalsko ravan pod Vipolžami in Mošo na nadmorski višini 80 m (Peršolja, 2003). V Goriških Brdih prevladuje nizek gričevnat svet, ki v severnih Brdih preide v višje griče in holme. Griči se v Goriških Brdih dvigajo na nadmorsko višino 160-300 m (Prinčič, 2002).

Briška tla so nastala iz oceanske sedimentacijske mase. Ob odtekanju morja so ostale plasti fliša, peščenjaka in apnenca. Tla so plitka, poglobljajo se le ob rigolanju. Po založenosti s humusom, rudninskimi snovmi in ostalimi hranili so zelo siromašna. V začetku so tla bogata z apnencem, pod vplivom sonca in dežja se opoka razkrajaja, apnenec se izpira in prehaja z rahle bazičnosti v nevtralnost. To so prava vinogradniška tla. Ponekod so tako revna, da na njih ne raste niti trava. Poraščena so le s skromnimi hrasti, gabri in jeseni. Spreminjajo se s kmetovanjem soncem in dežjem (Peršolja, 2003).

Podnebje je za vinsko trto zelo ugodno. Zime so mile, poletja so vroča, toda ne presuha. Brda so močno pod vplivom mediteranskega podnebja, ki pripomore k specifičnosti briških vin. Posamezne dolinice v zelo prisojnih legah ostanejo zelene čez celo leto. Padavin pade na leto še enkrat več kot v tipičnem mediteranskem predelu, niso pa enakomerno porazdeljene čez celo leto. Redko zapade sneg, temperatura težko pade pod 0 °C, občutek mraza pa daje burja, ki v zadnjih letih ni več tako značilna (Peršolja, 2003).

Naravne danosti, predvsem nagib, relief in vremenske razmere, pogojujejo način ureditve vinograda. Na strmih legah in na območjih s pogostimi nalivi, je ureditev teras edini možni način ureditve vinograda (Prinčič, 2002).

### 2.2 REBULA

Trsni izbor zajema priporočene in dovoljene vinske sorte po vinorodnih deželah in okoliših. Za Goriška Brda je navedeno naslednje:

-Priporočene sorte: Rebula, Zeleni sauvignon (Furlanski tokaj), Beli pinot, Sauvignon, Malvazija, Sivi pinot, Chardonnay, Merlot, Cabernet sauvignon;

-Dovoljene sorte: Prosecco, Refošk, Cabernet franc, Modri pinot.

Rebula je najpomembnejša stara udomačena primorska sorta. Kot skromna in trdoživa je preživela vse mogoče težave in se ohranila zanimiva vse do danes. (Peršolja, 2003).

Na IV. Avstrijskem vinarskem kongresu v Gorici leta 1891 je Ivan Bole, tedanji direktor Kemijskega preskuševališča v Gorici v svojem referatu o Rebuli med drugim zapisal, cit.: »Rebula je domača sorta z belim grozdom, ki je znana že iz časov Rimljanov z imenom Evola. Obstajajo različni tipi Rebule, in sicer: zelena Rebula, rumena Rebula in Garganja ter tako imenovana Glera, ki jo pogosto pomešamo med Rebulo«.

V Goriških Brdih je bilo leta 1998 v vaseh Višnjevik, Gradno in Krasno ustanovljeno društvo ljubiteljev Rebule. Trdijo, da je vas Višnjevik »Rojstni kraj Rebule«. Trditev postavlja na osnovo zgodovinskega dokumenta. V neposredni bližini je stala utrdba Rittersberg (viteški hrib), ki je bila najstarejša graščina v Brdih. V kupoprodajni pogodbi iz leta 1336, natančneje 27. maj 1336 je napisano, da je Henrik iz Rittersberga kupil vinograd, na katerem se je vsako leto pridelalo šest »veder« Rebule. Društvo je podatke dobilo iz virov Jadranski almanah 1923, gradivo dr. Franca Kosa pod naslovom, Goriška Brda v srednjem veku, ter iz Dunajskih virov cod. R8F70 (Prinčič, 2002).

Po Cosmu, ki se sklicuje na Dalmasa, izhaja Rebula iz italijanske pokrajine julijske krajine. V Furlanijo naj bi jo prinesli Rimljani in tako naj bi se razširila še v Brda in Vipavsko dolino. Omenjena naj bi bila že v 12. stoletju kot Ribolla del Collio. Nemški pesniki in kronisti 14. stoletja so jo cenili in imenovali Rainfald (Prinčič, 2002).

Opis sorte Rebula:

-Sinonimi: rumena Rebula, zelena Rebula, garganja, Ribolla Gialla, Ribolla Bianca, (Peršolja, 2003), Carganega di Gambelara, Rebula žuta, Ribolla blanc, Rebuele, Rebola, Ribollat, Raibola, Ribuole (Prinčič, 2002).

-Spada v zahodnoevropsko skupino sort *Prolles occidentalis*. Njena domovina je Italija (Verona, Vicenza), kjer jo zgodovinarji omenjajo že od 14. stoletja naprej, pri nas jo štejemo med udomačene sorte.

Razširjena je po sosednji Italiji in sicer v severnih vinorodnih območjih ter na južnem tirolskem. Pri nas je razširjena po vipavskem in v Goriških Brdih. Pojavlja se v treh različnih oblikah: rumena, zelena in rumena z debelejšimi jagodami (Peršolja, 2003). Vertovec omenja šest različnih tipov: -zelenika, -Rebula z večjimi grozdi, ki obilno rodi, -Rebula z majhnimi in sladkimi grozdi, -Rebula na pol oprhljivka, ki ima na grozdu dva do šest debelih jagod, ostale pa so drobne, -Rebula oprhljivka, ki ima na grozdu eno do tri debele jagode, -nora Rebula, ki sploh ne rodi, -Rebula z majhnim narezanim listjem, ki daje pridelek srednje kakovosti (Prinčič, 2002).

Botanični opis:

-Vršiček mladike je svetlo zelen in nekoliko obrasel, pri obodu je belkast in tudi povit.

-Jagoda je srednje debela, okroglasta, rumenkasta in pokrita z obilnim oprhom. Jagodni popek je izražen, kožica pa debela.

-Grozd je podolgovat, srednje velik, valjaste oblike in dokaj nabit. Grozdni pecelj je kratek.

-List je srednje velik, cel ali tridelen, s plitkimi gornjimi stranskimi sinusi. List je s spodnje in zgornje strani svetlo zelen in gol. Listni pecelj je kratek do srednje dolg zelen ali vijoličast.

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

Agrobiotične značilnosti:

Rebula je srednje bujna in srednje pozna. Grozd je teže od 140 do 160g. Rodi obilno in redno. Na oidij je bolj odporna, na peronosporo manj. Na pozebo je dokaj odporna.

Tehnologija pridelave grozdja:

Zahteva dolgo rez. Bolje uspeva na višje ležečih položajih, glede zemlje ni zahtevna, vendar ji ustrezajo bolj rahla tla.

Gospodarska vrednost sorte:

Glede vsebnosti sladkorja v moštu, dosega povprečno 75 °Oe. Najbolj uspeva na dvo ali enošparonskih gojitvenih oblikah zaradi slabe bujnosti. Ne smemo je premočno obremeniti. Rodnost je lahko med leti neenakomerna zaradi osipanja, ki ga povzroči slabo vreme v času cvetenja. Gnojenje je odvisno od rastišča, potrebuje več K in Mg. Preveč N pospešuje gnitje. Debela jagodna kožica omogoča, da ostane grozdje več časa na trti (Peršolja, 2003).

Predelava grozdja v vino:

Na sončnih legah in dobro propustnih tleh, se lahko pridela po klasični predelavi sveže, običajno suho vino, z višjo kislino in nižjim alkoholom, z značilnim okusom in vonjem po sadju. Zaradi zahtev današnjih pivcev, se tudi na Rebuli vedno bolj uporabljajo novejši tehnološki postopki predelave, z namenom izboljšanja tako fizikalno-kemijskih, kot tudi senzoričnih lastnosti (Batič, 2005).

## **2.3 GROZDJE**

### **2.3.1. SESTAVA IN OBLIKA GROZDA**

Grozd je sestavljen iz dveh povsem različnih delov. Sestavljen je iz pecljevine, ki sestavlja »skelet« grozda ter iz grozdnih jagod, ki predstavljajo sadež.

#### **2.3.1.1 Pecljevina**

Pecelj izrašča iz nodija mladike, pecljevina pa se iz vretena le-tega razrašča v krajše peclje, ki nosijo jagode. Med vegetacijo je pecelj zelen, po njem se pretakajo hranilne snovi, in sicer v vodi raztopljene anorganske mineralne snovi preko koreninskega sistema in organske, ki nastanejo z asimilacijo v zelenih delih vinske trte, zlasti v listju. V fazi polne zrelosti pecelj dobi svojo končno obliko in oleseni. Takrat se močno zmanjša ali popolnoma preneha dotok hranilnih snovi iz trsa v jagode.

Če utrgamo jagodo opazimo na jagodnem peclju čop, ki ga sestavlja skupina prevodnih žil, preko katerih jagoda sprejema asimilate in anorganske snovi. Te žile se v jagodi razporedijo v tri skupine: -v osrednje, ki gredo skozi jagodo do nasprotnega pola, -v žile, ki tečejo po zunanem delu jagode in se razvijejo v mrežo ter na popku srečajo z osrednjimi žilami, -ter s skupino žil, ki vodijo v jagodne pečke. Delež pecljev je odvisen od posamezne sorte, stopnje dozorelosti in zdravstvenega stanja grozdja. Ko so jagode še nerazvite, je delež pecljevine sorazmerno velik in znaša do 16 %. Z rastjo jagode se spreminja delež pecljev v grozdju, tako da v polni zrelosti pride na peclje od 2 do 7 % skupne mase grozda. Manjše kot ima sorta jagode, večji delež pripada pecljevini. Na delež pecljevine seveda vplivajo tudi zbitost jagod in osipanje med cvetenjem (Šikovec, 1993).

Pecljevina ima kemično analogno sestavo kot listje. Zelo revna je s sladkorji, njihova vsebnost ne preseže 10 g/kg. Koncentracija prostih kislin je manjša v primerjavi s salificiranimi, skoraj polovica jih je s kalijevimi solmi. 5-6 % suhe snovi predstavljajo mineralne sestavine (pepel). pH pecljevine je visok, saj presega pH 4. Pecljevina je zelo bogata na fenolnih snoveh (Ribéreau-Gayon, 1971). Povprečna sestava fenolnih snovi v pecljevini je naslednja, od 20% skupnih fenolnih snovi je: -15 % taninskih snovi, -26 % levkoantocianov, -25 % katehinov, -16 % galne kisline -in 9 % kavne kisline (Šikovec, 1993). Vsebuje tudi veliko vode, ki lahko zmanjša vsebnost alkohola do 0,7 vol.% (Wondra, 2004).

#### **2.3.1.2 Grozdna jagoda**

Je sestavljena iz jagodne kožice, jagodnega mesa in pečk. Grozdne jagode predstavljajo 95-96 % celotne mase grozda (Batič, 2005). Masa jagod se med vegetacijo povečuje in doseže svoj maksimum v fazi polne zrelosti, ko predstavlja prej omenjen delež grozdne mase. V fazi prezrelosti se to razmerje zmanjša na škodo grozdne jagode, zaradi prekinjenega dotoka snovi skozi olesenele peclje in transpiracije vode skozi pore jagodne kožice. Do sprememb lahko pride tudi zaradi ekoloških dejavnikov (Wondra, 2004).

### 2.3.1.2.1 PEČKE

Predstavljajo 3-5 % mase grozdne jagode. Kemična sestava pečk je naslednja: -voda (25-45 %), -ogljikovi hidrati (34-36 %), -olja (13-20 %), -polifenoli (4-6 %), -dušikove spojine (4-6,5 %), -mineralne snovi (2-4 %) – in maščobne kisline (1 %). Fenoli pečk predstavljajo 20-55 % fenolov cele jagode (pomembno pri vinifikaciji rdečih sort), njihova koncentracija se z zorenjem zmanjšuje, medtem ko se stopnja polimerizacije veča. Olje, ki se nahaja v notranjosti je ob morebitni poškodbi pečke za vino škodljivo, sestavljeno je predvsem iz oleinske in linolne kisline. Ko pečka doseže fiziološko zrelost prične izgubljati dušične snovi, ki prehajajo v jagodno meso. V meso lahko odda 1/5 dušičnih snovi, vendar kljub temu vsebuje 3-4 krat večje vrednosti dušičnih snovi, kot ostali trdi deli grozda (Ribéreau-Gayon, 1971). Grozdna jagoda vsebuje 4 ali manj pečk. Tudi jagode brez semena dozoriijo, vendar so manjše. (Salati, 1990). Število pečk v jagodah vpliva na: -sladkorno stopnjo, ki je večja z manjšim številom semen, -na kislost, ki je večja z večjim številom semen – in vsebnost dušičnih snovi je tudi večja z manjšim številom semen. Pečke se pri predelavi ne smejo poškodovati (Ribéreau-Gayon, 1971).

### 2.3.1.2.2 KOŽICA

Jagodo varuje pred zunanjimi vplivi in je sestavljena iz enojne epidermalne plasti ter 6-10 plastnega, celičnega tkiva, ki je pod epidermisom. Debelina epidermisa je odvisna od sorte in vrste vinske trte. V povprečju predstavlja od 2 do 24 % celotne mase jagode. Kožica ima zelo prožne celice. Velik odstotek kožic in majhen dobit mošta imajo sorte z debelo kožico (Rebula, Sivi pinot...) (Šikovec, 1993). V kožici se nahajajo pomembne snovi : -pigmenti, ki so lahko rumeni (flavoni), ali rdeči (antociani). Pojavljati se začnejo v začetku dozorevanja, ko začenjajo izginjati klorofili, ksantofili in karotenoidi, ki jih je veliko v nedozorelih jagodah. Največ jih je prisotnih v 3. in 4. plasti celic pod epidermisom, v polni zrelosti. Nekatere sorte imajo obarvano tudi jagodno meso. Rumeni pigmenti se vedno nahajajo tudi v mesu. Najpogostejši flavonski konstituent je izokvercetrozid, ki je glukozid kvercetina. Rdeča barvila v evropski trti so monoglukozidi cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina pelargonina in malvidina. Koncentracija barvnih snovi varira od 100-1600 mg/L in je odvisna od letnika, stopnje dozorelosti, podnebja in količine pridelka (Ribéreau-Gayon, 1971).

–Aromatične snovi: Kožica vsebuje v njeni 3. in 4. plasti tudi primarne aromatične snovi; izoprene in norizoprene, ki so vezani na sladkorje in dosežejo njihov vrh koncentracije tik pred polno zrelostjo. Bogata je tudi na fenolnih. Koncentracija aromatskih snovi je odvisna od zdravstvenega stanja, klime in stopnje zrelosti. pH je večji v kožici kot v jagodnem mesu (Ribéreau-Gayon, 1971). Jagodna kožica je zelo bogata z encimi, vsebuje jih 6,2-krat več kot sok grozdne jagode. Poleg invertaze in pektolitičnih encimov, vsebuje še veliko oksidacijskih encimov. Zaradi tega je treba poskrbeti, da kožica med predelavo in pred predelavo ni poškodovana (Šikovec, 1993).

Kožica vsebuje še 78-80 % vode, organske kisline, mineralne in dušične snovi ter celulozo (Batič, 2005). Kožica ima čez povrhnjico še en sloj, to je oprh, ki omogoča, da se jagoda ne zmoči in ji daje zaščito pred drugimi zunanjimi vplivi. Pomaga zadrževati tudi kvasovke in ostale mikroorganizme na površini (Šikovec, 1993).

### 2.3.1.2.3 JAGODNO MESO

V dozoreli jagodi predstavlja jagodno meso 75-85 utežnih odstotkov. Sestavljeno je iz 11-15 plasti celic z zelo tankimi celulozno-pektinskimi mrenicami, katerih notranjost je izpolnjena z grozdnim sokom. Med celicami so medcelični prostori, ki služijo za izmenjavo plinov z zunanjim okoljem (Garaoglio, 1981). Notranji del mesa (endokarb), ki leži okoli pečk je sestavljen iz majhnih celic in predstavlja neznatni trdni del mesa. Ostali del (mezokarb) ima velike celice. V jagodnem mesu razlikujemo tri cone, ki se razlikujejo po strukturi in sestavi: - notranja cona ob pečkah, -zunanja cona pod jagodno kožico – in srednja cona (Šikovec, 1993).

#### 2.3.1.2.3.1 SESTAVA JAGODNEGA MESA

##### -Sladkorji

Koncentracija sladkorja niha v zrelem grozdu od 150 do 300 g/L. Sladkor grozda sestavljata povečini glukoza in fruktoza. Razmerje med tema dvema je v povprečju 0,92. Ko so sadeži še nezreli vsebujejo tudi škrob (Ribéreau-Gayon, 1971). Poleg heksoz je v sledovih še nekaj saharoze (1-3 g/L) in pentoz; arabinoza, ksiloza, ramnoza (0,3-1g/L). Srednja cona je najbogatejša s sladkorji. V prezrelih plodovih se pojaviravno nasprotno, najbogatejša je zunanja cona. Značilno je tudi, da jagode bliže grozdnemu peclju oziroma mladiki imajo večjo sladkorno stopnjo, kot bolj oddaljene (Ribéreau-Gayon, 1971).

##### - Kisline

Kislost mošta je tudi zelo pomemben podatek. Varira lahko glede na klimo, letnik in stopnjo zrelosti, od 4,5-13,5 g/L titrabilnih kislin. Kislost grozdnega soka povzročajo predvsem vinska, jabolčna in citronska kislina, ostale (askorbinska, ketoglutarina, fumarna, galakturonska, glukuronska, oksalna, oksal-očetna, ...), pa le v manjšem obsegu. Glavne tri kisline se nahajajo v vseh organih rastline v obliki prostih kislin ali soli (Ribéreau-Gayon, 1971). Anorganske kisline (fosforjeva, solna in žveplova), so prisotne v majhnih koncentracijah in skoraj vse v obliki nevtralnih soli, ki sestavljajo pepel. V jagodnem mesu je koncentracija vinske kisline največja v srednji coni, koncentracija jabolčne kisline se povečuje proti notranji in obe se zmanjšujeta proti zunanji coni. Ko je jagoda še nezrela je ravno obratno. Citronska kislina je fiksirana na celičnih stenah in je težje ekstrahibilna. Razmerja med kislinami so odvisna predvsem od zrelosti jagod (Šikovec, 1993). Kislost se poveča z večanjem števila semen v jagodi. Predvsem koncentracija vinske kisline pada z večanjem števila semen, z jabolčno kislino je ravno obratno. Koncentracija citronske kisline se povečuje z večanjem števila semen (Ribéreau-Gayon, 1971).

##### - Mineralne snovi

Mineralne snovi, ki jih najdemo v jagodnem mesu so enake tistim, ki jih najdemo v drugih delih rastline. Kalijeve soli predstavljajo več kot 50 % mineralnih snovi, drugi po koncentraciji je kalcij, tretji pa magnezij. V večjih koncentracijah se nahajajo še natrij in železo. Anione predstavlja največ fosforjevih, žveplovih, kremenčevih in klorovih soli. V sledovih so prisotni še naslednji elementi: fluor, silicij, jod, brom, bor, kositer, mangan, kobalt, svinec, nikelj in molibden. Mineralne snovi vplivajo na okus, barvo in cvetico (Šikovec, 1993).

#### - Dušikove snovi

Dušika je v jagodnem mesu le četrtina ali petina vsega, kar ga je prisotnega v jagodi. Dušik je povečini organski v obliki beljakovin, polipeptidov, aminokislin in aminov. Manj vsebuje anorganskega dušika v obliki amoniaka, ki je najbolj pomemben za povečanje celične mase kvasovk. Anorganski dušik je prisoten v relativno velikih koncentracijah, vendar ga ponavadi ni dovolj, da bi omogočil hiter začetek fermentacije. Proteinski dušik, ki izhaja iz citoplazme celic jagodnega mesa je v nekaterih sortah prisoten v takšni koncentraciji, da takoj po stiskanju mošta začne precipitirati s prisotnimi fenolnimi snovmi (Ribéreau-Gayon, 1971). V jagodnem mesu je prisotnih predvsem naslednjih šest aminokislin: arginin, alanin, treonin in serin ter glutaminska in aspariginska kislina, te lahko izkoriščajo kvasovke kot dušik za rast (Košmerl, 2004). Prisotne so še glikokol, lizin, histidin, izolevcin, valin, fenilalanin, aspartat, metionin in triptofan ter prolin. Sorte, ki imajo večje koncentracije kisline in v letih, ko je grozdje bolj bogato s kislinami, je koncentracija dušika v grozdju večja, ker je sinteza aminokislin povezana s Krebsovim ciklom sinteze organskih kislin (Ribéreau-Gayon, 1971).

#### - Pektinske snovi

Pektinske snovi kostituirajo intracelularni cement v celulozno-pektični membrani, ki je sestavljen iz pektina gum in pentozanov. Poligalakturonsko kislino, ki je esterificirana z metilnim alkoholom, delimo na dve vrsti; topni pektin, ki je v tekočem delu in na protopektin, ki je netopen in se nahaja fiksiran na trdih delih grozdja. Gume so anhidridi polimeriziranih sladkorjev, največkrat so to arabani in galaktani ter manani. Od skupne koncentracije pektinskih snovi (0,23-6,99 g/L), odpade na meso le od 8-15 % vseh.

## **2.4 MORFOLOŠKO FIZIOLOŠKE SPREMEMBE MED ZORENJE IN DOZOREVANJEM GROZDJJA**

Zorenje grozdja je ena od fenofaz v obdobju vegetacije vinske trte. Pri vinski trti, ki je večletna rastlina, ločimo veliki ciklus razvoja (od začetka do konca življenja) in mali ali letni biološki razvojni ciklus. Le-ta se v zmernem pasu sestoji iz dveh obdobj; obdobje aktivnega življenja ali vegetacije in na obdobje mirovanja. Obdobje vegetacije je razdeljeno na šest fenofaz. To so solzenje, brstenje, cvetenje in oploditev, razvoj jagod, zorenje grozdja in priprave na zimsko mirovanje (Taks, 2000).

### **2.4.1 RAST IN MEHČANJE JAGOD**

Po končanem cvetenju in uspešni oploditvi, začne plodnica (prihodnja jagoda) hitro rasti in se debeliti. Na velikost jagode poleg sortne odvisnosti, vpliva še količina dežja v času rasti zelene jagode. Na maso in velikost lahko vpliva tudi napad *Botrytis cinerea* ter obremenjenost trte. Pomembna je tudi stopnja zrelosti, saj maksimalno težo doseže tik pred polno zrelostjo, nato se zaradi izhlapevanja vode masa in volumen zmanjšata. Vsebnost fitohormonov (rastnih regulatorjev) avksina, citokinina in giberelina, ki spodbujajo rast in delitev celic se med to fazo v jagodah povečuje. V fazi, ko je jagoda trda in še zelena ter v njej poteka še intenzivno dihanje se nabira veliko kislin, koncentracija sladkorjev pa se ne spreminja. Intenziteta dihanja cele jagode raste z višjo temperaturo, do jabolčne kisline se oksidirajo predvsem sladkorji, saj prav dihanje, ki je povezano z asimilacijo je pomembno, da pride do sinteze kislin. Ko pride do začetka mehčanja jagod ter že rahle spremembe barve je vsebnost kislin v jagodi največja. Zaradi takratnega začetka delovanja inhibitorja abscizinske kisline, se koncentracija giberelina in citokinina zmanjšuje. Pride do manjšanja kislosti in povečanja koncentracije sladkorjev. Zmanjševati se začne tudi koncentracija avksina in s tem pride do

prenehanja rasti in delitve celic mesa in kože. Od tu dalje rastejo le še pečke. Med širjenjem celic jagodne kožice, postaja ta vse tanjša in bolj prozorna. Pod vplivom poligalakturonaze in pektin metil esteraze, prehajajo pektini iz netopne oblike (protopektin), v topne pektine. Jagoda postaja mehkejša. Kopičijo se sladkorji zaradi asimilacije zelenih listov, predvsem mladih. Rast jagode je v glavnem zaključena, zato se zmanjša potreba po energiji, ki jo je jagoda dobivala z oksidacijo sladkorjev. Koncentracija organskih kislin se zmanjša, ker ne nastajajo več kot vmesni produkt oksidacije sladkorjev (Zadnik, 1997).

## 2.4.2 AKUMULACIJA SLADKORJEV

Sadeži so organ za akumulacijo sladkorjev. Že od cvetenja dalje, se v novo jagodo kontinuirano nalagajo sladkorji. Skladiščenje sladkorja se ne prične šele, ko se začne zorenje, vendar je zelo težko razumeti zakaj se skok iz približno 1 %, (ki ga vsebuje zelena jagoda) na 20% zgodi prav takrat. Sladkorji predvsem v obliki glukoze in fruktoze, pa tudi v sledovih saharoze in nekaterih pentoz se akumulirajo na dva načina; iz lesnega dela rastline in z asimilacijo zelenih listov (Ribéreau-Gayon, 1971). Ogljikovi hidrati so v večji meri sintetizirani s svetlobno reakcijo fotosinteze. Fotosinteza oskrbi, za sintezo sladkorjev potrebno energijo v obliki ATP molekul. Mesto sinteze rastlin so kloroplasti, ki so praviloma lečasto oblikovani in vsebujejo klorofile, predvsem A in B ter karotenoide. Sintetska sposobnost rastlin je velika, in sicer 1 g sladkorja na m<sup>2</sup> popolnoma osvetljene listne površine na uro.



Dokler je jagoda še zelena je sama sebi dovolj, da proizvaja s pomočjo asimilacije sladkorje, ki jih potrebuje. Ko se jagoda omešča in klorofil razpade, se iz olesenelih delov (42 %), iz mladik (31 %), iz listov (23 %) in (4 %) iz pecljevine, mobilizirajo škrobne rezerve ter omogočijo hiter in visok porast sladkorja (samo z asimilacijo to ne bi bilo mogoče). Po tem skoku se začne sladkor akumulirati s pomočjo fotosinteze. V listih se zaradi fotosinteze akumulirajo glukoza in fruktoza, ki takoj odpotujejo proti jagodi in drugim organom, medtem ko akumulirana saharoza počaka cel dan v listu, ponoči pa se pretvori v invertni sladkor in odpotuje proti jagodi. Koncentracija asimilatov je odvisna od količine sončnih žarkov. V listih in drugih organih je tudi skladišče škroba. V fazi prezrelosti je porast sladkorjev posledica izhlapevanja vode (Ribéreau-Gayon, 1971).

### -Razmerje glukoza/fruktoza

Ve se, da ima zelena jagoda okoli 10-15 g/L reduciraločih sladkorjev, ki so predvsem iz glukoze (85 %). Ko se v začetku zorenja začne mehčanje jagode in se akumulacija sladkorjev, se začne koncentracija fruktoze večati in razmerje G/F se hitro zmanjša. Z zorenjem to razmerje konstantno pada. Ko grozdje dozori se opazi, da vsebuje vedno rahlo več fruktoze, v povprečju je za vse sorte G/F=0,95. Večja koncentracija fruktoze je predvsem posledica tega, da rastlina lažje pri dihanju uporablja glukozo (Ribéreau-Gayon, 1971).

### - Vplivi na koncentracijo sladkorja

Manjša količina pridelka na trs omogoča večje sladkorne stopnje. Večje sladkorne stopnje omogoči tudi večje število sončnih ur, ki obsevajo listje. Osvetljeno grozdje ima večje sladkorne stopnje zaradi izhlapevanja vode. Večje temperature pozitivno vplivajo na kopičenje sladkorja, temperature nad 35 °C pa ne, ker pride do prekinitve fotosinteze. Vlaga



ima minimalen vpliv na sladkorno stopnjo, vendar jo lahko zmanjša ali poveča (Zadnik, 1997).

### 2.4.3 BIOKEMIJA KISLIN

Organske kisline grozdja so produkt nepopolne oksidacije sladkorja. Pomembne so v procesu dihanja celic, kjer nastopajo kot intermediarni proizvodi izmenjave snovi v splošnem metabolizmu rastlinske celice. Proces popolne oksidacije sladkorjev poteka v dveh stopnjah. Prva poteka v listih vinske trte in v zelenih jagodah ter predstavlja nastanek organskih kislin iz sladkorja. Druga stopnja pa zajema oksidacijo organskih kislin v  $H_2O$  in  $CO_2$ , poteka samo v grozdnih jagodah v fazi dozorevanja. Na drugi stopnji služijo kisline kot energijski material. Obe stopnji predstavljata proces, ki obsega nastanek skoraj vseh kislin grozdja. Ta proces je Krebsov cikel (Blaškovič, 1978).

#### 2.4.3.1 Vinska kislina

Med razvojem in dozorevanjem jagod prehaja prvotno prosta vinska kislina z dotokom v vodi raztopljenih alkalij iz tal preko koreninskega sistema v grozno jagodo že v obliki njenih soli. To so primarni kalijev-hidrogen-tartrat (kisel), sekundarni kalijev-tartrat (nevtralen) ter primarni in sekundarni kalcijev tartrat. Zelo slabo topna sta sekundarni kalcijev-tartrat ter primarni kalijev-tartrat, ki se kot sol lahko izločata že v moštu. Vinska kislina nastaja tudi v listih v (oksidacijskem) pentoza-fosfatnem ciklu. V grozdju se sintetizira iz galakturonske kisline. Po začetni intenzivni sintezi vinske kisline v plodnici, začne koncentracija vinske kisline naraščati do začetka dozorevanja jagod, nato pa se ta stabilizira. V grozdju, ki je inficirano z *Botrytis cinerea* pride do zmanjšanja koncentracije vinske kisline, ker ima dva do trikrat večjo prednost za razgradnjo kot jabolčna kislina. V začetku zorenja je večina vinske kisline proste. Med zorenjem jo vedno več reagira s kationi (K,Ca). Ko pride do tvorbe soli s kalcijem, se le-te odlagajo v vakuole. Večja asimilacija kalija pogojuje tvorbo večjih koncentracij obeh kislin, vinske in jabolčne, kar zahteva hkratni transport kalija v celico in izločanje vodikovih ionov ven. Gnojenje z dušičnimi gnojili zmanjša vsebnost vinske kisline. Z dozorevanjem lahko delež proste vinske kisline naraste, čeprav se 40% kalija akumulira v kožici. Ta anomalija je lahko rezultat različne razporeditve kalija v celicah jagodne kožice. Obe kislini sta vključeni v ohranjanje optimalnega osmotskega in ionskega ravnotežja v celicah, vendar se nahajata v vakuolah, da se prepreči preveliko zakisanje v citoplazmi. V primeru dežja med zorenjem, se koncentracija vinske kisline poveča. Pri temperaturah od 30-37 °C se presnavlja v sladkor (Zadnik, 1997).

#### 2.4.3.2 Jabolčna kislina

Kot produkt nepopolne oksidacije sladkorja, jabolčna kislina prehaja iz listja v jagodo, kjer tudi sama oksidira do vode in ogljikovega dioksida. V procesu dihanja rastlinske celice zavzema eno od pomembnih mest. V grozdju je ta kislina kot L-jabolčna kislina. V grozdju in moštu je jabolčna kislina večinoma v obliki soli kalcija, kalija in magnezija. Če je grozdje slabo dozorelo je vrednost jabolčne kisline, v sklopu titrabilnih kislin večja od vinske. Sintetizira se iz sladkorjev z glikolizo, v ciklu trikarboksilnih kislin. Nastane tudi z dekarboksilacijo iz oksal acetata v fosfoenolpiruvat pri glukoneogenezi sladkorjev. Koncentracija jabolčne kisline se spreminja bolj sunkovito kot koncentracija vinske. Njeno spreminjanje je odvisno od kultivarja in vremenskih razmer med zorenjem. Po začetni intenzivni sintezi se koncentracija jabolčne kisline povečuje, proti koncu dozorevanja pa

manjša. Jabolčna kislina predstavlja rezervno energijo, ki jo v slabih vremenskih razmerah trta uporabi za tvorbo sladkorja. Oksidira se pri temperaturi 27-30 °C. V toplih klimatskih razmerah se pogosto jabolčna kislina razgradi pred trgatvijo. Na zmanjševanje koncentracije jabolčne kisline vplivajo; izpostavljenost višjim temperaturam, ki aktivirajo encime, zmanjšanje njene sinteze in povečanje glukoneogeneze. Povečana vsebnost kalija in dušika v zemlji in s tem povečan dotok v rastlino, povečata koncentracijo jabolčne kisline. Povečana sinteza le-te, vpliva na stabilnost citoplazemske pH vrednosti, ker sinteza jabolčne kisline nevtralizira hidroksidne ione, ki nastanejo pri redukciji nitrata do amoniaka. Zaradi nizkega nivoja ionizirane jabolčne kisline in njenega metabolizma med zorenjem, zgodnja sinteza jabolčne kisline ne prepreči trajno naraščanje pH vrednosti med zorenjem (Zadnik, 1997).

#### **2.4.3.3 Citronska kislina**

Citronsko kislino najdemo v koncentracijah od 100 do 200 mg/L v zdravem grozdju. Nastaja kot pomemben intermediat v ciklusu trikarboksilnih kislin. Fiksirana je na celične opne. Pri predelavi grozdja težko prehaja v mošt (Zadnik, 1997). Med zorenjem se koncentracija citronske kisline ne spreminja, oziroma se poveča, ker je rezistentna na oksidacijo. V moštih iz infeciranega grozdja je več citronske kisline (300 mg/L). Visoke koncentracije citronske kisline povečajo nevarnost bakterijske nestabilnosti v vinih (Ribéreau-Gayon, 1971).

#### **2.4.3.4 Mlečna kislina**

Mlečna kislina je prisotna v zelo nizkih koncentracijah, kot D in L-laktat. V poškodovanem grozdju mlečnokislinske bakterije pretvorijo glukozo v mlečno kislino, tako se njena koncentracija poveča lahko čez 200 mg/L (Ribéreau-Gayon, 1971).

### **2.4.4 MINERALNE SNOVI**

Če sledimo spremembi mase in alkalnosti pepela grozdnih jagod, lahko opazimo konstantno povečevanje teh dveh parametrov med fazami oblikovanja in zorenja. Korenine iz zemlje neprestano črpajo mineralne snovi, ki jih razporejajo po celi rastlini, tudi v plodove. Pri kroženju mineralnih snovi med listom in plodom, poteka neprestana absorpcija ionov na naelektrenih skupinah celičnih sten vodo prevodnih poti. Vnos mineralov je neenakomeren. Dotok je hitrejši na začetku dozorevanja, ker je potreba po mineralih večja (razvoj plodu), med zorenjem pa se manjša. V kožici in pečkih se med zorenjem koncentracija pepela podvoji. Večina kalijevih ionov ni vezana v obliki tartratov, ampak je vezana na pektin v jagodnih kožicah. Pri stiskanju drozge večina kalija in kalcija ostane vezanega na tropinah, medtem ko so magnezijeve soli dobro topne in prehajajo v mošt (Zadnik, 1997). Koncentracija mineralnih snovi je odvisna od klimatskih pogojev (vlaga poveča), agrotehničnih ukrepov, kultivarja, stopnje zrelosti in stopnje transpiracije. Poleg makroelementov, se tudi koncentracija težkih kovin povečuje. Paralelno s koncentracijo kationov se poveča tudi koncentracija anionov ( $\text{PO}_4$ ,  $\text{SO}_4$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{SiO}_3$ ) (Ribéreau-Gayon, 1971).

## 2.4.5 MIGRACIJA DUŠIČNIH SNOVI

Ob polni zrelosti je koncentracija dušikovih snovi jagodnega mesa do petkrat večja v primerjavi z začetkom zorenja. Amoniak je konstantno dovajan grozdni jagodi, vendar koncentracija tega ne narašča, ker se porablja za sintezo organskih dušičnih snovi. Proteinska sinteza se začne ob začetku zorenja, do takrat pa amonijevi ioni predstavljajo do 4/5 celotne koncentracije dušika. Shema sinteze proteinov:

$\text{NH}_3 \longrightarrow$  aminokislinae  $\longrightarrow$  polipeptidi  $\longrightarrow$  peptoni  $\longrightarrow$  proteini  $\longrightarrow$  enostavni proteini  
 $\longrightarrow$  konjugirani proteini

V času zorenja je koncentracija aminokislin v konstantnem naraščanju in tako tudi druge dušične organske spojine. Večja kot je zrelost grozdja, večji delež dušika predstavljajo organske dušične spojine, manj pa amoniak. Dušik prihaja v obliki amoniaka iz tal. V oblikiaminskega iona in peptidov prihaja iz listja. Vsi peptoni in proteini, so sintetizirani v sami jagodi. Jagodno meso vsebuje  $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{6}$  dušika celotne jagode. Večji del se ga nahaja v pečkih in jagodni kožici. Ob zrelosti, ko se prekine dotok hranil, se iz pečk in kožice izloča v sok (Ribéreau-Gayon, 1971). Koncentracija dušika se lahko zmanjša z infekcijo s plesnijo *Botrytis cinerea*. Koncentracija dušikovih spojin se giblje med 0,3-1,4 g/L grozdnega soka. Odvisna je od sorte in letnika. Vina dobrih letnikov so siromašnejša na dušikovih snoveh. Dušikove spojine so razporejene tako; največ okoli pečk, najmanj na sredini (Wondra, 2004).

## 2.4.6 PEKTINSKE SNOVI

Mehčanje jagod pospeši sproščanje soka iz mesa in ekstrakcijo fenolnih ter aromatičnih snovi iz jagodne kožice. Mehčanje je povezano s porastom vodotopnih pektinov in hkratnim sproščanjem lamel med celicami. Te spremembe so rezultat encimske razgradnje ter manjšanja koncentracije kalcija v pektinih celične stene. Dotok kalcija preneha ob začetku zorenja (Wondra, 2004).

## 2.4.7 FENOLNE SPOJINE

Fenolne spojine dajejo trpek in grenak okus vinu. Vplivajo na barvo in okus vina. Bistvena razlika v okusu med belimi in rdečimi vini je podana prav z različnimi fenolnimi spojinami (Wondra, 2004). Sinteza se začne zgodaj v razvoju s kondenziranjem eritroze, ki se tvori v pentoza-fosfatnem ciklu in fosfoenolpiruvata, ki nastane pri glikolizi. Fenilalanin, ki pri tem nastaja se pretvarja v cimetno kislino. Pri naslednji pretvorbi cimetne kisline nastajajo različni flavonoidni fenoli, druga možnost je, da se cimetna kislina vključi v sintezo ne flavonoidnih fenolov. Sinteza fenolnih spojin je odvisna od temperature, akumulacije sladkorja in genetskih faktorjev ter letnika (Zadnik, 1997). Fenoli so formirani v pečkih pred zorenjem in se med zorenjem njihova količina ne spreminja. Koncentracije fenolnih snovi v drugih delih jagode se povečujejo dokler ni grozdje dozorelo. V prezrelosti se koncentracija fenolov zmanjša (Boulton in sod., 1996).

## 2.4.8 AROMATSKE SPOJINE

Ugotavljanje sinteze in lokacije aromatskih spojin v grozdju ima praktičen pomen, zato ker je trgatav regulirana in sovпада s kopičenjem pomembnih aromatskih spojin v grozdju. Primarne aromatične snovi nastanejo v grozdni jagodi, sekundarne pa so vezane na sortno določeno aminokislinsko sestavo grozdja in številne druge parametre. Arome nekaterih sort temeljijo na monoterpenih (Muškat). Ko se sintetizirajo so lahko proste ali vezane na glikozide. Lahko so v obliki derivatov ali polimerov osnovnih spojin. Zato ima zrelo grozdje manj izrazito aromo kot bi lahko sodili, po nivoju njegovih aromatskih sestavin. Med dozorevanjem se obe frakciji večata, v prezrelosti pa obe manjšata. Hlapne snovi so enakomerno razporejene med kožico in mesom, vendar ker kožica predstavlja 5-12 % skupne mase, mora biti koncentracija aromatskih spojin precej večja v kožici. Prehod aromatskih spojin iz kožice v sok je zelo hiter, vendar so zelo občutljive na kisik. V osvetljenih jagodah Gewürtztraminerja je bilo več vezanih monoterpenov kot v osenčenih (Boulton in sod., 1996).

## 2.4.9 LIPIDI

Lipide grozdja sestavljajo kutikularni in epikutikularni voski, maščobne kisline, fosfolipidi, glikolipidi in olja pečk. Njihova koncentracija se med zorenjem in rastjo ne spreminja. Med zorenjem je najopaznejša sprememba zmanjšanje linolenske kisline, kar zmanjša vsebnost njenih oksidacijskih produktov med tvorbo arome vin v kožici. Pri rdečih kultivarjih se koncentracija karotenoidov zmanjša, kot posledica razredčitve med rastjo jagode, ki nastopi po prenehanju sinteze. Epikutikularne ploščice so sestavljene iz trdega voska, v veliki meri iz oleinske kisline in se nahajajo na celotni površini jagod. Mehkejša spodnja kutikula ali kutin je naložena v plasteh in se širi z rastjo jagode. Sestavljen je iz palmitinske, linolenske, oleinske in stearinske kisline ter njihovih derivatov. 30-40 % maščobnih kislin z dolgo verigo se nahaja v jagodni kožici. So pomemben vir nenasičenih maščobnih kislin za sintezo membrane kvasnih celic med fermentacijo (Zadnik, 1997).

## 2.4.10 VITAMINI GROZDJA

Koncentracija vitaminov se povečuje med zorenjem z izjemo biotina, ki se zmanjšuje. Nekateri vitamini, predvsem pa tiamin, dosežejo svoj maksimum nekaj dni pred polno zrelostjo. Prezrelemu grozdju pade koncentracija vitamina B (Ribéreau-Gayon, 1971).

## 2.5 VPLIVI NA DOZOREVANJE GROZDJA

### 2.5.1 PRIDELEK

Veliko je razprav o primernem ravnotežju med pridelkom, kakovostjo grozdja in o dolgoročnem zdravju trte. Preobilni pridelek podaljša dozorevanje grozdja, zadrži kislost, podaljša sintezo antocianov in kopičenje sladkorja, omeji razvoj arome, zmanjša nadaljni pridelek ter skrajša življenjsko dobo vinske trte. Premajhen pridelek; podaljša rast poganjkov in razvoj listov, poveča senčenje in zmanjša kislost grozdja. Če je pridelek premajhen vpliva na velikost jagod, ki so večje. S tem zmanjša razmerje med kožico in mesom ter lahko negativno vpliva na lastnosti, ki izvirajo iz jagodne kožice. Manjši pridelek poveča koncentracijo dobre vinske arome, hkrati pa raste rudi intenziteta okusa. Ta dva parametra morata biti za uravnoteženo vino v pravem razmerju. Uravnovešenost med listi in grozdi

izboljša mikroklimatske razmere znotraj in okoli trte, poveča fotosintetsko aktivnost, izboljša dozorevanje grozdja in razvoj okusa (Zadnik, 1997).

### 2.5.2 SONČNA SVETLOBA

Je vir energije in vpliva na zrelost jagode termalno in preko fotokroma. Fiziološka aktivnost fotokroma je 60 % na soncu in 20 % v senci. Grozdje, ki je bolj izpostavljeno soncu ima lahko večjo titrabilno kislost ter koncentracijo vinske in jabolčne kisline, kar se lahko odraža v zmanjšanju pH in povečani akumulaciji kalija. Zasenčenje povečuje akumulacijo magnezija in kalcija ter manjša koncentracijo sladkorjev. Verjetno je posledica razredčenja povezanega s povečanjem volumna jagod, ki je večji zaradi manjšega izhlapevanja. Grozdje, ki je izpostavljeno sončnim žarkom ima lahko do 15 °C višjo temperaturo. Statistike kažejo, da obstaja velika stopnja verjetnosti, da so jagode osončenih grozdov slajše kot tiste, ki so bile v senci. To je zelo izraženo pri poznih kultivarjih (Zadnik, 1997).

### 2.5.3 TEMPERATURA

Ta znatno vpliva na aktivnost encimov in prepustnost celičnih membran. Toplota mogoče povzroča pronicanje jabolčne kisline iz celičnih vakuol. Vsebnost vinske kisline pri temperaturah pod 30 °C se zelo malo spreminja. Za sintezo antocianov se pri veliko kultivarjih smatra za ugodne temperature med 20-25 °C podnevi in med 15 in 20 °C ponoči. Višja temperatura ima pozitivne učinke na kopičenje sladkorja, ne pa nad 35 °C, ko se fotosinteza prekine. Toplotni stres v zgodnjem obdobju ireverzibilno zmanjša velikost jagod, kar vodi v slabšo proizvodnjo grozdja in kasnejšo zrelost. Poznejši kot so kultivarji večja mora biti vsota aktivnih temperatur (srednje dnevne -10 °C) in izpostavljenost sončni svetlobi. Previsoke temperature povzročijo, da se v soku prično odvijati biokemijski procesi, ki vodijo do tega, da pride do nepopravljivih tkivnih okvar. Jagode so bolj izpostavljene boleznim in škodljivcem (Zadnik, 1997).

### 2.5.4 VLAGA IN VETROVI

Vir vlage so padavine ali namakanje. Blag vodni pritisk ob začetku zorenja grozdja vodi k bolj uravnovešenemu razmerju med listi in grozdem, kar je posledica zmanjšane rasti. Preobilne padavine lahko povečajo pridelek, s tem tudi velikost jagod, kar zavleče zrelost. Pogosto povzročajo padavine zmanjšanje koncentracije sladkorja, v nekaterih primerih pa ravno obratno, vendar je njihov vpliv minimalen. Optimalna letna količina vode je med 600 in 800 mm, predvsem je pomembna razporeditev. Preveč dežja v dozorevanju povzroči pokanje jagod zaradi povečanega osmotskega tlaka in posledično gnitje (Zadnik, 1997).

Veter na trto vpliva ugodno in neugodno. Blag veter omogoča mešanje zraka in hitro sušenje po dežju ter zmanjšanje možnosti pojava glivičnih bolezni. Pomaga tudi za boljše cvetenje, premočni pa so škodljivi (Taks, 2000).

## 2.6 ZRELOSTI

### -Polna zrelost

Polna zrelost je takrat, ko se koncentracija sladkorja absolutno ne povečuje več, koncentracija kisline pa se ne zmanjšuje, kar se ugotovi z merjenjem. Preneha se dotok asimilatov. Polna zrelost se odraža v naslednjih značilnostih: jagodna kožica je vse tanjša in prožnejša,

intenzivirata se barva in aroma kultivarja, pokrije se s poprhom, grozdna jagoda ima absolutno največ sladkorja in največjo maso in pecljevina ne vsebuje več škroba.

#### - Prezrelost

V fazi prezrelosti, ko ni več dotoka snovi se zaradi izgube vode čez površino grozdne jagode, t.i. transpiracije, kopičijo vse sestavine, tudi sladkorji.

#### - Tehnološka zrelost

Tehnološka zrelost je, ko je sestava grozdja taka, kot jo predvidena za pridelavo določene vrste oziroma tipa vina (Gojkovič, 1996).

## **2.7 KEMIČNA SESTAVA MOŠTA IN VINA**

### **2.7.1 MOŠT**

Mošt je tekoča frakcija vsebine grozdne jagode s svojo kemično sestavo, od katere je odvisna kakovost določenega vina. Kemična sestava grozdnega soka se je formirala v grozdni jagodi pod vplivom dane ekološke sredine in kot genetski potencial, ki ga ima določena sorta. Pri predelavi grozdja v mošt lahko pride tudi do prehoda nezaželenih snovi iz trdih delov grozda. V večji ali manjši meri je prehod nezaželenih snovi odvisen od načina predelave in od kakovosti predelovalnih strojev. Vsi trdi deli grozda; prah, zemlja, mikroorganizmi in ostanki škropiv povzročajo motnost mošta. Mošt je neprava raztopina. Njegova gostota je vedno večja od gostote vode (1,060 -1,120), odvisna je od sorte in stopnje zrelosti. Gostota mošta je predvsem funkcija koncentracije sladkorja (Wondra, 2004).

### **2.7.2 VODA**

Voda je pomembna in predstavlja največji delež grozdnega soka. Igra važno vlogo kot topilo asimilatov, v moštu pa nastopa kot topilo vseh sestavin (Wondra, 2004). Koncentracija vode v moštu niha v odvisnosti od letnika, sorte in stopnje dozorelosti ter od obremenitve trte. Njena koncentracija se giba v razponu od 780-850 g/L mošta (Taks, 2000). Vode v vinu je več kot v moštu, ker se v času vrenja izločajo nekatere snovi. Čim manjši je odstotek vode, tem boljša je kakovost vina (Milek, 2001).

### **2.7.3 OGLJIKOVI HIDRATI**

Ogljikovi hidrati predstavljajo med 12 in 27% celotne sestave mošta (Johnson, 2001). So produkt fotosinteze, ki poteka v vseh zelenih delih vinske trte, vključeno z grozdnimi jagodami. Iz ogljikovega dioksida, ki ga absorbirajo klorofilne celice iz atmosfere ob prisotnosti vode, nastanejo kot prva organska spojina prav ogljikovi hidrati, med katerimi prevladajo monosaharidi. Prevladujejo heksoze nad pentozami, v majhnih koncentracijah je zastopana tudi saharoza (Wondra, 2004). Ko je jagoda še zelena, vsebuje tri četrtine glukoze in eno četrtino fruktoze. Z dozorevanjem grozdja se razmerje spreminja v korist fruktoze, tako da pride v fazi polne zrelosti skoraj do ravnotežja med obema. V prezrelem grozdju prevladuje fruktoza. Samook je najbogatejši s sladkorji. Kvasovke imajo boljšo afiniteto do glukoze (Milek, 2001).

### 2.7.3.1 Monosaharidi

#### - Heksoze

So glavni sladkorji, ki jih kvasovke pretvorijo v etanol. Koncentracija heksoz varira glede na sorto, stopnjo zrelosti, klimo, vrste tal in zaščito pred boleznimi (Wondra, 2004). Glavni dve sta glukoza in fruktoza, nekaj je tudi Matoze (do 50 mg/L) in galaktoze (do 20 mg/L) (Taks, 2000).

#### -Glukoza ali grozdni sladkor ( $C_6H_{12}O_6$ )

Glukoza je kristalna snov bele barve in sladkega okusa. Zelo dobro se topi v vodi, zato jo v moštu dobimo v topni obliki. Z oksidacijo lahko preide v glukonsko kislino in naprej v glukarsko (Milek, 2001). Spada med aldoze (Belitz, 1999). Je lahko vir zaželenega etanola, ki ga predelajo kvasovke. Lahko je pa vir bolezni, ki jih povzročajo mlečnokislinske bakterije (Šikovec, 1993).

#### -Fruktoza ali sadni sladkor ( $C_6H_{12}O_6$ )

Fruktoza spada med heksoze, vendar se od glukoze loči po funkcionalni skupini. Fruktoza je ketoza in vsebuje karbonilno skupino vezano na drugem mestu. Je spremljevalka glukoze, v vodi je topna in težko kristalizira v brezvodne kristale. Po okusu je dvakrat slajša od glukoze. Kvasovke jo povrevajo v etanol in ogljikov dioksid, mlečnokislinske bakterije pa jo prevrevajo v manit, kar povzroči boleznina vina. Fruktoza in glukoza sta reducirajoča sladkorja (Milek, 2001).

#### - Pentozе ( $C_5H_{10}O_5$ )

So slabše zastopane kot heksoze. Nastopajo predvsem kot anhidridi, v kombinaciji s heksozami, kot heksoza-pentozani. Med pentozami prevladuje arabinoza, v sledovih pa sta še ksiloza in riboza. Nahajajo se zlasti v trdih delih grozda, največ v pečkih. Pri predelavi grozdja precej pentoz ostane na tropinah. Kvasovke jih ne morejo povreti, zato tiste, ki po predelavi pridejo v mošt najdemo tudi v vinu (Šikovec, 1993).

### 2.7.3.2 Disaharidi

Edini disaharid pomemben v predelavi vin je saharoza ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ). Mošt evropskih trt vsebuje v povprečju 2-5 g/L saharoze. Med saharozo v grozdju in vinu ni nobene povezave, saj jo kvasovke s pomočjo lastnih encimov (saharaze), najprej pretvorijo v glukozo in fruktozo, nato pa jih povrejo v etanol (Šikovec, 1993).

### 2.7.4 ORGANSKE KISLINE

Kisline skupaj s sladkorji okarakterizirajo tehnološko vrednost vsake sorte v dani ekološki sredini (Wondra, 2004). Kislost mošta povzročajo organske kisline in njihove soli, kakor tudi kisle soli mineralnih kislin. Anorganske kisline (fosforjeva, žveplova, borova), so prisotne v majhnih koncentracijah in vse v obliki nevtralnih soli, ki predstavljajo mineralne snovi. Najbolj pomembni organski kislini sta vinska in jabolčna. V moštu iz zrelega grozdja ni proste vinske kisline. Kisline se vežejo na kalij, kalcij in magnezij. Razmerje med prostimi in vezanimi kislinami je odvisno predvsem od sestave tal in količine padavin v vegetaciji, še posebno v fenofazi dozorevanja. V primeru nezdravega grozdja se pojavijo še nekatere druge organske kisline, ki so posledica raznih plesni. Koncentracija kislin v vinu je večinoma odvisna od geografskega porekla, kultivarja, letnika, časa trgatve, načina predelave in

kletarjenja. V praksi najboljše uporabljeni aspekti za presojo kislosti moštov in vin so titrabilna kislost, pH in pufrna kapaciteta (Šikovec, 1993).

#### -Titrabilna kislost

Titrabilna kislost predstavlja masno koncentracijo vseh kislih snovi mošta ali vina. Izražena je s količino baze porabljene za nevtralizacijo vseh kislih snovi mošta ali vina. Izražamo jo kot vinsko kislino v g/L. Uporabljamo jo pri določevanju tehnološke zrelosti grozdja. V moštu in vinu je koncentracija med 5 in 10g/l, pri sladkih in desertnih vinih med 4 in 6,5 g/L, za botriticidna vina pa okoli 10 g/l (Milek, 2001).

#### -Pufrna kapaciteta

Pufrna kapaciteta je lastnost mošta ali vina, da se njun pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz ne spreminja. Definirana je kot množina hidroksilnih oziroma vodikovih ionov, ki jih moramo dodati 1L vzorca, da se njegov pH spremeni za eno enoto. Številčna vrednost je obratno sorazmerna naklonu titracijske krivulje v območju pH vina ali mošta. Izražamo jo v mmol/L/pH. Običajno so vrednosti pufrne kapacitete 35-50 mmol/L/pH (Košmerl, Kač, 2003). Odvisna je od stopnje zrelosti in koncentracije v vodi raztopljenih mineralnih snovi (Šikovec, 1993). Maksimalne vrednosti so dosežene neposredno pred začetkom barvanja jagod (Wondra, 2004).

#### -pH vrednost

pH predstavlja jasen in določen pojem koncentracije vodikovih ionov, ki so produkt disociacije prostih kislin in kislih soli (Milek, 2001). pH vrednost je v bioloških sistemih pomembnejša od podatkov o skupnih kislinah. pH oziroma negativni logaritem koncentracije  $H_3O^+$  ionov se kaže; na selektivnem delovanju na mikroorganizme, v intenzivnosti in odtenku barve, okusu, rH, razmerja med prostim in vezanim  $SO_2$ , .... pH mošta normalnih trgatev je med 3,1 in 3,6. pH mladega vina je večji od pH vrednosti mošta (Košmerl in Kač, 2003).

### **2.7.4.1 Vinska kislina ( $C_4H_6O_6$ )**

Kemijsko je to vinska kislina dihidroksi dikarboksilna kislina, ki ima v molekuli dva asimetrična C-atoma. Poznamo tri stereoizomerne oblike; D(+) vinska kislina, L(-) vinska kislina in mezovinska kislina. Prvi dve sta normalna optični antipodi, mezovinska pa je optično neaktivna. Poznamo še DL-vinsko kislino (grozdna), ki nastane s kristalizacijo prvih dveh v obliki racemata. V naravi dobimo le D(+) vinsko kislino. Proizvajajo jo še danes iz vinskega kamna. Razredčena deluje osvežujoče, je kislno-grenkega okusa, zato jo v živilski industriji uporabljajo pri izdelovanju limonad, .... Uporabne so tudi soli (pečilni prašek, Fehlingova raztopina, ...). Soli vinske kisline so primarni in sekundarni kalijev tartrat ter primarni in sekundarni kalcijev tartrat. Primarni kalijev tartrat in sekundarni kalcijev tartrat sta slabo topna v vodi še manj pa v alkoholu, tako da se izločata. Vino je treba stabilizirati na vinski kamen. Na topnost tartratov vpliva koncentracija alkohola in pH vrednost. Tartratov je približno okoli 2-3 g/L vina. Izločanje tartratov zmanjša aciditeto vina, in sicer za vsak gram tartratov, se aciditeta zmanjša za 0,4 g/L (Blaškovič, 1978).

### **2.7.4.2 Jabolčna kislina ( $C_4H_6O_5$ )**

Jabolčna kislina je monohidroksi-dikarboksilna kislina, ki ima asimetrični C-atom in je optično aktivna. V L(-) obliki jo dobimo v nezrelem grozdju, jabolkah in ostalem sadju. Poznamo še D(+) obliko in sintetično jabolčno kislino, ki je mešanica D(+) in L(-) oblike.



Grozdna jagoda jo izmed vseh kislin najbolj izkorišča kot energetski material v procesu dihanja. V zelenih jagodah je od 15 do 25 g/L jabolčne kisline, v obdobju polne zrelosti pa 3-5g/L. V grozdju in moštu nastopa največ v obliki soli malata, največ kot kalijev kalcijev in magnezijev. V deževnih letinah jo je v vinu več. Pri normalno dozorelem grozdju je razmerje med jabolčno in vinsko kislino 1:1, v nezrelem je večji delež jabolčne, v prezrelem pa večji delež vinske. V vinu je neobstoja in se pod vplivom bakterij transformira, nekoliko zmanjšajo njeno koncentracijo tudi kvasovke (Blaškovič, 1978).

#### 2.7.4.3 Mlečna kislina ( $C_3H_6O_3$ )

Mlečne kisline praviloma v moštih nepoškodovanega grozdja ne najdemo, lahko pa v manjših koncentracijah srečamo kot D in L-laktat. D oblika nastane pri razgradnji ogljikovih hidratov. L oblika, pa je posledica jabolčno-mlečnokislinske fermentacije v vinih (Blaškovič, 1978).

#### 2.7.4.4 Citronska kislina ( $C_6H_6O_6$ )

Citronska kislina je hidroksi-trikarboksilna kislina. Kristalizira brez vode ali z eno molekulo vode. Vodna raztopina je prijetno kiselkastega okusa. Poznamo tri vrste citratov. Uporablja se jih tako v medicini kot v živilstvu. Dobimo jo v številnem sadju, največ pa jo vsebuje citronov sok. V grozdju jo je malo, najdemo jo pa v vseh organih trte. Večina je ostane na tropinah, ker je vezana na celične mrenice. Prisotna je v koncentracijah do 1g/L. Večje koncentracije je najdemo v jagodah okuženih s plesnijo. Citronska kislina, ki prehaja iz mošta v vino je precej neobstoja, ker jo napadajo mlečnokislinske bakterije (Blaškovič, 1978).

#### 2.7.4.5 Druge kisline v moštu in vinu

Prisotne so še: -aminokisline, -jantarna, -pirogrozdnna, -galakturonska, -glukonska,- glikolna, -oksalna,- fumarna,- ketoglutarijeva, -ocetna (Blaškovič, 1978).

### 2.7.5 FENOLNE SNOVI

Grozdje mošt in vino vsebujejo vrsto med seboj sorodnih spojin, ki smo jih vse do sredine prejšnjega stoletja uvrščali med taninske in barvne snovi, zdaj pa med polifenolne snovi. Fenolne snovi igrajo zelo pomembno vlogo, zlasti pri stabilizaciji rdečih vin. S svojo prisotnostjo pa negativno vplivajo na kakovost belih vin, če je koncentracija preko 500 mg/L. Po kemijski sestavi se sestojijo iz elementov kisika vodika in ogljika, z zelo različnimi strukturnimi formulami. Cela kemična skupina je dobila ime po fenolu ( $C_6H_5-OH$ ) in je po kemični zgradbi podobna terciarnim alkoholom. Oksidacija fenolov povzroča spremembe na zgradbi benzojevega obroča, ki se lahko tudi odpre. Polifenoli so substrati za oksidaze, ki jih pretvorijo v o-kinone. V povprečju je nekje 65 % grozdnih fenolov v pečkih, 22 % v pecljih, 12 % v kožici in le 1 % v jagodnem mesu. Značilno za fenolne spojine je, da dajejo grenak in trpek okus. Do sredine tega stoletja smo zato taninske snovi v moštu oziroma vinu imenovali enotanini. S svojo prisotnostjo vplivajo na barvo in okus vina. Fenoli imajo sposobnost koagulacije beljakovin in so udeleženi pri spontanem bistrenju vina. V vino pridejo na tri načine: -iz grozdja, -kot produkt metabolizma kvasovk, -ekstrahirani iz sodov (Šikovec, 1993). Koncentracija fenolnih spojin je odvisna od: kultivarja, rastnih razmer, letnika, načina predelave grozdja, nege vina in temperature med dozorevanjem grozdja. Nižje temperature omogočajo kopičenje večjih koncentracij fenolnih snovi v grozdju (Milek, 2001). Fenolne spojine v osnovi delimo na tri skupine:

### -Fenolne kisline

Prva podskupina fenolnih kislin so hidroksicimati, ki so pomembni v grozdju v obliki derivatov kofeinske, kumarinske in ferulične kisline. Nahajajo se v rdečih in belih vinih. V grozdju so v obliki estrov vinske kisline. Povprečno jih je maksimalno do 150mg/l, če je grozdje obvarovano pred večjimi encimskimi procesi. Iz njihove vezane oblike jih pri predelavi osvobodijo pektin esteraze. Vse kisline, ki se oksidirajo, dajo kot produkt oksidacije enake o-kinone. Izgube reakcije in pretvorbe barv v moštih in vinih so odvisne od; koncentracije kislin, izpostavljenosti zraku, aktivnosti polifenol oksidaze, pH in ostalim reagentom (Boulton in sod., 1996). Druga podskupina so hidroksibenzoati. So predvsem razgradni produkti in se pojavljajo v manjših koncentracijah v moštih in vinih, ki so bila inficirana s plesnijo ter v staranih vinih. Glavna je galna kislina, ki je produkt razgradnje (-) epikatehin galata.

### - Flavonoidi

Flavonoidi predstavljajo zelo široko frakcijo. Jih je okoli 85 % totalnih fenolov. Kožica pri rdečih sortah vsebuje vse antocianine. Vsebuje tudi nekaj katehinov, zelo malo pa flavonolov in flavanonol glikozidov. Pečke imajo ostale monomerne katehine, več pa dimernih in bolj kompleksnih. V pečkih so prisotni tudi nehidrolizirani tanini, epikatehin in galokatehini ter njihovi polimeri. Antocianini vinifere so v obliki 3-glukozidov. So v rdečih vinih in odločajo o intenzivnosti in odtenku rdečih vin. To so cianidin; peonidin, delphinidin, petunidin, malvidin in pelargonin. Prisotni so le v kožicah, razen pri barvaricah so prisotni še v mesu. Malvidin-3-glukozid predstavlja v povprečju 40 % vseh, koncentracija barvil se izraža v mg/L le-tega. Na barvo predvsem vpliva sestava antocianinov in pH. Prisotnost SO<sub>2</sub> zmanjša obarvanost (Boulton in sod., 1996). Levkoantociani so slabo ali močno kondenzirani. Prej smo jih prištevali med taninske kondenzate, ki so povečini v pečkih, kožicah in pecljevini. V belih vinih je njihova koncentracija le nekaj 10 mg/L, v rdečih pa med 1 in 3 g/L. Nahajajo se v različnih kondenzacijskih stopnjah. Večja kot je, večja je trpkost. Pomembna je taka predelava, s katero ne poškodujemo pečk in pecljev. Obvezno je tudi odstranjevanje pecljev pred maceracijo rdeče drozge (Wondra, 2004). Katehini (flavan-3-oli), so najbolj pomembni monomerni flavonoidi, prevalentna sta (+) katehin in (-) epikatehin. Nahajajo se v trdih delih grozdja. V manjših koncentracijah se nahajata epikatehin galat in galokatehin galat. Katehine najdemo v prostih oblikah. Pri pravilni predelavi jih v moštu ne najdemo (Boulton in sod., 1996). Flavoni so rumena do zlato-rumena barvila, ki se pojavijo z mehčanjem in barvanjem kože belih vinskih sort. Koncentracija barvil je sortna lastnost, ki je povezana s stopnjo zrelosti in načinom predelave. So v kožici in v soku, zato ni potrebna maceracija. Prevladujejo kvarcetin in kvercetrozid (Šikovec, 1993).

### - Taninski polimeri

S kondenzacijo katehinov nastanejo tanini. Nahajajo se v trdih delih grozdja. Kondenzirani so iz različnih polimerov, tako da so različnih struktur. So astringentni, grenki in reagirajo z beljakovinami. Njihova molska masa je okoli 4000 g/mol. Več jih nastane v letih, ki so hladna. Izjemno vplivajo na senzorično kakovost vina (Boulton in sod., 1996).

## 2.7.6 DUŠIKOVE SPOJINE

V moštu in vinu se dušikove spojine pojavljajo v obliki amonijevih in organskih spojin. Večja koncentracija dušikovitih spojin je v organski obliki in manjša v amonijevi obliki. V različnih delih grozdne jagode je razporeditev dušikovitih spojin različna. Samotok vsebuje manj dušikovitih snovi kot prešanec. Skupna koncentracija dušika v moštu je od 0,2 do 1,4 g/L. Mošti iz prezrelega in nagnitega grozdja vsebujejo manjše koncentracije dušikovitih spojin kot mošti iz zdravega grozdja. Dušikove spojine igrajo pomembno vlogo pri fermentaciji, čiščenju vina in možni mikrobni nestabilnosti. Vplivajo na aromo vina in lastnosti iskrenja penečih se vin. Že med predelavo grozdja vstopajo dušikove snovi v reakcijo s taninskimi snovmi, med alkoholnim vrenjem pa se nastali kompleks zaradi prisotnosti etanola izloča. Največ se zmanjša vrednost amoniakalnega dušika. Med alkoholnim vrenjem pride vedno do zmanjšanja koncentracije dušikovitih snovi, po koncu alkoholne fermentacije, pa zaradi avtolize kvasovk pride do ponovnega povečanja koncentracije (Taks, 2000).

### 2.7.6.1 Anorganske dušikove spojine (amoniak, nitrat)

Anorganske dušikove spojine najdemo v koncentracijah od 0-200 mg/L. Potrebne so za nemoteno razmnoževanje kvasovk in normalen potek alkoholne fermentacije. Anorganske dušikove spojine so prvo izkoriščene za izgradnjo lastnih beljakovin, šele nato uporabijo organsko vezane. Potrebne so za tvorbo biomase in funkcionalnih encimov, ki omogočajo biokemijske spremembe med alkoholno fermentacijo. Odločilne so tudi za kemično sestavo in senzorično kakovost vina (Milek, 2001).

### 2.7.6.2 Organske dušikove spojine

#### -Beljakovine

Od skupnega dušika, ga kar od 60-80 % odpade na beljakovine. Prisotni so termolabilni albumini, ki so količinsko najbolj zastopani. Odstraniti jih moramo iz vina pred stekleničenjem, zaradi njihovega koloidnega značaja. Ponavadi se to opravi z bentonitom. Drugo skupino beljakovin predstavljajo termostabilni globulini, katerih je bistveno manj in jih odstranimo s hlajenjem pri stabilizaciji vina na vinski kamen. Kvasovke ne morejo uporabljati beljakovin kot vir dušika, lahko jih le, če te razpadejo na aminokislino (Wondra, 2004).

#### -Polipeptidi

Polipeptidi so kondenzirane aminokislino, zgrajeni so lahko iz različnih aminokislin (Wondra, 2004).

#### -Amidi

Amidov je samo 2 % od skupnih dušikovitih snovi (Šikovec, 1993).

#### -Amini

Amini so prisotni v rdečih vinih, v bistveno večjih koncentracijah kot v belih. Amini nastanejo z dekarboksilacijo ustreznih aminokislin, med katerimi so najbolj problematične histamin, tiramin in fenil-etil-amin. Dekarboksilacije povzročajo predvsem mlečnokislinske bakterije rodov *Pediococcus* in *Lactobacillus*, pri pH višjem od 3,5. Amini so zdravju škodljivi.

### -Aminokislina

V moštu so zastopane bolj ali manj vse aminokislina. 75-85 % aminokislina v moštu predstavljajo glutamin, arginin, prolin, serin, glutaminska kislina, treonin in alanin. Med dozorevanjem se povečuje koncentracija aminokislina. Najbolj naraste koncentracija prolina, in sicer za 7,4 %. Z dozorevanjem razmerje arginin/prolin pada, te dve sta prevladujoči aminokislina v grozdju. V hladnejšem podnebnju je koncentracija prostih aminokislina večja, zaradi zmanjšane sinteze beljakovin. Skupna koncentracija dušika v vinu ni odvisna samo od klime. Koncentracija posameznih kislina se spreminja in je odvisna od sorte, klime, stopnje dozorelosti, gnojenja, tehnologije pridelave in okuženosti grozdja s plesnijo *Botrytis cinerea*. Aminokislinska sestava mošta vpliva na rast kvasovk, potek fermentacije in tvorbe aromatičnih snovi vina. Če se v metabolizmu aminokislina vključijo tudi žveplo vsebujoče aminokislina, se poveča možnost nastanka H<sub>2</sub>S. Kvasovke uporabljajo aminokislina glede na afiniteto za posamezno. Na začetku fermentacije je opazno znatno zmanjšanje aminokislina (75-90 %), medtem ko se na koncu vrenja koncentracija nekaterih aminokislina poveča zaradi avtolize kvasovk (Taks, 2000).

### -Prolin

Prolin spada med aminokislina z nepolarnim radikalom. Alifatski ostanek ima ciklično strukturo. Dušikov atom je v  $\alpha$  položaju vključen v obroč. V bioloških sistemih ima pomembno vlogo, ker ima hranilno vrednost, zmanjšuje učinke osmotskega stresa pri rastlinah in lahko služi kot krioprotektor. Prolin je prevladujoča aminokislina v moštu, koncentracije variirajo od 0-4600 mg/L. Na koncentracijo vplivajo: -višja temperatura poveča njegovo koncentracijo, -sorta, - in podlaga na katero je cepljena evropska trta. Koncentracija prolina je povezana z naraščanjem sladkorja. Oba parametra se linearno povečujeta. Kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* med fermentacijo ne uporabljajo prolina, v nekaterih pogojih ga celo sintetizirajo. Vzrok, da med fermentacijo ne uporabljajo prolina je v tem, da za katabolizem bi potrebovali encim prolin oksidazo, ta pa za delovanje potrebuje kisik. Ob prisotnosti kisika kvasovke lahko porabljajo prolin. Prolin permeaza je ob prisotnosti amonijevega iona inhibirana (Taks, 2000).

### - Prosti aminokislinski dušik (FAN)

S tem imenom označujemo dušikove spojine grozdja (aminokislina, amoniak), ki so pri metabolizmu na voljo kvasovkam. FAN med dozorevanjem narašča. Merjenje skupnega dušika daje zavajajoče rezultate, ker FAN so samo tiste dušikove komponente, ki jih kvasovke lahko izkoriščajo za svoj metabolizem. Vsebnost dušika, ki je za sladkorji drugo najpomembnejše hranilo je zelo variabilna. Potreba po dušiku je odvisna od seva kvasovk, začetne koncentracije sladkorja, dodatka amoniaka in stopnje aeracije. Pri povečani koncentraciji sladkorja v moštu je potrebno tudi več dušika. Počasna ali prekinjena fermentacija ima pogosto vzrok v pomanjkanju FAN. Za dokončanje fermentacije je potrebna koncentracija FAN okoli 150 mg N/L. Koncentracija FAN je odvisna od sorte in podlage, ker imajo različne sposobnosti transporta dušika preko koreninskega sistema. Ob pomanjkanju FAN v moštu, se ga korigira z dodatkom amoniaka v obliki diamonijevega fosfata. Ta zadovolji potrebe po dušiku, nekateri avtorji pa ugotavljajo, da lahko pripelje do okvare vina in ne prepreči pojav H<sub>2</sub>S. Diamonijev fosfat poveča pH vina, ta pa ima lahko za posledico slabšo barvo ali vsaj slabši odtenek.  $NH_3(mg\ N/L)=(43,9-FAN / Brix)/0,108$  (Taks, 2000)

### 2.7.7 MINERALNE SNOVI

Koncentracija mineralov mošta je odvisna od; vremenskih razmer, sorte, stopnje dozorelosti, tal in gnojenja ter načina predelave. V mošt niha koncentracija mineralov od 3-4 g/L, v vinu pa med 1,8-2,5 g/L. Z zakonom določena spodnja meja koncentracije mineralnih snovi je 1,6 g/L. V vinu je vedno manj mineralnih snovi. Mineralne snovi izvirajo iz zemlje in so tiste snovi grozdja in vina, ki ostanejo po izparevanju in žarjenju kot pepel. V pepelu vina in mošta prevladujejo kationi nad anioni. Prevladujoče mineralne snovi vina so kalij, kalcij, magnezij ter fosfat. Za normalen potek alkoholne fermentacije sta najpomembnejša kalij in fosfat. V vinu je manj mineralnih snovi, ker se njihova koncentracija začne zmanjševati že med predelavo grozdja in mošta, porabljajo se za izgradnjo celične mase kvasovk, nenazadnje se tudi izločajo z vinskim kamnom. Zmanjševanje se potem nadaljuje do zaključka pridelave vina (čiščenje stabilizacija, filtracija). Zaradi drugačne tehnologije predelave grozdja imajo rdeča vina več mineralnih snovi kot bela. Mineralne snovi so nosilci okusa in vplivajo na polnost vina. Mineralne snovi so hrana za kvasovke ter vplivajo na bistrenje (Wondra, 2004). Kation, ki prevladuje je kalij (0,5-2 g/L). Njegova koncentracija se še poveča pri sušenem grozdju in grozdju inficiranem s plesnijo *Botrytis cinerea*. Koncentracija kalija vpliva na kislinsko stabilnost in pH mošta, na njegovo barvo in na potek alkoholne fermentacije. Pomembni kationi so še kalcijevi, magnezijevi in natrijevi. Med anioni so pomembni fosfati, sulfati, kloridi, acetati, malati laktati, tartrati, v sledovih pa še brom, jod, fluor, silicijeva in borova kislina (Batič, 2005). Vsebnost težkih kovin (Fe, Cu...), je odvisna od uporabe zaščitnih sredstev in načinu pridelave (Wondra, 2004).

### 2.7.8 PEKTINSKE SNOVI

Pektinske snovi so polimeri galakturonske kisline. Posamezne molekule so med seboj povezane z glikozidno vezjo, kislinske molekule pa so do 75 % zaestrene z metanolom. Pektini v katerih so molekule povsem ali delno zaestrene so topni, tisti v katerih so molekule povsem proste, so netopni. Kot makromolekule predstavljajo zaščitne koloide v moštu in v vinih preprečujejo samobistrenje. Med alkoholnim vrenjem se hidrolizirajo (odcepi se metilna skupina), s tem se poveča koncentracija metanola v vinu in ostaja vse več netopnih molekul pektina. Tvorbo pene na začetku fermentacije pripisujejo v veliki meri galakturonski kislini. Samotok vsebuje zelo malo pektinov. Pri povečanem tlaku pri stiskanju ali zaradi slabega pecljalnika je vsebnost pektinskih snovi precej večja. V mošt lahko pride prevelika količina pektinov, ki onemogoča samobistrenje. V tem primeru lahko dodamo pektinaze, vendar te poleg tega, da omogočijo lažje bistrenje, povečujejo vsebnost metanola. Pektinaze lahko dodajamo tudi za večji dobit mošta, vendar moramo paziti, da nimajo depepsidaznega učinka, ki oslabi aromo vina (Šikovec, 1993).

### 2.7.9 KOLOIDNE SPOJINE

Poznamo dve skupini koloidnih spojin:

-Te snovi so polimerizirani anhidridi polisaharidov sestavljenih iz pentoz. So predvsem arabani, galaktani ter manani. Za te snovi so do pred kratkim trdili, da so sestavni del pektinske molekule, čeprav zdaj vemo, da niso kemično vezane na pektin, ampak so le stalni spremljevalci pektina. Znano je tudi, da je v moštu več koloidnih snovi kot pektina. Zlasti veliko teh snovi vsebuje grozdje, ki ga je napadla gniloba. Njihova koncentracija v vinu predelanem iz gnilega grozdja poraste tudi na 3 g/L (Šikovec, 1993).

-Druga vrsta so polimerizirani anhidridi polisaharidov sestavljenih iz heksoz, ki v vodi nabreknejo in tvorijo sluzasto koloidno raztopino. V moštu iz gnilega grozdja je precej dekstrina in glukana. Dekstrin je zmes visokomolekulskih polisaharidov, ki ga poleg plesni proizvajajo tudi mlečnokislinske bakterije. Glukan je polisaharid, ki ga v relativno veliki koncentraciji vsebuje gnilo grozdje in povzroča težko bistrenje, čiščenje in zamašitev filtrnih slojnic. V moštu oziroma v vinu ga dokažemo z dodatkom alkohola. Prisoten glukan se izloči v obliki nitastih vlaken, dekstrin pa v obliki nitaste mreže. Zdaj je dovoljeno, da takim moštom dodamo encim  $\beta$ -glukanazo, ki razgradi polisaharide in pospeši procese bistrenja ter poveča filtrabilnost vina (Šikovec, 1993).

### 2.7.10 AROMATIČNE SNOVI

Vonj kemične snovi je odvisen od molekulske teže, količine energije, polarnosti in oblike molekule. Intenzivnost zaznave je predvsem odvisna od temperature. S stališča sensorike je aroma skupen vtis, ki ga izražajo lahko hlapne sestavine, ki jih zaznamo z vonjanjem in manj hlapne, ki se sprostijo šele v ustih zaradi višje temperature in mehničnega učinka. Z ozirom na skupno aromo ločimo vinske sorte na nevtralne in aromatske. Aromatične snovi oblikujejo aromo mošta oziroma vina in so iz številnih različnih sestavin, ki se pojavljajo v zelo zapletenih povezavah, z različnimi kemičnimi sestavinami (Šikovec, 1993). Aroma je sestavljena iz več kot 800 danes poznanih snovi, vsebnost aromatičnih snovi se giblje med 0,8-1,2 g/L. Na 80-100g/L alkohola nastane pri alkoholni fermentaciji približno 1 g aromatičnih snovi. Ločimo: -Primarno sortno aromo, ki jo sestavljajo terpenske snovi; odvisna je od sorte, geoklimatskih pogojev, količine pridelka, zdravstvenega stanja in agrotehničnih ukrepov. Nahajajo se v 3. in 4. plasti jagodne kožice, predvsem so to terpeni in norizopreni. Oblikujejo se tik pred polno zrelostjo. Aromatične snovi so vezane na glukozide, na te delujejo pentozidaze, ki jih pretvorijo v vezano obliko na monoglukozidih, na monoglukozide delujejo še glukozidaze, tako da se sprostijo terpeni. Vsi terpeni so občutljivi na oksidacijo, zato moramo, če jih hočemo zadržati, vzdrževati nizek rH. Primarnih aromatičnih snovi je največ v grozdju, v vinu pa degradirajo po petih do šestih letih, ker jih prerastejo težje arome. -Sekundarna aroma se razvije pri predelavi grozdja, kjer potekajo kemične in encimske reakcije.

-Terciarna ali fermentacijska aroma nastaja med alkoholnim vrenjem in je proizvod metabolizma živih celic in kemijskih reakcij. Terciarna aroma je posledica nastanka višjih alkoholov in estrov, ki so sestavljeni iz alkoholov in maščobnih kislin. Višji alkoholi nastanejo iz aminokislin in skeleta sladkorjev. Na fermentacijsko aromo vplivajo sestava mošta (pH, koncentracija sladkorjev, koncentracija skupnega dušika, aminokislinska sestava), vrelni pogoji (temperatura, rH, koncentracija CO<sub>2</sub>) in vrsta kvasovk. -Ležalna ali zorična aroma se razvije v času zorenja in staranja vina z reakcijami esterifikacije in eterifikacije med maščobnimi kislinami ter višjimi alkoholi. Ti tvorijo nove stabilnejše aromatske komponente, v času zorenja vina (Wondra, 2005).

### 2.7.11 ENCIMI

Beseda encim izvira iz grščine in pomeni v »kvasovkah«. Encimi so večinoma beljakovine, ki delujejo kot katalizatorji in vodijo kinetiko reakcij od predfermentativne faze do zaključnih faz pretvorbe grozdnega soka v vino. Encimi, ki so v grozdju in encimi, ki jih proizvajajo kvasovke so v moštu prisotni v zelo majhnem številu, kar je posledica prehitrega stiskanja; običajno je njihovo delovanje zelo omejeno zaradi nizke pH vrednosti (Batič, 2005). Encimi, ki so dokazani v grozdju, so: -pektolitični, - $\beta$ -glukozidaze, - $\alpha$ -pentozidaze, -glikozidaze, -

oksidaze, -proteaze in -polifenol oksidaze. Polifenol oksidaze posredujejo prenos in vezavo kisika na druge sestavine in povzročajo porjavitev. Pektinaze imajo velik pomen pri spontanem bistrenju moštov. Razgradijo makromolekulo pektina do galakturonske kisline, ko se le-ta usede, se mošt zbistri, zmanjša se tudi njegova viskoznost. Proteaze razgrajujejo beljakovine in polipeptide, z razcepom peptidne vezi do aminokislin (Wondra, 2004).

### 2.7.12 VITAMINI

Vitamini so kemično pomembne sestavine v človeški prehrani. V maščobi topnih vitaminov z izjemo vitamina E v pečkih je zelo malo. V vodi topni vitamini B so prisotni, vendar v ne dovolj veliki koncentraciji, da bi imeli pomen za človeško prehrano. So esencialnega pomena za razmnoževanje in rast mikroorganizmov prisotnih v moštu. Prisoten je tudi vitamin C, okoli 100 mg/L ga je, pomemben je za kvasovke. Izgublja se z oksidacijo (Boulton in sod., 1996).

## 2.8 ALKOHOLNA FERMENTACIJA

Alkoholna fermentacija je zapleten kemijski proces, ki ga je že leta 1815 opisal Gay-Lucas. Okoli leta 1840, so spoznali, da fermentacijo povzročajo mikroorganizmi, in sicer kvasovke (Vatta, 2001). To je metabolizem, pri katerem sta substrat (začetni donor elektronov) in končni produkt (končni akceptor elektronov) organski snovi. V primeru alkoholne fermentacije piruvat prevzema vlogo končnega akceptorja elektronov, medtem ko je glukoza poglavitni donor. Čeprav je mnogo mikroorganizmov, ki so sposobni fermentirati sladkorje, jih velika večina fermentira le ob pomanjkanju kisika, saj je z energijskega vidika fermentacija dokaj neučinkovita, vendar hiter način pridobivanja energije. Energijski učinek je komaj 2 molekuli ATP na molekulo glukoze. Kljub temu, da je vrsta *S. cerevisiae* sposobna energijsko učinkovitega respiratornega metabolizma, v medijih z visoko koncentracijo sladkorjev fermentira, saj je podvržena represiji z glukozo (Crabtree efekt). V alkoholni fermentaciji se pretvori v energijsko bogat ATP le 6 do 8 % energije, medtem ko mnogo le-te ostane vezane v etanolu (Povhe-Jemec, 2003).

Bruto formula alkoholne fermentacije:  $C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{toplota}(40kJ)$

### 2.8.1 MIKROFLORA NA GROZDJU IN MOŠTU

Na površino grozdne jagode pridejo mikroorganizmi iz vinogradniških tal, z vetrom, z dežnimi kapljicami ali ob pomoči žuželk (Šikovec, 1993). Na število mikroorganizmov na grozdni jagodi vplivajo: temperatura, padavine, stopnja zrelosti, uporaba pesticidov, fizikalne poškodbe grozdja ter sorta (Košmerl, 2003). Največ mikroorganizmov je v zemlji po končani trgatvi. Na odpadlih zrelih in poškodovanih jagodah se mikroorganizmi zelo hitro razmnožujejo, ker imajo dovolj hrane, zraka in jeseni med trgatvijo tudi ugodno višjo temperaturo. V vzorcih zemlje pred zimo v vinogradih največ mikroorganizmov (Šikovec, 1993). Na grozdnih jagodah je populacija zelo raznovrstna. 95-98 % mikroorganizmov na jagodi predstavljajo bakterije in plesni. Na sestavo mikroflore v moštu ne vpliva le mikroflora na jagodah, ampak tudi na predelovalnih strojih, ter ukrepi med predelavo. Fizikalno-kemijski dejavniki, ki vplivajo na mikrofloro mošta so: pH, temperatura, prisotnost kisika, prisotnost hranil in inhibitorjev. Za zmanjšanje vplivov avtohtone mikroflore so pomembni: sanitacija,  $SO_2$ , dodatek hranil ter pravilna maceracijska in fermentacijska strategija (Košmerl, 2003).

### 2.8.1.1 Bakterije

Bakterij je največ na jagodah, ko so le-te poškodovane. Njihovo število se zmanjša, če izvajamo ukrepe, kot so predtrgatev in prebiranje. Med bakterijami prevladujejo rodovi *Bacillus*, *Pseudomonas* in *Micrococcus*, pa tudi mlečnokislinske in očetnokislinske bakterije. Mlečnokislinskih in očetnokislinskih bakterije veliko na grozdnih jagodah, pri predelavi grozdja pa preidejo v mošt. Zaradi nizke pH vrednosti in zaradi nastalega alkohola, ki delujeta kot selekcijsko sredstvo je število rodov s katerimi moramo opraviti pri proizvodnji vina sorazmerno majhno. Prisotne so:

#### - Mlečnokislinske bakterije

Mlečnokislinskih bakterij je prisotnih okoli  $10^3$  CFU/mL (Lisjak, 2002) in imajo dve lahko povsem različni vlogi; pozitivno (jabolčno-mlečnokislinska fermentacija) in negativno (bolezni) (Šikovec, 1993). Delimo jih na homo in heterofermentativne. Na začetku alkoholne fermentacije prevladujejo *Leuconostoc mesenteroides* in *Pediococcus damnosus*, od heterofermentativnih ter *Lactobacillus hilgardii*, v manjših količinah pa še *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus* in *Oenococcus oeni*. Delež posameznih vrst se med fermentacijo spreminja, kar je posledica različnih dejavnikov kontaminacije grozdja in kleti ter kislosti, ki močno vpliva na rast in preživetje bakterij. Heterofermentativne tvorijo iz sladkorjev mlečno in očetno kislino, lahko pa razgrajujejo tudi jabolčno kislino v mlečno. To se zgodi, ko v poznejših fazah fermentacije mošta stopi v ospredje vrsta *Oenococcus oeni* (Kastelec, 2001). V nadaljevanju so prisotni predvsem trije rodovi *Lactobacillus*, *Pediococcus* in *Oenococcus*. Vsi delujejo pri pH nad 3,5 (*Oenococcus* že nad 3,2). Tudi na alkohol so odporne; do 15 vol.% nimajo težav (Šikovec, 1993).

#### -Očetnokislinske bakterije

Očetnokislinske bakterije so vselej kvarljivci vina in povzročitelji različnih napak in bolezni. Očetnokislinske bakterije so zastopane na močno poškodovanih jagodah, kjer imajo optimalne razmere za razvoj. Za svoje razmnoževanje potrebujejo visoko temperaturo in kisik (Šikovec, 1993). Pogosto bakterije fermentacijo preživijo in se ob ugodnih pogojih začno razmnoževati in tvoriti očetno kislino, kar posledično vodi do kvara. Najbolj pogosto prisotne so *Acetobacter pasteurianus*, *A. aceti* in *Gluconobacter oxydans* (Kastelec, 2001). Da se jih znebimo je potrebno: -ločevati poškodovano grozdje, -čim krajši čas od trgatve do predelave, -bistrenje, -dodatek  $SO_2$  (Šikovec, 1993).

### 2.8.1.2 Plesni

Tudi populacija plesni je velika in raznovrstna. Prevladujoči rodovi so *Aspergillus*, *Penicilium*, *Rhizopus* in *Mucor* ter *Botrytis* (Boulton in sod., 1996). Predvsem so problematične plesni vrste *Botrytis cinerea*, ki pri okužbi grozdja delujejo kot kvarljivec. To je bolezen intenzivnega vinogradništva. *Botrytis* ima zelo bogat encimski kompleks. S celulazami in pektinazami razgrajujejo jagodne kožice; (pospeši pri nizki temperaturi in visoki vlažnosti). Pride do zunanjih sprememb s plesnivo prevleko. Tudi v notranjosti se dogajajo usodne spremembe. Plesen razgrajuje organske kisline (bolj vinsko kot jabolčno) in tvori nove iz sladkorjev (glukonska). Pospešuje razgradnjo antocianov pri rdečih sortah in tudi aromatskih snovi. Poleg osiromašenja s hranili in tvorbe novih sestavin, se zgodi tudi delna kondenzacija sladkorjev v polisaharide, te snovi delujejo kot zaščitni koloidi, ki se jih ne da prevreti in filtrabilnost zmanjšujejo. Galakturonska kislina, ki je na novo sintetizirana se v vinu veže s kalcijevimi ioni, še prej oksidira do sluzave in povzroči nestabilnost vina,



organoleptično pa ne moti. Poveča se koncentracija še naslednjih kislin: -oksalne, -oksalocetne, -ketoglutarne, -pirogrozdnne, -citronske (do trikrat), kar lahko povzroča bakterijsko nestabilnost, ter tvorbo acetaldehida, ki s prejšnjimi kislinami močno poveča porabo SO<sub>2</sub>. Do 60 % se zmanjša koncentracija dušikovih snovi. Poveča se negativna encimska aktivnost mošta (metilesteraze, lakaze). Hitro pride do oksidacije fenolnih snovi. Infeciran mošt je treba hitro žveplati ter hitro sprožiti alkoholno fermentacijo. Poškodovane jagode lahko prizadenejo tudi *Aspergillus* pri višjih temperaturah, pri nižjih pa *Penicillium*. V deževnih jesenih in pri višjih temperaturah tudi *Rhizopus*. V moštu se zmanjša koncentracija tiamina, kar povzroča zastoje fermentacije in večje koncentracije producirane acetaldehida. Plesni tolerirajo do 2 % v/v, alkohola. Ko pridejo spore in hife različnih plesni v mošt, pride do fizioloških sprememb zaradi pomanjkanja kisika, usedejo se na dno, se razmnožujejo z brstenjem in povzročajo hidrolizo pektina ter sladkorjev. Če se alkoholna fermentacija ne takoj začne, tvorijo na površini mošta jantarno, jabolčno in citronsko kislino in tako zmanjšajo pH. V nefermentiranem moštu lahko *Rhizopus* povpre do 2 % sladkorjev. Poleg neposredne škode, infekcija s plesnijo povzroči tudi posredno, saj je jagoda takrat idealno gojišče za številne druge mikroorganizme (Šikovec, 1993).

### 2.8.1.3 Kvasovke

Kvasovke predstavljajo od 2 do 5 % celotne populacije mikroorganizmov. Od tega je apikulatnih od 70-85 %, oksidacijskih (*Candida*, *Pichia*) od 3 do 5 %; pri nagnitih jagodah več. Visokofermentativnih je od 10-50 CFU/mL. Avtohtono prisotnih kvasovk, je z visoko fermentativno sposobnostjo je zelo malo. Kvasovke s šibko vrelnostjo, ki prevladujejo na površini grozdne jagode, so vedno začetnik spontane alkoholne fermentacije. V ozadje stopijo šele, po petih dneh alkoholnega vrenja, ko lastno proizveden alkohol (3-4 vol.%), ovira njihovo razmnoževanje in delovanje. Če kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* ni prisotnih, šibko vrelnost povprejo le do polovice sladkorja. (Šikovec, 1993). Število kvasnih celic na površini grozdne jagode varira od 10<sup>3</sup>- 10<sup>6</sup> CFU/mL. Odvisno je od lokacije vinograda, sanitarnih pogojev trgatve, klimatskih pogojev, predvsem pa od temperature in vlage. Vpliv sorte grozdja je majhen. Na grozdju najdemo kvasovko *Aureobasidium pullulans*, in kvasne vrste z oksidativnim metabolizmom ali z nizko fermentacijsko sposobnostjo. Med zadnjimi prevlada *Hanseniaspora uvarum* in njena imperfektna oblika *Kloeckera apiculata*. Te majhne kvasovke v obliki limon so dobile ime po ponavljajočem brstenju na obeh polih in predstavljajo 50 % celotne mikroflore, ki prekriva jagodo (Bubić, 2000). *Kloeckera*, ki absolutno prevladuje, daje prednost pri vrenju predvsem glukozi, tako da v drugem delu ostaja predvsem fruktoza. Nimajo encima invertaze, tako da niso sposobne uporabljati saharoze. Apikulatnih kvasovk se je treba v čim večji meri znebiti, ker je tako alkoholna fermentacija kakovostnejša. Tudi oksidativne kvasovke so prisotne, tudi te so začetniki spontane fermentacije, vendar imajo nizko vrelnostjo. Oksidativne kvasovke nam povzročajo težave kasneje, po vrenju, saj potrebujejo veliko kisika in če posoda ni pokrita, pride do spremembe senzoričnih lastnosti. Zmanjša se tudi koncentracija alkohola zaradi oksidacije, tako pride do nastanka večje koncentracije acetaldehida ter do zmanjšanja vsebnosti ekstrakta. Posoda naj bo vedno polna do vrha (Šikovec, 1993). Oksidativne kvasovke so še *Metchnikowia pulcherrima* in njena nesporna oblika *Candida pulcherrima*, kot tudi *Pichia anomala* in *Pichia membranofaciens*. Visoko fermentativne kvasovke kot je *Saccharomyces cerevisiae* najdemo v zelo majhnem številu na grozdju. Ko so sladkorji grozdja na razpolago se poveča populacija *Saccharomyces* kvasovk. V vinski kleti, površine prevlečene z moštom vključno z opremo, zagotovijo mesta nagle proliferacije številnih *Saccharomyces* in ne-*Saccharomyces* kvasovk (Bubić, 2000).

## 2.8.2 KVASOVKE

Kvasovke so evkariontski mikroorganizmi, netaksonomska skupina gliv, definirana z ozirom na morfološke in fiziološke značilnosti (Raspor, 1996). Imajo izjemno mesto v človekovi zgodovini. Čeprav se ni zavedal njihovega obstoja je človek že pred tisočletji opazil aktivno vlogo kvasovk v naravnih procesih kot je fermentacija sadnih sokov in jih tudi uporabil za pridobivanje hrane. Danes so kvasovke najpomembnejša skupina mikroorganizmov, ki jih človek uporablja v komercialne namene. Kvasovke so na široko uporabljene v modernih in tradicionalnih biotehnologijah. Uporabljajo se za proizvodnjo biomase, alkoholnih pijač in metabolnih produktov. Mnoge kvasovke povzročajo tudi kvar hrane, ker so prilagojene za življenje v ekstremnih razmerah. Med kvasovkami so tudi patogene vrste, kot na primer *Candida albicans* (Mavc, 2000). Kvasovka ima posebno mesto v tehnologiji raziskav dednine, obnašanja evkariotov in kot ekspresijski organizem za številne proteine. Še posebej je zanimiva zaradi svoje prisotnosti v človeški družbi kot GRAS organizem zato jo tako lahko uporabljamo tudi za raziskovalna dela, kjer nebi uspeli z nobenim drugim mikroorganizmom (Raspor, 1996).

### 2.8.2.1 Klasifikacija kvasovk

Prva stopnja klasifikacije kvasovk temelji na načinu njihovega spolnega razmnoževanja. Razdelimo jih v dva razreda *Ascomycetes* in *Basidiomycetes*. V primeru, da kvasovke v svoje življenjskem ciklu nimajo spolne oblike, jih uvrstimo v razred *Deuteromycetes* oziroma *Fungi imperfecti*. Askomicete ali zaprtotrosnice so skupina višjih gliv. Zanje so značilne askospore, ki nastanejo spolno (izjemoma partenogenetsko) v askih. Z brstenjem se iz askospor razvijejo vegetativne oblike. Spolne spore bazidiomicet ali odprtotrosnic se imenujejo bazidiospore in nastanejo na bazidijih. Brstenje je pri askomicetah holoblastno v nastajanje celične stene brsta je vključena celotna celična stena materinske celice. Pri bazidiomicetah pa je enteroblastna, v proces je vključen le zunanji sloj celične stene materinske celice. Razlikujeta se še po strukturi celične stene in načinu produkcije spolnih spor. Med nepravne glive uvrščamo kvasovke, ki nimajo spolnega razmnoževanja. Prištevamo jih v dve deuteromicetni družini *Sporobolomycetaceae* in *Cryptococcaeae*. Med vinskimi kvasovkami so najpogostejši rodovi *Sporobolomyces*, *Rhodotorula* in *Cryptococcus*, za katere je značilno, da imajo bazidiomicetne teleomorfe. Do dvojne taksonomije prihaja še pri vinskih kvasovkah rodu *Kloeckera* (spolni teleomorf *Hanseniaspora*) in *Candida pulcherrima* (*Metchnikowia*). Uvrščanje kvasovk v nižje taksonomske enote temelji na različnih morfoloških, fizioloških in genetskih kriterijih. Ker klasifikacija kvasovk na podlagi fenotipskih lastnosti ni povsem zanesljiva, se jo uporablja v kombinaciji z molekularnimi metodami, ki temeljijo na analizah in primerjavah zaporedij DNA (Polanc, 2001).

### 2.8.2.2 Morfologija in celična organizacija

Kvasovke so drobne enocelične glive. Prevladujoča enoceličnost ni zgolj odlika kvasovk. Posledica takšne oblike so: - velika stična površina z okoljem in zato intenzivnejša izmenjava snovi, - zelo hitro razmnoževanje, - velika razširjenost v naravi in intenzivna presnova, v primerjavi z istimi pojavi pri vseh drugih glivah. Prav zaradi teh lastnosti, zlasti pa zaradi močnega vpliva na biokemične spremembe okolja, ki so posledica intenzivne presnove, imajo tako velik pomen v živilski industriji. Celice so obdane z rigidno celično steno, ki je sestavljena iz glukanov, mananov in proteinov, kar omogoča celicam, da preživijo v okolju s spremenjenim osmotskim tlakom. Pod celično steno je periplazemski prostor, kjer so locirani sekretorni proteini. Celična citoplazma je obdana s periplazemsko membrano, ki služi kot glavna bariera permeabilnosti. Kvasovke imajo tudi subcelularne organele, ki so značilni za višje evkariontske organizme. Prisotno je membransko jedro, endoplazmatski retikulum, golgijeva telesca in sekretorni vezikli. Prisotni so tudi mitohondriji. *Saccharomyces cerevisiae* lahko obstajajo tudi brez mitohondrijev (PETIT mutanti). Vsebujejo tudi vakuole, ki služijo kot mesto za hidrolizo makromolekul in shranjevanje pomembnih vodotopnih snovi (Bubić, 2000).

### 2.8.2.3 Zimocidna aktivnost

Posebno mesto med vinskimi kvasovkami imajo tiste z zimocidno aktivnostjo ali »killer kvasovke«. Te so sposobne izločati encim (zimocin), ki je letalen za t.i. občutljive seve (toksin jih ubije). Nevtralni sevi ga ne producirajo in so rezistentni nanj. Determinante zimocidnega fenotipa so: - citoplazemske; iz dveh tipov RNA združenih s proteinsko kapsido, ki skupaj formirajo delec virusnega tipa, - jedrne; odgovorni geni so treh tipov: - gen za vzdrževanje, - gen za ekspresijo, - in gen za rezistenco na toksin. Zimocidne so lahko *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Candida* in *Pichia*. Zimocin je glikoprotein, ki se veže na citoplazemsko membrano, po latentnem času, ki je variabilen pride do inhibicije sinteze makromolekul, izločanja ATP, in aktivnega transportnega sistema za amino kisline. Odporen je na 40 °C eno uro. Zimocin je med glavnimi faktorji za zaustavitev rasti selekcioniranih sevov. Zimociden efekt je opazen šele pri razmerju 1:1, med zimocidno in občutljivo kvasovko (Bubić, 2000).

### 2.8.2.4 Celična agregacija in adhezija

Nekateri avtorji vidijo v samodejnem koncentriranju kvasne biomase, ki jo povzročata agregacija in adhezija poseben pomen. Prva ima pomembno tehnološko mesto v tehnologiji fermentiranih pijač. Ta fenomen je zaradi svoje pomembnosti, intenzivno proučevan, še posebno genski in okoljski vplivi na flokulacijo (Raspor, 1996).

### 2.8.2.5 Razmnoževanje kvasovk

#### 2.8.2.5.1 VEGETATIVNO RAZMNOŽEVANJE

##### -Brstenje

Brstenje je najpogostejši način. Ko celica doseže kritično velikost (takrat je tudi konec sinteze DNA) Na nekem mestu celične stene nastane majhna izboklina zaradi notranjega pritiska na citoplazmo. Na tem mestu se tudi začne sinteza materiala za celično steno. Med brstenjem sta celici povezani raste pa le hčerinska. Ko se mitoza konča in se na novo nastali organeli

preselijo v brst se začne tvorba septuma, ki dokončno loči materinsko in hčerinsko celico. Poznamo: -multilateralno (na površini, nikoli dvakrat na istem mestu), -bipolarno (na polih), -monopolarno (brsti iz enega pola), -unipolarno (brsti vsakič na istem mestu), - in brstenje na pecljih (Polanc, 2001).

#### -Celična delitev

Celična delitev je značilna za rod *Schyzosaccharomyces*. Do delitve pride zaradi septuma, ki razdeli materinsko na dve hčerinski celici. Brazgotina ne nastane (Polanc, 2001).

#### -Filamentozna rast

Filamentozna rast se pojavlja pri mnogih vrstah kvasovk in jo lahko smatramo kot alternativni način vegetativnega razmnoževanja. Pojavi se kot način prilagoditve kvasovk na neugodne razmere. Je reverzibilen način. Kvasovke tvorijo psevdohife in prave hife. Filamentozna rast pri kvasovkah sovpada z njihovo patogenostjo za rastline živali in ljudi. Enako velja tudi za industrijsko pomembne kvasovke. Pri teh je filamentozna rast povezana s sposobnostjo izločanja hidrolitičnih encimov (Polanc, 2001).

### **2.8.2.5.2 SPOLNO RAZMNOŽEVANJE**

Spolna stanja imajo lahko pri kvasovkah dve pojavnosti; konjugacijsko in oblikovanje spor. Prvi pojav je značilen za homo in heterotalične kvasovke. Konjugacija omogoči združitve dednine, tako med neodvisnimi celicami, kot med starševsko celico in brstom. Konjugacija je dokazana samo pri askomicetnih in bazidiomicetnih kvasovkah, medtem ko pri deuteromicetnih ni poznana (Polanc, 2001).

### **2.8.2.6 Posebnosti metabolizma saharidov**

Posamezne vrste kvasovk so sposobne asimilirati različne vrste saharidov. Njihov potencial je povezan s transportnimi sistemi v celični membrani in razpoložljivimi hidrolitičnimi encimi izločenimi v okolje, da bi preoblikovali disaharide ali oligosaharide do oblike, ki je sposobna prestopiti celično pregrado. Vpliv prisotnosti in odsotnosti kisika ter različnih sladkorjev na fermentacijsko sposobnost kvasovk je bil v preteklosti označevan s posebnimi pojmi. Pasteurjev efekt označuje inhibicijo fermentacije v prisotnosti kisika. Ta efekt ni pogost v rastočih kulturah kvasovk, pač pa se pojavi pri nizki hitrosti porabe sladkorjev v odprtih bioprocesih z nizko hitrostjo razredčevanja. Crabtree efekt v splošnem pripisujemo represiji z glukozo. Kvasovke delimo na Crabtree pozitivne in negativne. Ta se pojavlja v aerobnih razmerah rasti. Ločimo med kratkotrajnim in dolgotrajnim. Custurjev efekt ali negativni Pasteurjev efekt, je pojmovan kot inhibicija fermentacije pri odsotnosti kisika. Pojasnjen je kot posledica motenega redoks ravnotežja v anaerobnih razmerah. Kluyverov efekt je pojmovan kot inhibicija fermentacije nekaterih disaharidov ob odsotnosti kisika, čeprav anaerobna fermentacija glukoze še vedno poteka. Efekt je pojasnjen z limitacijami pri transportu (Raspor, 1996).

### **2.8.2.7 Vinske kvasovke**

Z imenom vinske označujemo vse tiste, ki sodelujejo pri fermentaciji mošta in vina. Njihove glavne funkcije so: -pričnejo, vodijo in zaključijo alkoholno fermentacijo, -lahko kvarijo vina med stekleničenjem, v kleti in po stekleničenju, - in vplivajo na kakovost vin z avtolizo (če se ne izvrši mikrofiltracija mladega vina). Če želimo popolnoma razumeti vlogo posamezne

vrste kvasovk med fermentacijo, je potrebno poznati naslednja dejstva: -taksonomsko ime, - kinetika rasti kvasovk med fermentacijo, -biokemične lastnosti, - in vpliv tehnologije fermentacije na kinetiko rasti in kemične spremembe ki jih ta vrši (Pečjak, 1997).

Glede na sposobnost fermentacije sladkorja jih delimo na: -močno vrelna (*S. cerevisiae*), - šibkovrelna (*Kloeckera*), -kvasovke kana ali berse (*Candida*, *Hansenula*, *Pichia*, *Torulopsis*).

*Saccharomyces cerevisiae*: Vrste oziroma sevi rodu *Saccharomyces* se razlikujejo med seboj po fermentacijskih lastnostih in po stopnji odpornosti na etanol, vendar jih je s klasičnimi metodami težko razvrstiti. Od razvoja modernih metod klasifikacije in identifikacije, je prišlo do določenih sprememb. Prej so uvrščali kvasovke iz rodu *Saccharomyces* v tri skupine:

-*S.cerevisiae* var. *Ellipsodeus* (danes *S. cerevisiae*),

-*S.oviformis* (danes *S. cerevisiae*); ne fermentira galaktoze,

-*S. uvarum* (danes *S.bayanus*).

Danes je poznanih 14 vrst iz rodu *Saccharomyces*. Od teh se vrste *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* in *S. paradoxus*, uvršča v skupino *Saccharomyces sensu stricto* (Pečjak, 1997). Kvasovka *Saccharomyces cerevisiae* spada v skupino *Ascomycetes*. Ta skupina ima več kot 2000 rodov. Nekateri rodovi živijo v zelo vlažnem oziroma vodnem okolju, drugi pa parazitirajo na rastlinah. Razmnožuje se s sporami (askosporami), ki so v askusih (1-4, ovalne), vendar je ta način razmnoževanja industrijsko nezanimiv. Pomembnejše so vegetativne vrste razmnoževanja. Največ se razmnožujejo z brstenjem, za *Saccharomyces cerevisiae* je značilno multipolarno. V idealnih pogojih ciklus traja dve uri. *Saccharomyces cerevisiae* so ovalne oblike, barva kolonije na trdem gojišču je krem, njena površina je hrapava, rob pa narezljan. Asimilira dušikove spojine v obliki amonijaka. Glede rastnih pogojev ni zahtevna; rastejo do  $a_w$  0,90, optimalni pH za rast je od 6-7, optimalna temperatura za rast je 28 °C, za fermentacijo pa med 32-35 °C. Kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* so Crabtree pozitivne (Bizaj, 2004).

#### -Kemična sestava kvasovk

V povprečju predstavlja kvasovko 75 % vode in 25 % suhe snovi. Suho snov predstavljajo proteini (30-75 %), ogljikovi hidrati (25-50 %), maščobe (2-5 %), minerali (5-10 %). Kemijska sestava določa potrebe mikroorganizmov po substratu, na koncu alkoholne fermentacije, ko kvasovke avtolizirajo, pa pomembno vpliva na ostale mikroorganizme (Povhe-Jemec, 1997).

#### -Viri energije

V primerjavi z mnogimi mikroorganizmi so kvasovke rodu *Saccharomyces*, precej limitirane v komponentah, ki jih lahko uporabljajo kot vir energije in ogljika. Za substrat lahko služijo: - monosaharidi (glukoza, fruktoza, manoza, galaktoza), -disaharidi (saharoza, maltoza, melibioza), - in trisaharid (rafinoza). Ne fermentira pentoz. Substrati, ki podpirajo oksidativno rast so limitirani (piruvat, laktat, etanol, acetat, glicerol). Organskih kislin ne morejo uporabiti kot substrat, razen nekaterih sevov, ki lahko izkoriščajo jabolčno kislino (Bubić, 2000).

### **2.8.2.8 Izvor *Saccharomyces cerevisiae***

Veliko časa je veljalo, da je glavni vir vinskih kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* površina grozdja. Izkazalo se je, da so te kvasovke redkokdaj izolirane iz naravnih substratov, vključeno z zemljo v vinogradu in površino zrele jagode. Rod *Saccharomyces* je prisoten na jagodi v koncentraciji manj kot 50 CFU/mL. Ker je kvasovka *Saccharomyces cerevisiae* prisotna v tako nizki koncentraciji se lahko zgodi, da jo z metodo direktne nacepitve ne

zasledimo. Z uporabo bolj izpopolnjenih izolacijskih metod; klasične genetske analize in elektroforetske kariotipizacije, obstajajo dokazi, da je vinograd primarni izvor kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* (Mortimer in Polsinelli, 1999).

### 2.8.2.9 Vinske kvasovke na začetku spontane fermentacije

Spontana je tista fermentacija, pri kateri ne dodamo inokuluma starterske kulture. Pričnejo jo asimilativne kvasovke rodu *Kloeckera*, ki absolutno prevladajo na jagodi že med zorenjem. V rodu *Kloeckera* je najbolj zastopana *Kloeckera apiculata*, ki po svoji obliki spominja na limono. Pri spontani alkoholni fermentaciji je najbolj zastopana v začetni fazi. Faza traja od 2 do 5 dni. Kvasovke vrste *Kloeckera apiculata* proizvajajo več hlapnih kislin in acetaldehida in niso sposobne povreti vsega sladkorja. Povrejo lahko le do 4-6 vol.% alkohola, kjer jih ta v nadaljevanju inhibira. Občutljive so na SO<sub>2</sub>, s katerim lahko preprečimo začetek njihovega delovanja. Na drugem mestu po številčnosti v moštu so kvasovke rodu *Candida*. Prisotni pa so še rodovi: *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Metchnikowia*, *Hansenula*, *Torulasporea*, *Rhodothorula*, *Issatchenkia*, *Debaryomyces* in *Torulopsis* ter v zelo majhni koncentraciji *Saccharomycodes ludwigi*. Rod *Torulopsis* se največ pojavlja v moštu iz grozdja okuženega s plesnijo. Redno ga najdemo pri fermentaciji posebnih vin. Presnavlja večinoma fruktozo, glukoze potrebuje le 5 %. Kvasovka je osmofilna in najbolj uspeva pri 30-35 °C. Občutljiva je na nizke temperature. Pogosto nastopa z vrsto *Kloeckera apiculata*, sposobna je tvoriti do 10,8 vol.% alkohola izjemoma do 12,5 vol.% (Povhe-Jemec, 1997).

### 2.8.2.10 Vinske kvasovke med burno fazo fermentacije

Vrh fermentacije je, ko se presnovi 45-55 % sladkorjev. Faza burne fermentacije traja od 3 do 4 dni. Prevlada je v rokah visoko fermentativne kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*. Koncentracija *Saccharomyces cerevisiae* doseže do 10<sup>8</sup> CFU/mL (Povhe-Jemec, 1997). Veliko fizioloških parametrov omogoča kvasovki *Saccharomyces cerevisiae* prevlado pri alkoholni fermentaciji mošta. Ima visoko toleranco na alkohol, ki je glavna prednost, ki ji omogoča preživetje. Ostala mikroflora nima tako visoke tolerance, razen nekaterih kvarljivcev (*Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*). Toleranco ima tudi na visoke temperature (tudi do 38 °C), medtem ko je rast večine ne-*Saccharomyces* kvasovk inhibirana pri temperaturi nad 25 °C. Uspešna kompeticija za limitirajoče komponente je prav tako faktor, ki v mešani mikrobnih združbi oziroma fermentaciji prispeva k prevladi ene vrste oziroma rodu ali druge. Pomembna je odpornost na SO<sub>2</sub>, nizek pH in nič manj ni pomembna zimocidna aktivnost (Bubić, 2000). Populacija kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, ki je prisotna od druge faze pa do konca je poliklonska. Za dominantni sev lahko smatramo, da je najbolje prilagojen na pogoje fermentacije. V posameznih fazah fermentacije prevladujejo različni sevi *Saccharomyces cerevisiae*. Proti koncu fermentacije se število sevov zmanjša zaradi selekcijskega pritiska. Lahko se zgodi, da je v nekaterih kletih dominantnih nekaj sevov (Pečjak, 1997). V fazi burne fermentacije ni prisotna le vrsta *Saccharomyces cerevisiae*, ampak je prisotna še *Kloeckera*, umakneta se rodova *Candida* in *Torulopsis*, vendar ne povsem izgineta. V zelo nizki koncentraciji se pojavi še *Pichia membranofaciens* (Povhe-Jemec, 1997).

### 2.8.2.11 Vinske kvasovke na koncu fermentacije

Burna fermentacija se prevesi v tiho, ko je v substratu ostalo le še malo nepovretega sladkorja. V tem obdobju je prisotna predvsem kvasovka vrste *Saccharomyces cerevisiae*; v nekaterih raziskavah so v fazi tihe fermentacije zasledili tudi vrste *Saccharomyces bayanus*, *Candida famata* in *Pichia membranofaciens*. Faza traja do 10 dni, koncentracija kvasovk pa je do  $10^6$  CFU/mL (Povhe-Jemec, 1997). Vrste *Candida famata* in *Pichia membranofaciens* sta prisotni zaradi vdora zraka. Pri nizkih temperaturah fermentacije ( $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), so lahko vrste iz rodov *Hanseniaspora* in *Candida* prisotne tekom celotne fermentacije in se nahajajo tudi v vinu (Pečjak, 1997).

Zaključek fermentacije, oziroma v fazi pojemanja število celic pade pod  $10^3$  CFU/mL. Traja lahko tudi več tednov (Pečjak, 1997).

### 2.8.2.12 Spontana ali vodena alkoholna fermentacija

Spontana fermentacija traja veliko dlje od vodene in je mnogo bolj nepredvidljiva. Pogosto jo izvajajo v butičnih kletih, kjer želijo ohraniti razpoznavnost lastnih vin. Endogeno prisotne kvasovke tvorijo večje koncentracije glicerola in ostalih polioloval, kar se odrazi v razpoznavni senzorični kakovosti, polnosti in zaokroženosti vin. Velik doprinos k temu ima tudi zapoznela lag faza pred nastopom burne alkoholne fermentacije, ki omogoči reakcije antocijanov in ostalih fenolov s kisikom, še pred pojavom etanola (Pretorius, 2002). Omenjene reakcije povečajo obstojnost barvil v rdečih vinih in pospešijo polimerizacijo fenolov. Zaradi določenih pomanjkljivosti vin pridobljenih s spontano fermentacijo (višje koncentracije acetaldehida, pirogrozodne kisline,  $\alpha$ -ketoglutarjeve kisline, preostanka sladkorjev), ki pomenijo veliko obremenitev vina z  $\text{SO}_2$ , se pogosto uporablja predvsem relativno in tudi absolutno čista vodena fermentacija. Pri relativno čisti fermentaciji s tehnološkimi postopki bistrenja (centrifugiranje, filtracija), mošta močno posežemo v naravno mikrofloro. Predvsem zmanjšamo število apikulatnih kvasovk, katerim na začetku primanjkuje encima alkohol dehidrogenaze, posledica tega bi bila večja koncentracija acetaldehida. Pri absolutno čisti fermentaciji se mošt pasterizira (Arbeiter, 1999). V modernih vinskih kletih se večinoma uporablja selekcionirane seve *Saccharomyces cerevisiae*, ki so jamstvo za hitro, učinkovito in predvidljivo fermentacijo. Te dajejo skladnost okusa in vonja po zaključeni fermentaciji. Inokulum se dodaja v mošt po bistrenju in/ali žveplanju, da se zmanjša ali zavre delovanje avtohtone mikroflore. Selekcioniran sev omogoča hitro in popolno pretvorbo sladkorjev v etanol v veliko krajšem času. Opaziti je manj razlik med vini vzporednih letnikov in večjo skladnost v senzoričnih lastnostih določenega vina v okviru geografskega področja. Potrebno je poudariti, da uporaba inokuluma ni vedno porok za preprečitev rasti in metabolne aktivnosti endogeno prisotnih ne-*Saccharomyces* kvasovk in sevov *Saccharomyces cerevisiae*, ki so vezani na klet. Naravno prisotna mikrobna združba vinograda in vinske kleti vpliva tako na spontano kot na vodeno alkoholno fermentacijo (Pretorius, 2002).

### 2.8.2.13 Selekcionirane vinske kvasovke

Začetki uporabe inokuluma v procesu alkoholne fermentacije segajo v leto 1890, ko je uspelo Müller-Turgau-u, prepričati nemške vinarje o prednostih, ki jih ponuja vodena alkoholna fermentacija. Prva komercialna priprava dveh sevov vinskih kvasovk za kalifornijsko klet je stekla okoli leta 1965. Njun uspeh je bil omejen, saj se je izkazala potreba po specializiranih sevih *Saccharomyces cerevisiae*, primernih za posebna vina. Pojavile so se nove specifične zahteve vinarjev (Pretorius, 2002). Danes se večinoma uporabljajo lokalne selekcionirane

kvasovke, ki so najbolj prilagojene na okolje in zagotavljajo vzdrževanje tipičnih senzoričnih lastnosti neke regije. Selekcionirane kvasovke imajo naslednje sposobnosti: -hiter začetek alkoholne fermentacije, -enakomerna in popolna fermentacija, -rast pri nizki temperaturi, -odpornost proti na SO<sub>2</sub>, -odpornost na etanol, -majhna tvorba H<sub>2</sub>S, hlapnih kislin in acetaldehida, -zmerna tvorba višjih alkoholov, -tvorba glicerola, -prisotnost killer faktorja, -flokulacija na koncu fermentacije, - in majhna sposobnost penjenja (Vatta, 2001).

#### 2.8.2.13.1 STARTER KULTURE

Ko je opravljena identifikacija dobrega seva, z zgoraj naštetimi zahtevami, se jo lahko uporablja kot starter kulturo. Starter kultura naj bi bila dostopna v suhi in tekoči obliki. Kakršnakoli je starter kultura, njena količina mora biti dovolj velika, da omogoča dokončno fermentacijo.

##### -Aktivne suhe kvasovke

Aktivne suhe kvasovke so najbolj uporabljene v zadnjih časih. Proizvedene so kot pekovski kvas v aerobnih pogojih z majhnimi koncentracijami glukoze. To omogoča majhno tvorbo etanola in veliko tvorbo preživelostnih faktorjev (steroli, maščobne kisline). Prodajajo se v hermetično zaprti embalaži. Ohranjajo aktivnost do enega leta, če so hranjene pri nizkih temperaturah. Pri sušenju membrane izgubijo njihovo barierno funkcijo, ki jo na najboljši način reaktiviramo, tako da jih damo v 10-kratno količino vode pri 40 °C za 20 minut. Dozira se jih po 20-40 pri belih in od 30-50 g/hL pri rdečih sortah.

##### -Tekoči inokulum

Tekoči inokulum se uporablja le v velikih kletah, kjer imajo mikrobiološke laboratorije, v katerih hranijo posamezne seve. Ta je edina prednost tekočih inokulumov, da se lahko uporabi željene lastne seve. Slabost te vrste inokuluma je časovno potratno prenašanje v večje skale in zahtevnost dela. Dodaja se ga kot 2 % aktivnega volumna posode (Boulton in sod., 1996). Prednosti vodene fermentacije so: -predvidljivost, -kontrola nad kvarljivci, -povečanje sortnih karakteristik, -manj nezaželenih produktov, -hiter začetek, -dokončna fermentacija, - in dominacija *Saccharomyces* kvasov skozi celotno fermentacijo (Košmerl, 2005).

#### 2.8.2.14 Kinetika rasti kvasovk v zaprtem bioprocesu

Zaprte so tisti bioprocesi pri katerih vnesemo inokulum na sterilizirano ali nesterilizirano gojišče. Mikroorganizmi se razmnožujejo do trenutka, ko se pogoji za rast izčrpajo in prične koncentracija biomase padati. Spremljanje koncentracije, oziroma števila kvasnih celic ali biomase v gojišču daje značilno krivuljo, imenujemo jo rastna krivulja. Sestavljena je iz več faz. Krivulje so za vsako vrsto specifične in odvisne od številnih ekoloških faktorjev.

Lag faza ali faza prilagajanja; pri vodeni alkoholni fermentaciji je to reaktivacija starter kulture in dodatek le-te v mošt ter adaptacija kulture na nove življenjske pogoje. Pri spontani alkoholni fermentaciji je to čas, ko pridejo vsi endogeni mikroorganizmi v mošt ter adaptacija avtohtone kulture na nove življenjske pogoje. Lahko je daljša ali krajša, kar je odvisno od sposobnosti biokulture, da prilagodi svoj encimski sistem novo nastalim razmeram v okolju. Fazo prilagajanja lahko opišemo s specifično hitrostjo rasti, ki se giblje okoli nič ( $\mu=0 \text{ h}^{-1}$ ), (Raspor, Smole-Možina, 1993). Naslednja faza je faza pospešene rasti ( $\mu$  narašča),  $dx/dt=\mu x$ . To obdobje lahko opišemo kot obdobje razmnoževanja kvasovk. Za pravilen potek fermentacije je potrebna dovolj visoka koncentracija kvasovk. Zagotavljanje dovolj visoke koncentracije biomase poteka z intenzivnim razmnoževanjem kvasovk, z brstenjem.



Koncentracija celic narašča do  $10^8$ - $10^9$  CFU/mL. Traja v odvisnosti od vrste alkoholne fermentacije. V tem času potekajo v kvasni celici pomembni procesi ob prisotnosti kisika. Ko kvasovke dosežejo vrednost maksimalne specifične hitrosti rasti ( $\mu = \mu_{\max}$ ) govorimo o eksponentni fazi, ki jo opisujemo z enačbo  $dx/dt = \mu_{\max} \cdot X$ . V moštu poteka takrat faza burne alkoholne fermentacije. Po intenzivnem razmnoževanju ob prisotnosti zraka se vzpostavijo anaerobni pogoji in kvasovke prisilijo, da koristi sladkor iz mošta in si zagotavlja energijo na anaeroben način. V tem obdobju se običajno tvori od 5-8 vol. % etanola. Zaradi intenzivnega nastajanja  $CO_2$ , prihaja do konvekcijskega gibanja, ki razbija kolonije kvasovk na posamezne celice. V tem času se v kvasovki kopičijo maščobe in glikogen, ki predstavljajo rezervne zaloge za obdobje, ko zmanjka sladkorja. Koncentracija celic se poveča v ti fazi na  $10^9$  CFU/mL. Faza traja okoli 3-4 dni. Ko pričnejo nakopičeni metaboliti in pomanjkanje hranil ovirati normalno eksponentno rast, se začne faza pojemajoče rasti. To zakonitost bioprocesov je že leta 1943 ovrednotil Monod, z izrazom  $\mu = \mu_{\max} (S/K_s + S)$ .  $S$  je koncentracija substrata (g/L),  $K_s$  je koncentracija zasičenja (g/L),  $\mu$  je specifična hitrost rasti ( $h^{-1}$ ),  $\mu_{\max}$  pa je maksimalna specifična hitrost rasti.  $\mu_{\max} = (\ln X/X_0)/t$ ,  $K_s = \mu_{\max}/2$  (na grafu  $\mu$  v odvisnosti od  $S$ ).  $K_s$  je koncentracija substrata pri katerem je hitrost rasti enaka polovici maksimalne. V fazi pojemajoče rasti v moštu popolnoma zmanjka sladkor; celica začne izkoriščati rezervne snovi. Fazi pojemajoče rasti sledi stacionarna faza. Stacionarna faza traja do 10 dni. Koncentracija celic se ne manjša, ampak je konstantna ( $\mu = 0 h^{-1}$ ). Kvasovke še naprej izkoriščajo rezervne snovi in jih pretvarjajo v etanol in ostale stranske produkte. Organizem se izčrpava, premer celic se zmanjšuje in protoplazma dobiva znato strukturo. Zaradi zmanjševanja sproščanja  $CO_2$  se vino umirja, kvasovke pa se začnejo usedati na dno. Stadij odmiranja populacije zaznamo kot padanje koncentracije celic in prenehanja sinteze etanola. Matematično jo opišemo  $dx/dt = -\beta x$ .  $\beta$  je specifična hitrost odmiranja. Popolno izčrpanje kvasovk in nastali alkohol povzročita, da začnejo kvasovke odmirati. Do odmrtnosti posameznih celic pride še pred zaključkom fermentacije. Med fermentacijo se izmenja 4-5 generacij. Stadij avtolize; v tej fazi začnejo encimi lizirati beljakovine in ostale sestavine na osnovne gradnike, ki se sprostijo v vino. (Arbeiter, 1999); (Pečjak, 1997); (Povhe-Jemec, 1997); (Raspor in Smole-Možina, 1993).

### 2.8.2.15 Vpliv ekoloških faktorjev na delovanje kvasovk med alkoholno fermentacijo

#### 2.8.2.15.1 OBDELAVA GROZDNEGA SOKA

Proces čiščenja grozdnega soka vpliva na populacijo endogenih kvasovk ter na sam potek alkoholne fermentacije. Tehnika čiščenja vpliva na dva načina: -omejitev delovanja endogene populacije z njenim zmanjšanjem, -pospeši selektivno rast posameznih vrst kvasovk v moštu in poveča njihov vpliv na vino. Centrifugiranje in filtriranje močno zmanjšata populacijo kvasovk prisotnih v grozdnem soku. Hladna stabilizacija poveča možnosti kvasovkam, ki rastejo pri nižjih temperaturah. V grozdnih sokovih, ki so bili podvrženi ekstremnemu čiščenju (npr. vakuumska filtracija), imajo dobro prilagojeni sevi kvasovk veliko večje možnosti pred ostalimi za razvoj velike populacije. Bistrenje s samousedanjem povzroči spremembo v korist endogeno prisotne *Saccharomyces cerevisiae* in kvasovk, ki so sposobne tvoriti filme. Postopki čiščenja vplivajo tudi na kemijske komponente. Danes so v uporabi predvsem močno filtriranje, centrifugiranje, uporaba encimov, bentonita in silikagela, ti postopki veliko bolj zmanjšajo komponente grozdnega soka, kot bistrenje s samousedanjem. Postopki obdelave grozdnega soka imajo lahko v posameznih alkoholnih fermentacijah doprinos k zmanjšanju hitrosti ali celo zaustavitvi alkoholne fermentacije (Povhe-Jemec, 2003).

#### 2.8.2.15.2 OSMOTSKI STRES

V procesu alkoholne fermentacije so kvasovke lahko izpostavljene visoki koncentraciji sladkorja, preko 200 g/L. Tekom fermentacije se koncentracija sladkorja zmanjšuje na račun etanola in CO<sub>2</sub>. Celica mora stalno vzdrževati njeno obliko in aktivnost. V celici morajo delovati sistemi za zaznavanje in odziv na zunanje spremembe, ter za spremembe, ki nastajajo kot posledica delovanja lastnega metabolizma. Kvasovka vrste *S. cerevisiae*, najverjetneje zaznava s proteini na membrani. Hiperosmotski stres povzroča stalno in hitro izgubo vode. Hitro obrambo pred osmozo povzroča funkcionalna vakuola, ki zavzema 50 % prostornine kvasovke. Za *Saccharomyces cerevisiae* je značilna osmoregulacija z glicerolom, ki nastaja kot posledica njenega metabolizma. Intermediat pri sintezi glicerola je dihidroksi-aceton-fosfat, ki kot vezni člen sodeluje v glikolizi in glukoneogenezi. Na koncu alkoholne fermentacije pride do stresa, ki je povzročen na račun pomanjkanja glukoze. V nasprotju s *Saccharomyces* kvasovkami, večina ne-*Saccharomyces* kvasovk sprejema glukozo z aktivnim transportom, kar pomeni porabo energije; kvasovke *Saccharomyces* so v prednosti v tem primeru (Povhe-Jemec, 2003). Pri koncentracijah sladkorjev nad 250 g/L se začetek fermentacije podaljša, več preostane nefermentiranega sladkorja na koncu alkoholne fermentacije, poveča se občutljivost na etanol, življenjska moč se zmanjša ter delno pride tudi do plazmolize (Arbeiter, 1999).

#### 2.8.2.15.3 DUŠIKOVE SPOJINE

Kvasovke lahko uporabljajo anorganski dušik (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) in kar precej organskega (urea, aminokislina, peptidi). Amonijevi ioni so primeren vir dušika za vse kvasovke, vendar so ga le-te sposobne pretvoriti preko  $\alpha$ -keto-glutarata, v le redke amino kisline (glutamat glutamin). Porabljajo se v anabolnih (strukturni proteini in funkcionalni encimi) in v katabolnih procesih. V primeru povečane koncentracije etanola lahko zaradi enakega načina transporta (s hkratnim vnosom protona) ugasne transport aminokislin. Optimalni nivo aminokislin v moštu je med 400 in 500 mg/L, vsekakor pa ne sme biti manjši od 140mg/L. Amonijevi ioni se porabijo že na začetku, nato pa sledi izkoriščanje aminokislin (Povhe-Jemec, 2003). Zmanjšanje koncentracije dušikovih spojin v moštu lahko povzroči *Botrytis cinerea*, kar ima za posledico ireverzibilno inaktivacijo transporta sladkorjev zaradi pomanjkanja amoniaka, kar je lahko eden izmed vzrokov za prepočasno ali nedokončano fermentacijo. V ekstremnih pogojih, pomanjkanje lahko privede do zaustavitve sinteze encimov in proteolize ter zaustavitve alkoholne fermentacije. Pri nezadostni koncentraciji dušikovih spojin kvasovke vključujejo žveplo vsebujoče aminokislina, tako da nastane H<sub>2</sub>S in močno prizadene aromo (Arbeiter, 1999). Pomembne so tudi dušikove snovi; za sintezo višjih alkoholov, preko tako imenovane Eherlichove poti (Povhe-Jemec, 2003).

#### 2.8.2.15.4 ETANOL

Etanol je glavni metabolni produkt alkoholne fermentacije in povzroča kvasovkam stres že v majhnih koncentracijah. Postopno dodajanje etanola v substrat s kvasovkami kaže na neposredno povezavo med količino dodanega etanola in stopnjo upočasnitve fermentacije. Etanol zmanjša rast kvasovk, njihovo preživelost in sposobnost fermentacije (Anasanay-Galeote in sod., 2001). Kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* tolerirajo do 14 vol.% alkohola, osmofilne *S.rouxii* paprenesejo do 18 vol.% (Arbeiter, 1999). Encimi glikolize denaturirajo šele pri 13 vol.%, vendar se metabolizem kvasovk upočasnijo že predhodno, zaradi slabšega privzema sladkorjev. Glavna tarča delovanja etanola je plazemska membrana. Vpliva na njeno

fluidnost, tako da je zmanjšana njena strukturna stabilnost. Vpliva tudi na ostale membrane ter na endoplazmatski retikulum in hidrofилne proteine citoplazme. Etanol inhibira transport komponent mošta, ki za prehod preko plazemske membrane potrebujejo aktivni transport in hkrati pospeši pasivno difuzijo prosto prehajajočih molekul. Vrste ne-*Saccharomyces* bolj prizadene višja koncentracija etanola, saj je moten vnos glukoze, ki pri večini le-teh, prehaja celično steno z aktivnim transportom. Ker etanol vpliva na vdor vodikovih protonov, mora stalno delovati ATP-azna protonska črpalka, ki vzdržuje pH na fiziološki ravni celice. Etanol, ki nastane kot posledica fermentacije kvasovk, zmanjšuje asimilacijo dušikovih komponent. Vsebnost 4-6 vol.% etanola, povzroči v kvasovki tvorbo stresnih proteinov, mononenasičenih maščobnih kislin kot je oljna ter sterolov v plazemski membrani. Poveča se tudi sinteza glicerola in trehaloze, ki stabilizirata membrano na obeh straneh. Etanol povzroča zmanjšanje prepustnosti plazmaleme, kar povzroči izgubo nutrientov in kofaktorjev (Ca, Mg). Toksičen vpliv etanola se še bolj podkrepi ob součinkovanju ostalih metabolitov kot so alkoholi, aldehidi, estri, organske kisline, ob pomanjkanju kofaktorjev in višji temperaturi (Bisson in Block, 2002).

#### 2.8.2.15.5 ŽVEPLOV DIOKSID

SO<sub>2</sub> je snov, ki učinkovito preprečuje oksidacijo grozdnega soka, zavira delovanje polifenol oksidaz in je hkrati protimikrobna učinkovina, ki se v vinarstvu uporablja za omejevanje rasti bakterij in nezaželenih kvasovk. V moštu se nahaja v obliki bisulfitnega iona in prostega žvepla. Prva faza pri delovanju na mikroorganizme mošta in vina je vstop v celico mikroorganizmov. Plazemsko membrano prečka z neposredno difuzijo s pomočjo sulfita permeaze. Znotraj celice zaradi pH blizu nevtralni točki disocira do bisulfitnega iona. Zaradi omenjene disociacije je koncentracija SO<sub>2</sub> v celici nižja od zunanje, kar povzroči prehod novih SO<sub>2</sub> molekul do izenačitve koncentracijskega gradienta. SO<sub>2</sub> se tako kopiči v celici in reagira s koencimi, kofaktorji, vitamini in spreminja njihovo konformacijo. Sulfita reagira tudi z nukleinskimi kislinami in katalizira deaminacijo citozina v uracil ter povzroča navzkrižno povezovanje proteinov z nukleinskimi kislinami. *S.cerevisiae* preživi visoke koncentracije SO<sub>2</sub>, vendar ne spada med najbolj vzdržljive kvasovke vina. Neobčutljivi sta *Zygosaccharomyces bailii* in *Saccharomyces ludwigi* (Povhe-Jemec, 2003). Za preprečitev rasti mikroorganizmov je potrebno 1-2 mg/L molekularnega SO<sub>2</sub>, vendar je pri pH 3,5 za to potrebnih 100 mg/L skupnega (Lisjak, 2002).

#### 2.8.2.15.6 PRISOTNOST OZIROMA ODSOTNOST KISIKA

Alkoholna fermentacija poteka v kvazi-anaerobnih razmerah (na začetku fermentacije je razpoložljivega kisika manj kot 10 mg/L). Za doseganje zadostnega števila kvasovk, ki bodo omogočile dokončanje alkoholne fermentacije z dobrimi rezultati, mora kvasovka namnožiti najmanj 4-5 generacij. Poleg drugih hranilnih snovi kvasovka potrebuje molekularni kisik, da bi lahko ponovno združila elemente celičnih membran, ki so pomembni zaradi njihove funkcionalnosti (steroli in nasičene maščobne kisline). V primeru popolne anaerobioze, imajo kvasovke dovolj sterolov in nasičenih maščobnih kislin le za 2 ali 3 generacije. Celice so takrat bolj občutljive na zunanje faktorje (temperatura, alkohol, pomanjkanje hranilnih snovi). Suhe kvasovke, ki so bile namnožene v prisotnosti velikih koncentracij kisika, imajo večjo vsebnost sterolov in nasičenih maščobnih kislin, kot pa jo ima tekoča kultura kvasovk, razmnožena v anaerobnih pogojih (Lisjak, 2002).

#### **2.8.2.15.7 TEMPERATURA**

Temperatura vpliva na vse življenjske funkcije kvasovk; na razmnoževanje, fermentacijsko aktivnost in na samo ohranitev življenja (Arbeiter, 1999). Optimalno delovno območje (za katero pa ni rečeno iz enološkega vidika, da je najbolje), je med 25-35 °C (Lisjak, 2002). Med alkoholno fermentacijo se sprošča toplota, ki je posledica metabolne aktivnosti kvasovk. Temperatura se lahko dvigne tudi za 10 °C, kar pomeni večjo občutljivost kvasovk na etanol. Ugotovljeno je bilo, da *S. cerevisiae* pri 15 °C tolerira največ etanola, pri 30°C pa se njena toleranca zmanjša. Pri nižjih temperaturah fermentacije (5 in 10 °C), so ugotovili zmanjšano rast *S. cerevisiae* kvasovk. Pri vrstah *Kloeckera apiculata* in *Candida stelata* se odpornost na etanol poveča pri nižjih temperaturah, tako da pri nižjih temperaturah prevladata nad *S.cerevisiae* (Arbeiter, 1999). Pri visoki temperaturi fermentacije sta začetek in hitrost fermentacije hitrejša oziroma večja, ko narašča od 15 proti 30 °C. Če je temperatura previsoka (nad 35 °C), se fermentacija ustavi še preden je ves sladkor fermentiran, saj povzroči večjo občutljivost na osmotski tlak in etanol (Bubić, 2000). Temperatura ima značilen vpliv na tvorbo sekundarnih komponent, ki so zelo pomembne za kakovost vina. Optimalna temperatura fermentacije je odvisna od senzoričnih lastnosti vina, ki jih želimo doseči (Lisjak, 2002).

#### **2.8.2.15.8 pH**

Kislost grozdnih sokov varira od 2,8-3,8 pH v odvisnosti od pogojev dozorevanja. Med tema dvema vrednostmi mase kvasovke dobro razvijejo. Pod pH 2,8, ki je zelo redko prisotna v grozdnih sokovih, zelo težko vzbudimo fermentacijo. Nizke vrednosti pH, kvasovkam zmanjšajo konkurenco ostale mikroflore. Pri višjih pH vrednostih, kvasovke hitreje opravijo svoje delo (Ribéreau-Gayon, 1971).

#### **2.8.2.15.9 EKSOGENI INHIBITORJI**

Eksogeni inhibitorji so predvsem različni pesticidi, ki se uporabljajo v vinogradu in se nahajajo v moštu v ne zanemarljivih koncentracijah. Predvsem fungicidi triazolov in imidazolov so snovi, ki blokirajo pot biosinteze ergosterola pri glivnih parazitih na trti kot je oidij. Spremenijo fluidnost membrane kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*, s spremembo vsebnosti njenih sterolov in nasičenih maščobnih kislin, delajo kvasovke bolj občutljive na etanol (Garcia-Cozorla in Xirau-Vayreda, 1994; Cabras in sod., 1997; Sala in sod., 1996).

#### **2.8.2.15.10 OGLJIKOV DIOKSID**

Pod visokim pritiskom je CO<sub>2</sub> produciran pri alkoholni fermentaciji prav tako inhibitoren. Rast kvasovk je inhibirana pri tlaku 705,6 kpa, kvasovke pa odmrejo pri 2940 kpa (Bubić, 2000). Ogljikov dioksid deluje inhibitorno, ker vpliva na strukturo membrane. CO<sub>2</sub> vpliva predvsem na strukturo maščobnih kislin. Sprememba permeabilnosti vodi pri spremembi temperature in/ali večjem tlaku do sproščanja  $\alpha$ -acetohidroksi kislin in tvorbe večjih količin diketon-vecinala (Lisjak, 2002).

#### 2.8.2.15.11 VPLIV FENOLOV

Fenoli lahko vplivajo na fermentacijo različno. Pri rdečih vinih antociani stimulirajo fermentacijo, Pri belih vinih katehini fermentacijo rahlo inhibirajo (Arbeiter, 1999).

#### 2.8.2.15.12 DRUGI ENDOGENI INHIBITORJI

Med endogene inhibitorje prištevamo predvsem višje alkohole, acetaldehid, kratke maščobne kisline in hidrogen karbonat. Višji alkoholi, podobno kot etanol spremenijo elektrokemijski potencial na membrani. Vsebnost acetaldehida je v celici tudi 10-krat večja kot v mediju in deluje toksično na celico. Toksičnost kratkih maščobnih kislin se kaže v spremembi permeabilnosti plazemske membrane. V notranjosti dosega koncentracija hidrogen-karbonatnega iona 10 mM, kar deluje inhibitorno na številne reakcije dekarboksilacije: - izocitrata v  $\alpha$ -keto-glutarat, -inhibicija dekarboksilacije 6-P-glukonata v ribulozo-5-P, pa vodi v redukcijo biosinteze nukleotidov (Lisjak, 2002).

#### 2.8.2.15.13 INTERAKCIJE KVASOVK Z OSTALIMI MIKROORGANIZMI

##### 2.8.2.15.13.1 INTERAKCIJE S PLESNIMI

Plesni lahko močno vplivajo na kakovost vina, če so na grozdju prisotne v večjih koncentracijah npr.,  $10^7$  CFU/mL (Pečjak, 1997). V moštih inficiranih z *Botrytis cinerea* je oteženo razmnoževanje kvasovk, kar nam pokaže razmerje v 10 mL normalnega in inficiranega mošta. V ne-inficiranem vinu so izolirali 230 mg kvasovk, v inficiranem pa le 155 mg. Posledica tega je velika koncentracija sladkorja in premalo hranljivih snovi. *Botrytis* porabi do  $\frac{3}{4}$  piridoksal fosfata koencima transferaze, ki sodeluje pri metabolizmu aminokislin. Kvasovke ga nujno potrebujejo. Zmanjša se koncentracija tiamina, ki ga kvasovke sicer sintetizirajo a zelo počasi in ima močan vpliv na poznejšo sestavo vina. V inficiranem grozdju se koncentracija tiamina zniža tudi do 90 %, s tem se v vinu povečuje vsebnost v vinu vmesnih produktov alkoholnega vrenja; piruvata in  $\alpha$ -keto-glutarata, ki sta velika porabnika žveplovega dioksida (Vatta, 2001). Poleg plesni *Botrytis cinerea* so prisotni tudi rodovi *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* in *Cladosporum* (Pečjak, 1997).

##### 2.8.2.15.13.2 INTERAKCIJE Z BAKTERIJAMI

Ko fermentacija zakasni se mlečnokislinske bakterije namnožijo in izkoriščajo sestavine mošta ter tako motijo rast kvasovk ali povzročijo mlečni cik že pred alkoholno fermentacijo. Endogeno prisotni laktobacili, ki se pogosto namnožijo v moštu z višjim pH, ki ni žveplan, so zmožni sinteze očetne kisline, ki upočasnijo ali celo ustavi alkoholno fermentacijo. Do sedaj, najmočnejši inhibitor pripada vrsti *Lactobacillus kunkeei*. Težnje po zmanjševanju žveplanja mošta vodijo v pogost razvoj populacije te vrste (Pečjak, 1997). Očetnokislinske bakterije so iz rodov *Acetobacter* in *Gluconobacter*. Ob prisotnosti kisika največkrat povzročijo le očetni cik vina, lahko pa se zelo namnožijo na poškodovanih jagodah in pridejo v mošt v koncentracijah do  $10^6$  CFU/mL. S svojimi proizvodi delujejo na kvasovke, kot antagonisti. Med fermentacijo se lahko pojavijo tudi drugi rodovi bakterij kot so *Bacillus*, *Streptomyces*, *Clostridium* in *Actinomyces*, vendar redkeje (Pečjak, 1997).

## 2.8.2.16 Hranilne potrebe za rast kvasovk

### 2.8.2.16.1 SLADKORJI

#### -Transport

Transport poteka skozi celično steno in membrano kvasne celice preko treh mehanizmov vstopa; prosta difuzija, posredovana difuzija in aktivni transport. Transport je zelo kompleksen in kontroliran, saj kvasovke *S. cerevisiae* posedujejo multigeni sistem pri transportu glukoze, podobno kot višji organizmi (sesalci) (Lisjak, 2002). Privzem glukoze je pri *S. cerevisiae* hiter in pada z naraščajočim koncentracijskim gradientom. Nekateri avtorji menijo, da naj bi bila vrsta *S. cerevisiae* zmožna hitrega odziva na spreminjajoče se koncentracije glukoze v mediju na račun »senzorjev za glukozo« (GENERAL GLUCOSE SENSOR). Transporterji glukoze so stereospecifični. Heksoze vstopajo z olajšano difuzijo z nekaj nosilci-heksokinazami, za kar organizem ne potrebuje metabolne energije. Pri *S. cerevisiae* je poznanih kar dvajset heksoznih transporterjev z različno afiniteto do glukoze. Afiniteta prenašalca do glukoze je pri *S. cerevisiae* je poleg koncentracije glukoze v mediju odvisna še od; razpoložljivega kisika, stopnje rasti kvasovke in energijskega statusa celice. V substratih, kjer je prisotna visoka koncentracija glukoze, kar vinski mošt vsekakor je, je aktiviran transport glukoze z nizko afiniteto, ki je konstitutiven in neodvisen od fosforilacije. Kadar kvasovke fermentirajo, imajo preko represije z glukozo proteolitsko inaktiviran glukozni transporter. Konec heksoznega transporta v alkoholni fermentaciji pomeni konec nastajanja etanola (Povhe-Jemec, 2003). Aktivnost transporta heksoz regulira dostopen dušik v mediju in sposobnost sinteze proteinov. Z osiromašenjem mošta na asimilacijskem dušiku, se transport heksoz zmanjša. V enologiji je zelo pomembno, saj velja, da okrog 50 do 70 % alkoholne fermentacije poteče v stacionarni fazi rast kvasovk (D'Amore in sod., 1989).

#### -Metabolizem sladkorjev

Kvasovke so kemoorganotrofi. Sladkorji so glavni vir ogljika in energije. Med fermentacijo grozdnega soka se sladkorji (glukoza, fruktoza) presnavljajo v bioprocesu glikolize. Pentoz kvasovke ne fermentirajo (Lisjak, 2002). V modelni fermentaciji, z začetno koncentracijo sladkorjev od 220 do 240 g/L, je 95 % sladkorjev konvertiranih v etanol in ogljikov dioksid, 1 % je konvertiran v celični material, ostali 4 %, pa so konvertirani v ostale stranske produkte. Pri fermentaciji se izgubi veliko energije v obliki toplote, okoli 1,3 °C za vsako Brixovo stopnjo porabljeno na liter (Boulton in sod., 1996). Prva faza alkoholne fermentacije je po absorpciji glukoze in fruktoze fosforilacija sladkorjev. Koncentracija sladkorjev v kvasni celici je večja kot 70 mg/L. Glavno vlogo igrata encima heksokinaza in glukokinaza. Heksokinaza fosforilira glukozo in fruktozo v razmerju 1:3, v korist glukoze, zato se naprej porabi glukozo in šele potem fruktozo. Takoj po inokulaciji se sinteza etanola še ne začne, ker glukozo inhibira encim piruvat dekarboksilazo in etanol dehidrogenazo. Takrat se tvorijo predvsem glicerol, piruvat, sukcinat in druge organske kisline. Etanol gre iz celice s pomočjo proste difuzije (Carlson, 1999).

### 2.8.2.16.2 DUŠIČNE SPOJINE

#### -Transport

Za formacijo celice, imajo kvasovke veliko potrebo po asimilabilnem dušiku, kot vsa živa bitja. Suhe kvasovke vsebujejo od 4 do 10 % dušikovih spojin svoje celotne mase. Bolj kot so celice bogate z dušikovimi spojinami, intenzivnejša je fermentacija in vse manj intenzivno dihanje. Večina dušikovih snovi je v celico transportirana s pomočjo aktivnega transporta, ker

je njihova koncentracija v celici večja od tiste v moštu. Izjema je le olajšana difuzija uree (Boulton in sod., 1996).

-Amonijev ion in urea: Amoniak je vrsta dušika, ki je uporabljen in porabljen v prvih 48 urah. Po koncu fermentacije te vrste dušika ni več v vinu (Ribéreau-Gayon, 1971). Za transport amonijevega iona sta dokazani dve permeazi. Transport nekompetitivno inhibira več aminokislin. Urea se transportira preko dveh mehanizmov. Prvi je aktivni transportni sistem, drugi pa je pasivna ali olajšana difuzija. Prisotnost uree je zelo nezaželena, je eden od intermediatov katabolizma arginina in ob prisotnosti etanola pride do nastajanja kancerogenega etilkarbamata (Lisjak, 2002).

-Aminokislina: Aminokislina, katerih je zunajcelična koncentracija nižja od znotrajcelične, vstopajo v celico na osnovi aktivnega transporta s simportnim mehanizmom. Da nebi prišlo do zakisanja citoplazme, mora hkrati delovati protonska črpalka, ki izloča protone, za delovanje pa potrebuje energijo v obliki ATP. Sposobnost privzemanja aminokislin lahko povežemo s sposobnostjo izločanja protonov. Za transport etanola je tudi značilen transport s hkratnim vnosom protonov. Protonska črpalka je močno obremenjena in posledično zaradi previsoke zunajcelične koncentracije etanola lahko ugasne transport aminokislin. Pri kvasovkah sta poznana nespecifični in specifični privzem aminokislin. Pri transportu aminokislin obstaja vsaj 15 transportnih sistemov pri katerih je amonijev ion inhibitor (Lisjak, 2002). Za prvega je značilna permeaza z nespecifičnim načinom delovanja, katere delovanje je odvisno od koncentracije amonijevih ionov, drugi, od amonijevih ionov neodvisni sistem, pa izkazuje specifičnost za eno oziroma le nekaj sorodnih aminokislin. Oba potrebujeta za svoje delovanje energijo, ki nastaja na račun metabolizma glukoze. V moštu sta najbolj zastopani aminokislini arginin in prolin. Ker je kvasovka sposobna le aerobnega izkoriščanja prolina pod vplivom encima prolin oksidaze, se ta med alkoholno fermentacijo ne porablja, njegove vrednosti so v vinu celo višje, saj se tvori prolin kot eden izmed intermediatov katabolizma arginina. V nasprotju s specifičnimi permeazami, je aktivnost nespecifične permeaze največja v medijih z malo aminokisljinami (Povhe-Jemec, 2003).

#### -Metabolizem in asimilacijski vir dušika

Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* so sposobne in morajo sintetizirati iz amoniakalnega dušika aminokislina, iz teh peptide ter beljakovine, ki jih potrebujejo za izgradnjo celic. Kvasovke asocirajo amonijak k derivatom glukozidov, tako se potem formirajo glutamin in asparagin. Za sintezo drugih aminokislin, imajo kvasovke sposobnost transaminacije aminokislin in  $\alpha$ -keto kislin. Aminokislina kot take predstavljajo manjšo nutritivno vrednost kot amonijev ion, z izjemo glutamata in aspartata. Aminokislina so porabljene lahko na tri načine:

-lahko se direktno vključijo v proteine,

-po Eherlichovi reakciji, pri kateri pride prvo do dezaminacije, po kateri nastane  $\alpha$ -keto kislina, amonijak, ki se sprosti predstavlja vir dušika, keto kislina se dekarboksilira, nastane aldehid, in z redukcijo potem alkohol (aromske snovi),

-po Sticklandovi reakciji, pri kateri zaradi dejstva, da ob dodatku mešanice aminokislin jih kvasovka lažje izrablja, je opredelil nekatere aminokislina kot reducente, druge pa kot oksidante, pri reakciji pride do dezaminacije, amonijev ion se sprosti, tega pa kvasovke uporabijo kot vir dušika (Ribéreau-Gayon, 1971).

### 2.8.2.16.3 ŽVEPLOVE SPOJINE

Žveplov dioksid je v vinarstvu že dolgo uporabljeno in poznano enološko sredstvo. V vinu ima tri pomembne vloge: -antioksidativno- prepreči delovanje oksidacijskih encimov, -antiseptično- prepreči delovanje nezaželenih mikroorganizmov, -nevtralizira pri vrenju nastale porabnike (Vatta, 2001).

Kvasovke rodu *Saccharomyces* lahko uporabljajo sulfat, sulfit, sulfid, ali tiosulfat kot vir žvepla za biosintezo.

Tiosulfat je prvo pretvorjen v sulfit, nato v sulfid, tako sta lahko oba atoma žvepla uporabljena. Uporaba sulfita je limitirana zaradi toksičnosti te komponente. Kvasovka je sposobna uporabiti tudi organske komponente, kot so metionin, homocistein, S-adenozil-metionin, glutation, tiamin in biotin, ki so že prisotne v moštu (Boulton in sod., 1996). Lahko tvori tudi različne komponente in jih izloči v medij (sulfit, vodikov sulfit, dimetilsulfid, merkaptane, tioestre, ogljikov sulfid, ...) (Lisjak, 2002).

Asimilacija sulfata potrebuje pet encimskih reakcij. Po prehodu sulfata v celico s pomočjo sulfat permeaze, se ta najprej aktivira v adenzin-5-fosfosulfat s pomočjo ATP sulfurilaze. Nato APS-kinaza katalizira formacijo 3-fosfoadenozin-5-fosfosulfata. Naslednja stopnja je formacija sulfita s pomočjo PAPS-reduktaze, sulfit reduktaza pa katalizira še elektronsko redukcijo sulfita v sulfid, ki je glavna komponenta metabolizma žvepla, predvsem pa žveplo-vsebujočih aminokislin. V rodu *Saccharomyces* sta prisotni dve vrsti sulfit reduktaz; ena uporablja vezan sulfit, druga pa prostega. Sulfid je transferiran na O-acetilhomoserin, tako nastane homocistein. V druge spojine, homocistein pretvarja s pomočjo *trans*-sulfuracijskih poti (Boulton in sod., 1996). Vir žvepla ni nikoli cistein, ki nastane iz serina in igra glavno vlogo pri regulaciji in prevzemu žvepla s kvasovkami. Prisotnost te aminokislina v celici zaustavi redukcijo sulfita v žveplo in blokira asimilacijo sulfita pri tvorbi žveplovih aminokislin (Lisjak, 2002).

### 2.8.2.16.4 MINERALNE KOMPONENTE

Kvasovka potrebuje mineralne snovi predvsem v dva namena; kot element za izgradnjo strukture celice ter kot kofaktorje pri encimskih reakcijah. Suha kvasovka vsebuje od 5-10 % mineralnih snovi. Po nekaterih elementih je večja potreba, po drugih manjša, vendar so vsi pomembni kot esencialni. Za nekatere se točno ve za kaj se uporabljajo (Ribéreau-Gayon, 1971). V moštu je največ kalijevega iona. Velika koncentracija kalijevega iona lahko moti prevzem aminokislin, prav tako pa lahko povzroči kemično nestabilnost tartratov, kar je povezano z veliko pH vrednostjo vina, to pa vodi v mikrobiološko nestabilnost (Arbeiter, 1999). Fosfor je v celici prisoten v organski ali mineralni obliki in je pomemben za alkoholno fermentacijo. Žveplo je pomembno za sintezo žveplo-vsebujočih aminokislin. Železo je pomembno pri dihanju in pigmentih. Magnezij je aktivator velikega števila encimov. Mangan, cink in baker, stimulirajo rast in fermentacijo. Kot oligoelementi pa so prisotni: Al, Br, Cr, Cu, Pb, Mn, Ag, Sr, Tl, Sn, ..., (Ribéreau-Gayon, 1971).

### 2.8.2.16.5 VITAMINI (RASTNI FAKTORJI)

Vitamini so organske snovi, ki jih organizmi potrebujejo v zelo majhnih količinah, so esencialni in jih same kvasovke večinoma ne morejo sintetizirati (Ribéreau-Gayon, 1971).



-Tiamin (B1): 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.

-Riboflavin (B2): Aktivira encimski proces, tako preko oksidativne razgradnje pirogrozdne kisline, maščobnih kislin in aminokislin kot preko izmenjave elektronov.

-Niacin (B3): Reducira tvorbo etilacetata. Kontrolira tvorbo ketokislin. V primeru pomanjkanja tega vitamina in vitaminov B6 in B5 pride do prekomerne porabe tiamina. Nadomestimo ga s triptofanom.

-Pantotenska kislina (B5): Njen aktivni del koencim A prenaša acilne skupine pri encimskih reakcijah pri oksidaciji pirogrozdne kisline in maščobnih kislin.

-Piridoksin (B6): Ureja transaminacijo aminokislin in tvorbo  $\alpha$ -ketoglutarjeve kisline.

-Kobalamin, cianokobalamin (B12): Ureja rast oziroma hitrost razmnoževanja kvasovk. Deluje v reakcijah dekarboksilacije in deaminacije. Deluje v sinergiji z vitaminom B5.

-Biotin (H): Vpliva na razmnoževanje kvasovk, deluje v encimskih reakcijah dekarboksilacije in deaminacije. Ob pomanjkanju se spremeni glicerol-pirogrozdna fermentacija, dodatno pa se tudi zmanjša tvorba jantarne kisline.

-Ergosterol (D2): Pomaga kvasovki pri dokončnem povretju sladkorjev, stimulira tvorbo glicerola, zmanjša tvorbo oetne kisline in acetaldehida ter spremeni aromatično strukturo vina (Lisjak, 2002).

Vse rastne faktorje kvasovka najde prisotne že v grozdnem soku, večkrat pa ga še dodatno obogatimo z dodatkom kompleksnih hranil kvasovkam.

#### **2.8.2.16.6 LIPIDI**

Lipidi so osnovni gradniki celičnih membran (fosfolipidi, steroli), pigmentov lipoproteinov, glikolipidov in predstavljajo energijsko rezervo. V aerobnih pogojih kvasovke same sintetizirajo potrebne lipide, medtem ko v anaerobnih pogojih ne morejo sintetizirati nenasičenih dolgoveržnih maščobnih kislin in sterolov (Arbeiter, 1999).

Formirajo se predvsem v mitohondrijih, ta organ je poleg celične stene najbolj bogat na maščobnih kislinah in sterolih (Boulton in sod., 1996). Maščobne kisline se nahajajo tudi v moštu, 30-40 % vseh pride iz jagodne kože in so pomemben vir (Arbeiter, 1999).

#### **2.8.2.16.7 POLIFENOLI**

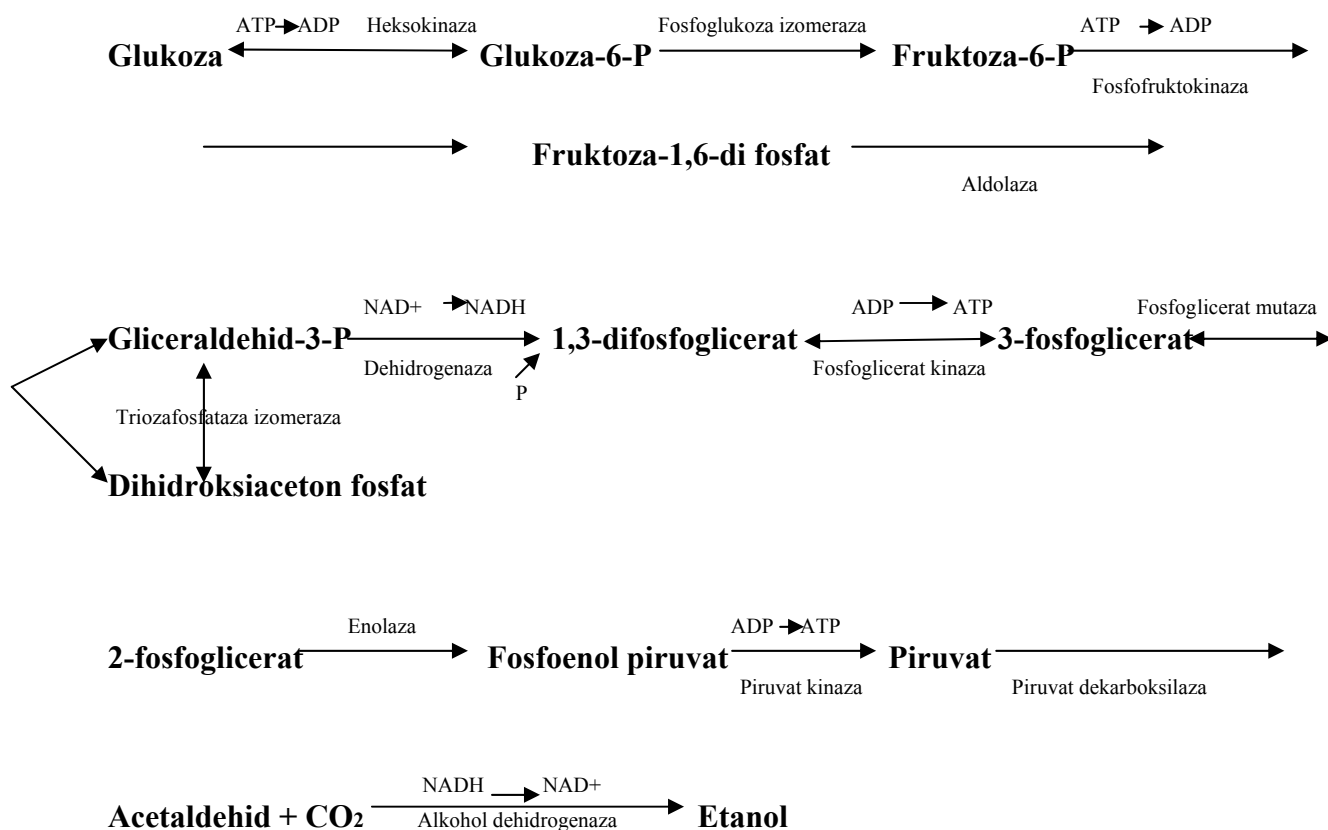
Polifenolne spojine v moštu in vinu imajo selektiven učinek na sestavo flore kvasovk. Nekatere kvasovke so v svojem delovanju in razvoju pospešene, druge pa močno ovirane. Polifenolne snovi po koncu fermentacije povzročijo hitrejšo razgradnjo kvasnih celic, še posebno, če ima vino visok volumski odstotek alkohola. Posamezne skupine polifenolov kvasovka ne samo absorbira, ampak jih tudi delno asimilira. Uporabi jih lahko kot vir ogljika. Vsaka alkoholna fermentacija, ki jo sprožijo kvasovke v vrelnem substratu in vsebuje fenolne snovi povzročča, da se znatno zmanjša koncentracija polifenolov. Ker polifenolne snovi

povzročajo trpek okus, pomeni zmanjšanje koncentracije le-teh, izboljšanje kakovosti vina (Šikovec, 1964).

### 2.8.3 PRODUKTI ALKOHOLNE FERMENTACIJE

V bioprocesu, kjer nastaja v pretežni meri etanol proizveden po Embden – Mayerhof – Parnasovi poti je teoretičen izkoristek 51 % kjer nastane iz 1 g glukoze 0,51 g etanola in 0,49 g ogljikovega dioksida. V praksi se dosega okoli 90 % teoretičnega izkoristka, saj se približno 10% glukoze porabi za tvorbo drugih komponent. Med fermentacijo nastane na 80-100 g/L etanola okoli 1 g/L aromatičnih snovi. Količinsko prevladajo (50 %) višji alkoholi, (izoamil alkohol, izobutanol, 2-feniletanol), po številu pa estri; najpogostejši so etilni estri višjih maščobnih kislin in acetati višjih alkoholov. Poleg zelenih aromatičnih snovi nastanejo med fermentacijo tudi nezaželene: aldehidi, hlapne žveplove snovi, hlapne kisline,... (Vatta, 2001).

#### 2.8.3.1 Etanol



Slika 1: Glikoliza z alkoholno fermentacijo (Boulton in sod., 1996)

Etanol je zastopan v največji meri. Koncentracija etanola je odvisna od številnih dejavnikov: -kultivar, -način trgatve, -koncentracije fermentirajočih sladkorjev, -seva kvasovk in pogojev alkoholnega vrenja, -vrelne temperature, - ter koncentracije hranilnih snovi v grozdnem soku. Pravilnik o označevanju vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina predpisuje, da mora vino vsebovati najmanj 8,5 vol.% volumskega deleža alkohola in največ do 15 vol.% (izjema je cviček, do 10 vol.%) (Milek, 2001).

Poleg etanola se pri alkoholni fermentaciji paralelno tvorijo tudi stranski produkti:

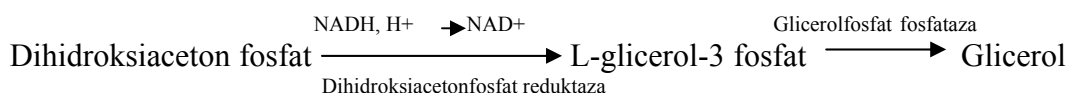
### 2.8.3.2 Metanol

Metanol nastane iz pektinov, ki pri predelavi grozdja pridejo v mošt. Med alkoholnim vrenjem se pektini razgradijo, pri čemer se sprostijo metanol. Pri normalni vinifikaciji je prisotna minimalna koncentracija le-tega. Belo vino vsebuje med 15 do 130 mg/L, rdeče pa nekaj več; od 50 do 250 mg/L metanola (Milek, 2001).

### 2.8.3.3 Glicerol

V začetnih fazah fermentacije se v procesu glicero-piruvične fermentacije tvori glicerol (Ribéreau-Gayon, 1971). Glicerol je poleg jantarne kisline najpomembnejši stranski produkt alkoholne fermentacije. Je brezbarvna tekočina sladkega okusa (Milek, 2001). Je najbolj zastopana komponenta v ekstraktu suhih vin. Vinu daje poln, prijeten in harmoničen okus. Njegova koncentracija je v vinih normalne trgatve okoli 5-8 g/L in je odvisna od vsebnosti sladkorjev v moštu, temperature fermentacije, seva kvasovk, pH in vsebnosti pantotenske kisline (Lisjak, 2002).

Ugotovljeno je, da se pri spontani alkoholni fermentaciji formira večja koncentracija glicerola. Pri višjih temperaturah na začetku fermentacije, velja da vsi sevi vinskih kvasovk proizvedejo več glicerola. Tudi večje vrednosti pH vplivajo na povečanje vrednosti glicerola v vinu (Tamas in sod., 2000)



Slika 2: Sinteza glicerola (Boulton in sod., 1996)

Poleg regeneracije  $\text{NAD}^+$  pri tvorbi alkohola, se ta lahko regenerira tudi pri tvorbi glicerola.  $\text{SO}_2$  tvori kompleks z acetaldehidom, kar onemogoča oksidacijo  $\text{NADH, H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+$ . Glicerol zapusti celico s pomočjo pasivne difuzije (Lisjak, 2002).

### 2.8.3.4 Acetaldehid

Je prekurzor tako za acetat, kot za etanol. Tvori se iz piruvata. Njegova koncentracija je odvisna od fermentacijske temperature, aeracije in pH vrednosti. V začetni fazi fermentacije nastane večina acetaldehida, kot posledica predolge faze prilagajanja kvasovk (Milek, 2001). V začetni fazi primanjkuje encima alkohol dehidrogenaze, da bi reduciral acetaldehid v etanol. Pri kvasovkah vrste *Saccharomyces cerevisiae* se ta encim formira in začne delovati v krajšem času kot pa pri ostalih vrstah ne-*Saccharomyces* (Ribéreau-Gayon, 1971). Acetaldehid je največji porabnik  $\text{SO}_2$  v vinih. 1mg acetaldehida reagira z 1,45 mg  $\text{SO}_2$ . Acetaldehid nastaja v večjih koncentracijah pri slabi tehnologiji, negi in zorenju vina zaradi dostopa kisika, kot posledice delovanja oksidativnih kvasovk ali oksidacije etanola (Milek, 2001). Acetaldehid, ki nastane pri glicero-piruvični fermentaciji in katerega je zelo malo, se pretvori v druge stranske produkte, na začetku fermentacije.

Acetoin:  $\text{CH}_3\text{-CHO} + \text{CH}_3\text{-CHO} = \text{CH}_3\text{-CO-CHOH-CH}_3$  (Ribéreau-Gayon, 1971).

### 2.8.3.5 Hlapne kisline

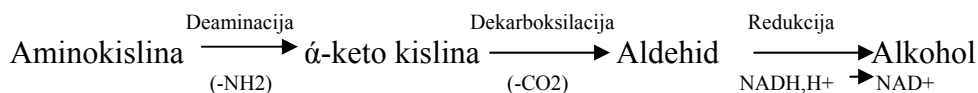
Med hlapne kisline v vinu prištevamo skupino maščobnih kislin, ki pri določenih pogojih lahko izparijo. Pri destilaciji preidejo v destilat. V zdravem grozdu jih ni ali pa so v sledovih (predvsem mravljična). Normalne koncentracije hlapnih kislin so od 0,3-0,6 g/L očetne kisline, ki jo proizvedejo kvasovke, če pride do razkisa se koncentracija poveča. Hlapne kisline so dober pokazatelj o kakovosti alkoholne fermentacije. Povečane koncentracije kažejo, da je prišlo do očetno-kislinskega vrenja, manitnega vrenja ali pa oksidacije etanola (Blaškovič, 1978). V največji koncentraciji je v kontekstu hlapnih kislin prisotna očetna kislina. Zaradi njenih slabih senzoričnih lastnosti, je njena sinteza zelo nezaželena. Proizvedena je lahko že na grozdu inficiranem z očetnokislinskimi in mlečnokislinskimi bakterijami. *Saccharomyces* in druge kvasovke lahko proizvedejo do 200 mg/L, količina proizvedenega acetata pa je odvisna od seva kvasovk, temperature in sestave grozdnega soka. Same kvasovke ne proizvedejo acetata toliko, da bi prekoračili zakonske meje, veliko je drugih vzrokov; pomanjkanje hranilnih snovi, neuravnovešenost med njimi, kompeticija z ostalo mikrofloro..., (Boulton in sod., 1996). Sinteza poteka večinoma po teh dveh poteh, pa čeprav je še nekaj sugestij, kako naj bi ta potekala:

-anaerobno:  $\text{CH}_3\text{-CHO} + \text{H}_2\text{O} = \text{CH}_3\text{-COOH} + \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ ,

-aerobno:  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH} + \text{O}_2 = \text{CH}_3\text{-COOH} + \text{H}_2\text{O}$  (očetnokislinske bakterije) (Ribéreau-Gayon, 1971). Poleg očetne kisline, ki predstavlja 95-99 % hlapnih kislin, so v vinu prisotne še predvsem mravljična in butanojska, ter še nekatere druge manj pomembne hlapne kisline. Napaka in bolezen vina očetnokislinski cik in ton, sta lahko zaznavna že pri koncentraciji od 0,6-0,9 g/L, kar je manj kot je zakonsko dovoljeno. V tem primeru je povečana tudi koncentracija etilacetata (Košmerl in Kač, 2003).

### 2.8.3.6 Višji alkoholi

V vinu so višji alkoholi skupina hlapnih aromatičnih komponent, ki jih po kemijski strukturi sestavljajo alifatski alkoholi z več kot dvema ogljikovima atomoma in aromatični alkoholi, ki večinoma nastajajo med alkoholnim vrenjem (Milek, 2001). Višje alkohole prepoznamo po ostrem, zbadljivem vonju in okusu. V koncentracijah pod 300 mg/L zaželeno prispevajo k kompleksnosti vina. Ko njihova koncentracija presega to mejo imajo višji alkoholi negativen senzoričen vpliv. So prekurzorji pri tvorbi estrov. Na tvorbo višjih alkoholov vplivajo: sev kvasovk, hitrost rasti, tvorba etanola, temperatura fermentacije, pH, aeracija, vsebnost trdnih delcev, sorte, zrelost, čas maceracije (Raap and Versini, 1996). Tvorijo se v principu na dva načina: -nastajanje višjih alkoholov iz amino kislin; in s pomočjo radioaktivnih sledi so ugotovili, da nastane 35 % višjih alkoholov iz sladkorjev (Raap in Versini, 1996).



Slika 3: Formacija višjih alkoholov s konverzijo aminokislin (Raap in Versini, 1996)

Tvorijo se predvsem iz naslednjih aminokislin: valin, levcin, izolevcin, treonin in fenilalanin. Najpogostejši alifatski višji alkoholi so: propanol, izobutanol, aktivni amil alkohol in izoamil alkohol, aromatski pa: 2-feniletanol, tirozol (Boulton in sod., 1996).

-Propanol

Je alifatski alkohol, ki se tvori iz produktov metabolizma sladkorja (kondenzacija piruvata in acetil-CoA), medtem ko se po Ehrlichovi poti tvori iz prekursorja 2-amino butanojske kisline, ki je v moštu ni (Tupajić in sod., 1996).

-Izobutanol

Koncentracija skupnega dušika v moštu je v negativni povezavi s koncentracijo izobutanol, obenem pa se tudi z naraščanjem temperature fermentacije povečuje njegova tvorba (Tupajić in sod., 1996).

-Izoamil alkohol

Ugotovili so negativno povezavo med koncentracijo izoamil alkohola in koncentracija skupnega dušika v moštu. Največ se ga tvori pri temperaturi 35 °C. Njegova koncentracija je odvisna predvsem od seva kvasovk, ki smo jih uporabili. Z večjo aeracijo mošta med fermentacijo, pride do večje tvorbe le-tega. Tvorba skupnih izoamil alkoholov (izoamil alkohol in aktiv amil alkohol) je zmanjšana pri povečanem parcialnem tlaku CO<sub>2</sub> (Tupajić in sod., 1996).

-2-feniletanol

Z večanjem koncentracije aminokislin in skupnega dušika, se vsebnost 2-fenil etanola zmanjšuje. Nekateri avtorji so mnenja, da 2-fenil etanol, nastaja s kvasnim metabolizmom in izvira tudi iz sadja, kjer je vezan z glikozidno vezjo, ki se med fermentacijo cepi zaradi aktivnost encimov. Pri višji temperaturi narašča tvorba 2-feniletanola (Tupajić in sod., 1996).

-2,3-butilen glikol

$\text{CH}_3\text{-CHO} + \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH} = \text{CH}_3\text{-CHOH-CHOH-CH}_3$  (Ribéreau-Gayon, 1971).

**2.8.3.7 Organske kisline**

Z razliko od očetne kisline, so ostale organske snovi kot so piruvat in kisline Krebsovega ciklusa pomembne za ugodno aromo vina. Po izvoru so organske kisline lahko razgradni produkti aminokislin ali sladkorjev. Očetna kislina je lahko tudi razgradni produkt maščobnih kislin (Boulton in sod., 1996).

Koncentracija vinske kisline je manjša v vinu kot v moštu, ker se izloča v obliki vinskega kamna (K, Ca), (Lisjak, 2002). Koncentracija jabolčne kisline v moštu je ekvivalentna vinski (3-5 g/L). Med fermentacijo se jo izgubi okoli 10-24 %, več se je izgubi pri nižjem pH. Nekaj jabolčne kisline se pretvori v etanol (*Schyzosaccharomyces pombe*), nekoliko več pa v jantarno kislino. Mlečna kislina nastaja s presnovo jabolčne kisline kot produkt delovanja mlečnokislinskih bakterij (Ribéreau-Gayon, 1971).

Jantarna kislina: Med organskimi kisljinami predstavlja jantarna, podobno kot glicerol, enega glavnih sekundarnih metabolitov. V vinu lahko doseže koncentracijo do 1 g/L. Kvasovke tvorijo večje koncentracije jantarne kisline z manjšanjem koncentracije dušikovih snovi. Pri fermentaciji se 0,3-0,5 % sladkorjev pretvori v jantarno kislino (Lisjak, 2002).

Jantarna kislina:

-Glutaminska kislina → (dekarboksilacija, dezaminacija, oksidacija) → jantarna kislina (manjši del);

$-2\text{CH}_3\text{-COOH} \longrightarrow$  jantarna kislina (anaerobioza). Tvori se še iz jabolčne kisline (Ribéreau-Gayon, 1971).

Ostale organske kisline, so še  $\alpha$ -ketoglutarat in citrat, ki nastanejo v trikarboksilnem ciklu (Lisjak, 2002).

Prisotne so še tudi različne maščobne kisline. Nenasičene maščobne kisline nastanejo pri reakcijah desaturacije nasičenih maščobnih kislin. Glavne maščobne kisline so palmitinska (16:0), palmitooleinska (16:1), stearinska (18:0) in oleinska (18:1). Kratko verižne maščobne kisline predstavljajo kapronska in kaprilna. Vse so prekurzorji pri tvorbi estrov (Boulton in sod., 1996).

### 2.8.3.8 Estri

Estri so v vinu največja skupina hlapnih komponent. V vinu najdemo čez 300 estrov in laktanov. Odgovorni so predvsem za sadne arome mladih vin (Milek, 2001). Estre razdelimo v dve skupini: -nepolarni (nizek prag zaznave, prispevajo k sadnosti vina); to so etilacetat, izoamilacetat, etiloktanoat, etilheksanoat; -polarni (vplivajo predvsem na telo vina); to so 2-etil-hidroksi-propanoat, etil-4-hidroksi-butanoat.

Etil acetat v večjih koncentracijah povzroča bolezen vina (150-200 mg/l). V koncentracijah med 30 in 60 mg/L ugodno prispeva k aromi.

Večina estrov nastane iz acetil-CoA, ki prihaja iz dekarboksilacije piruvata, saj ta aktivirana oblika predstavlja donor acilne skupine. Formacija estrov je energijsko porabljalno proces. S strani kvasovk se tvorijo estri zato, da se odstranijo toksične maščobne kisline in da zmanjšajo acetilni naboj. Za kvasovko je esencialno, da vzdržuje bilanco med acetil-CoA in CoA-SH (Lisjak, 2002).

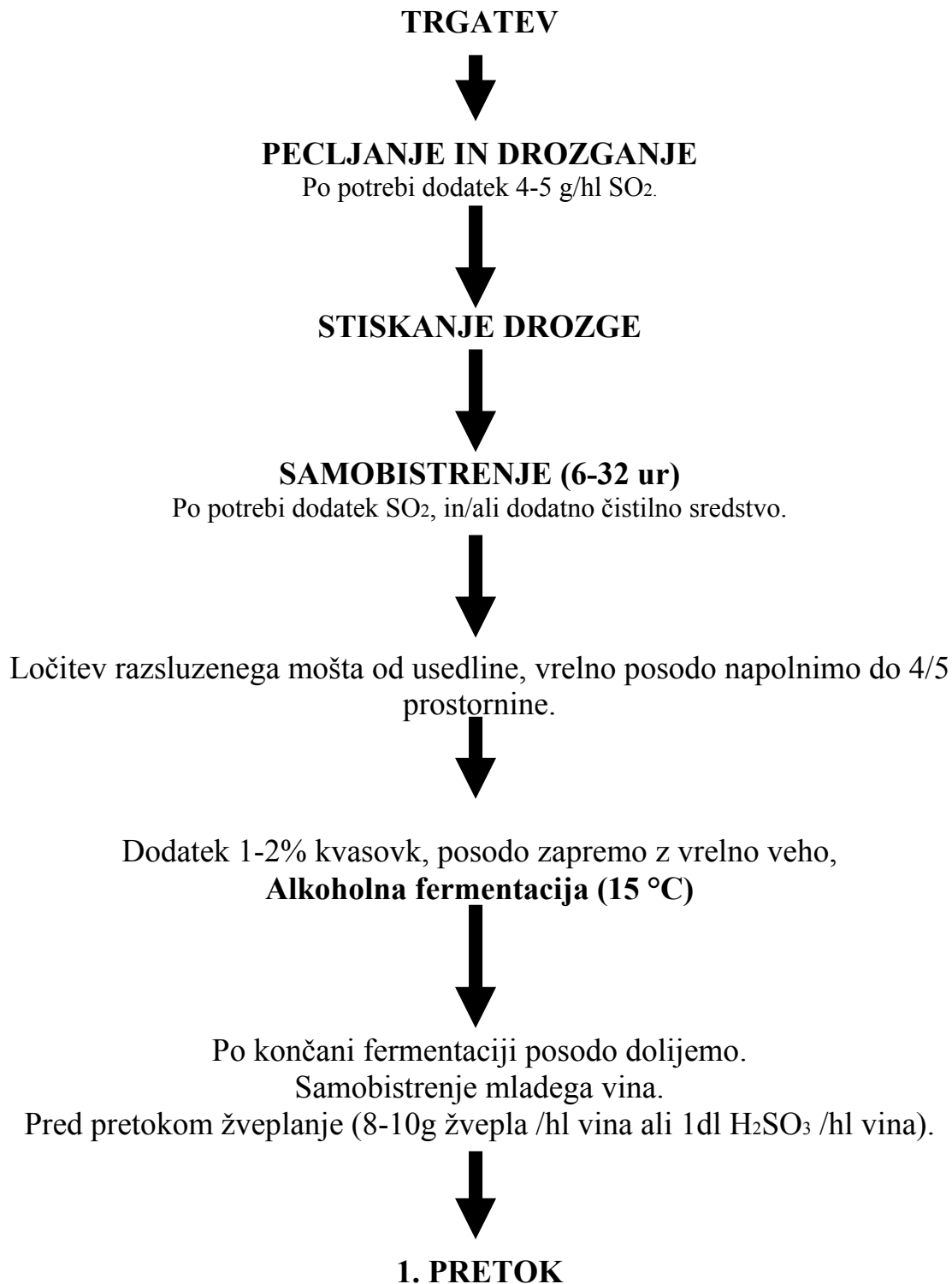
### 2.8.3.9 Plini

Plini niso stalne sestavine vina, vendar vplivajo na kakovost vina. Glavni plin, ki nastaja pri alkoholni fermentaciji je  $\text{CO}_2$ , ki v primeru, da ga zadržimo v vinu pripomore k svežini. Nezaželen med plini je vsekakor  $\text{H}_2\text{S}$ , ki povzroča napako vina, če te ne odpravimo se razvije v še hujše oblike. Kisik je pri alkoholni fermentaciji potreben predvsem v začetni fazi, za razvoj kvasovk. Med fermentacijo ne smejo nastati popolnoma anaerobni pogoji. V primeru prevelike količine kisika v stiku z vinom, pride do nastanka napak.  $\text{SO}_2$  je v vinu konzervans, vpliva pa tudi na aromo. V primeru, da zaščitimo vino v posodi pred kisikom, lahko v prazen prostor dodamo  $\text{N}_2$ , ki pa ne vpliva na senzorične lastnosti vina.

### 2.8.3.10 Komponente fermentacijske arome

Aroma vina je sestavljena iz 600-800 različnih hlapnih komponent. Tvorbo kvasne arome, lahko razdelimo na pet glavnih kemijskih kategorij: alkoholi, estri, karbonilne komponente, žveplo vsebujoče komponente in organske kisline. K fermentacijski aromi prispevajo predvsem višji alkoholi, estri, in žveplo vsebujoče komponente (Lisjak, 2002).

## 2.9 KLASIČNA PREDELAVA BELEGA GROZDJJA DO MLADEGA VINA



Slika 4: Klasična predelava belega grozdja do mladega vina

### 2.9.1 TRGATEV

Čas trgatve določimo glede na proizvodni program, tako da se čim bolj približamo tehnološki zrelosti. Ta ne sovпада vedno s polno zrelostjo, ampak glede na čas in način trgatve gre v prezrelost, če želimo doseči kemično sestavo soka grozdne jagode, ki bo dajala vinu posebno kakovost (Šikovec, 1993). Iskanje prezrelosti, je še toliko bolj pogosto pri belih kot pri rdečih sortah. Taka vina so potem bolj mehka, zaokrožena in večkrat tudi bolj bogata na aromatičnih snoveh. To ne velja za bolj južne dežele, ker zaradi visokih temperatur in povečanja dihanja, pride do razgradnje aromatičnih snovi, taka vina so potem slabše kakovosti (Ribéreau-Gayon, 1971).

#### -Predtrgatev

Opravimo jo po potrebi, le če so jagode ali grozdi gnili ali drugače poškodovani. Potrebna je takrat, ko grozdje še ni dozorelo in lepo jesensko vreme omogoča čakanje na glavno trgatev. Če je grozdje že doseglo polno zrelost, se opravi podbiranje, ko poškodovano grozdje ločimo od zdravega (Šikovec, 1993).

#### -Glavna trgatev

Po veljavni vinski zakonodaji oziroma po pravilniku izdajo dovoljenje za trgatve določenih sort v posameznih območjih občinski organi, na podlagi podatkov o poteku zorenja, ki jih posreduje stroka. Odločitev pa moramo sprejet sami, glede na stanje, ki je v našem vinogradu in vina, ki ga želimo (Šikovec, 1993).

Na trgatev se je treba pravočasno pripraviti. Tukaj predvsem mislimo na higieno opreme kleti, ki bo prišla v stik z moštom. Pomembno je, da je trgatev opravljena v suhem vremenu in hladnejšem delu dneva, da imamo suho grozdje, kajti dež in rosa redčita grozdni sok in slabšata kakovost, česar pa ne želimo. Za spravljanje grozdja uporabljamo različne posode, vendar najboljšo kakovost nam omogočajo zaboji, ki pa ne smejo biti natlačeni, da se grozdne jagode ne poškodujejo. Ko grozdje prispe v klet, sledi prevzem. Čas med trgatvijo in prevzemom naj bo čim krajši. Način prevzema je odvisen od velikosti kleti in količine grozdja (Milek, 2001).

### 2.9.2 PECLJANJE

S pecljanjem dosežemo, da ločimo grozdne jagode od pecljevine. Za zrele jagode je značilno, da se lepo ločijo. S pecljanjem se znebimo velikega deleža »trdih« snovi, s katerimi bi zmanjšali kakovost vina. Potrebno je še posebej če jagode maceriramo. To opravilo opravimo s pecljalnikom, ki ima na sredini vreteno na katerem so lopatice, katere se vrtijo in omogočajo ločevanje jagod od pecljevine. Paziti je treba, da vrtljaji niso previsoki, saj bi tako poškodovali pecljevino (Wondra, 2003).

### 2.9.3 DROZGANJE

Je postopek s katerim dosežemo ločitev jagodnega mesa od kože. Postopek se opravlja z drozgalnikom, ki je stroj, ki ima v osnovi dva valja iz ne-korozivne snovi. Med ta dva valja pride jagoda katero stisneta in dosežena je ločitev. Pazljivo je treba pred vsakim drozganjem nastaviti razdaljo med valjema, ki je odvisna od debeline jagod določene sorte. To počnemo zato, da ne pride do poškodbe kožic, predvsem pa pečk, ki vsebujejo snovi, ki zmanjšujejo kakovost vina. Ponavadi sta pecljalnik in drozgalnik, kot dve komponenti enega stroja (Wondra, 2003).



#### 2.9.4 STISKANJE DROZGE

Stiskanje je eden od odločilnih postopkov pri predelavi vina. Cilj stiskanja je ločitev tekočega dela od trdih delov grozdja. Kakovostno stiskanje ne povzroča poškodb jagodne kožice in pečk. V ta namen naj stiskanje poteka v smeri čim večjega izkoristka s čim manjšimi tlaki. Po stiskanju dobimo mošt in tropine. Tako kot stiskanje je za kakovost vina pomembna tudi stiskalnica. Kakovostno stiskanje in stiskalnica, omogočita tudi manjšo prisotnost mehanskih delcev. Prevladujejo horizontalne stiskalnice, ki omogočajo enostavno, avtomatizirano delovanje, pri določenem tlaku s kratkim časom stiskanja. Pomemben je tudi izkoristek, ki je odvisen od sorte, letnika, zdravstvenega stanja, načina stiskanja in vrste stiskalnice (Milek, 2001).

#### 2.9.5 BISTRENJE

Mošt, ki ga dobimo iz stiskalnice, je seveda zelo moten in vsebuje še veliko delcev tal, delcev pecljevine, jagod, kvasovk, pektičnih substanc, beljakovin, ki precipitirajo... Količina teh delcev je odvisna od: zrelosti oziroma od prezrelosti, okužbe z plesnijo in načina stiskanja ter vrste stiskalnice (Ribéreau-Gayon, 1971). V osnovi sta dva mehanska postopka s katerima zbistrimo mošt. V majhnih kletah se uporablja samobistrenje ali razsluzenje, ki običajno poteka 12-48 ur, z uporabo enoloških sredstev pa skrajšamo čas na 4-6 ur pri nizki temperaturi 8 °C. Bister mošt nato ločimo od usedline in pretočimo v posodo za alkoholno fermentacijo. V velikih kletah uporabljajo mehanično bistrenje preko centrifuge ali vakuumskega filtra. Bister mošt omogoča relativno čisto in enakomerno vrenje. Mošt ne sme biti prebister, saj mora vsebovati potreben delež motnih delcev, na katere se usedejo kvasovke in fermentirajo. V primeru, da je mošt prebister je možno, da pride do usedanja kvasovk in zakasnitve fermentacije.

Pri ravnanju z moštom z današnjo stopnjo tehnične opremljenosti, pri glavnini naših pridelovalcev ne gre brez žveplanja mošta. Prizadevati, pa si moramo, da uporabo SO<sub>2</sub> omejimo na najmanjšo možno uporabo (Milek, 2001).

#### 2.9.6 ALKOHOLNA FERMENTACIJA

Alkoholna fermentacija je že podrobno opisana v prejšnjih poglavjih, dodal bom še komentar, o vrelni posodi. Posoda v kateri poteka alkoholna fermentacija mošta je lahko po pretoku v majhnih kletah tudi ležalna posoda v kateri vino zori. Lesen sod, ki ga je težko očistiti in konzervirati oziroma uravnati vrelna temperaturo, je bil v zadnjih desetletjih kot vrelna posoda najbolj na udaru. Tudi plastični ali betonski tanki so podobno kot lesen sod- slabo toplotno prevodni. Lesen sod večje prostornine ni najboljša izbira za alkoholno fermentacijo mošta, ker je slab prevodnik toplote in zadržuje med vrenjem sproščeno energijo v obliki povišane temperature. Onemogoča uravnavanje fermentacijske temperature. Za vodeno alkoholno fermentacijo, je najprimernejša INOX posoda. Tako lahko uravnavamo vrelna temperaturo ali z znižanjem temperature zaustavimo alkoholno fermentacijo. Kljub temu ima lesen sod pozitivne lastnosti za pospešeno zorenje mladega vina po prvem pretoku, ker ima pore in prepušča kisik.

Pomemben del vrelna posode je vrelna veha. Z njimi preprečimo vstop nezaželenega kisika v posodo in omogočimo odvajanje ogljikovega dioksida med alkoholno fermentacijo. Vrelne vehe so lahko iz stekla, kovine ali plastične mase. Ko v vrelni vehi ne opazimo več mehurčkov pomeni, da je fermentacija potekla. Posodo moramo dopolniti, ker zaradi

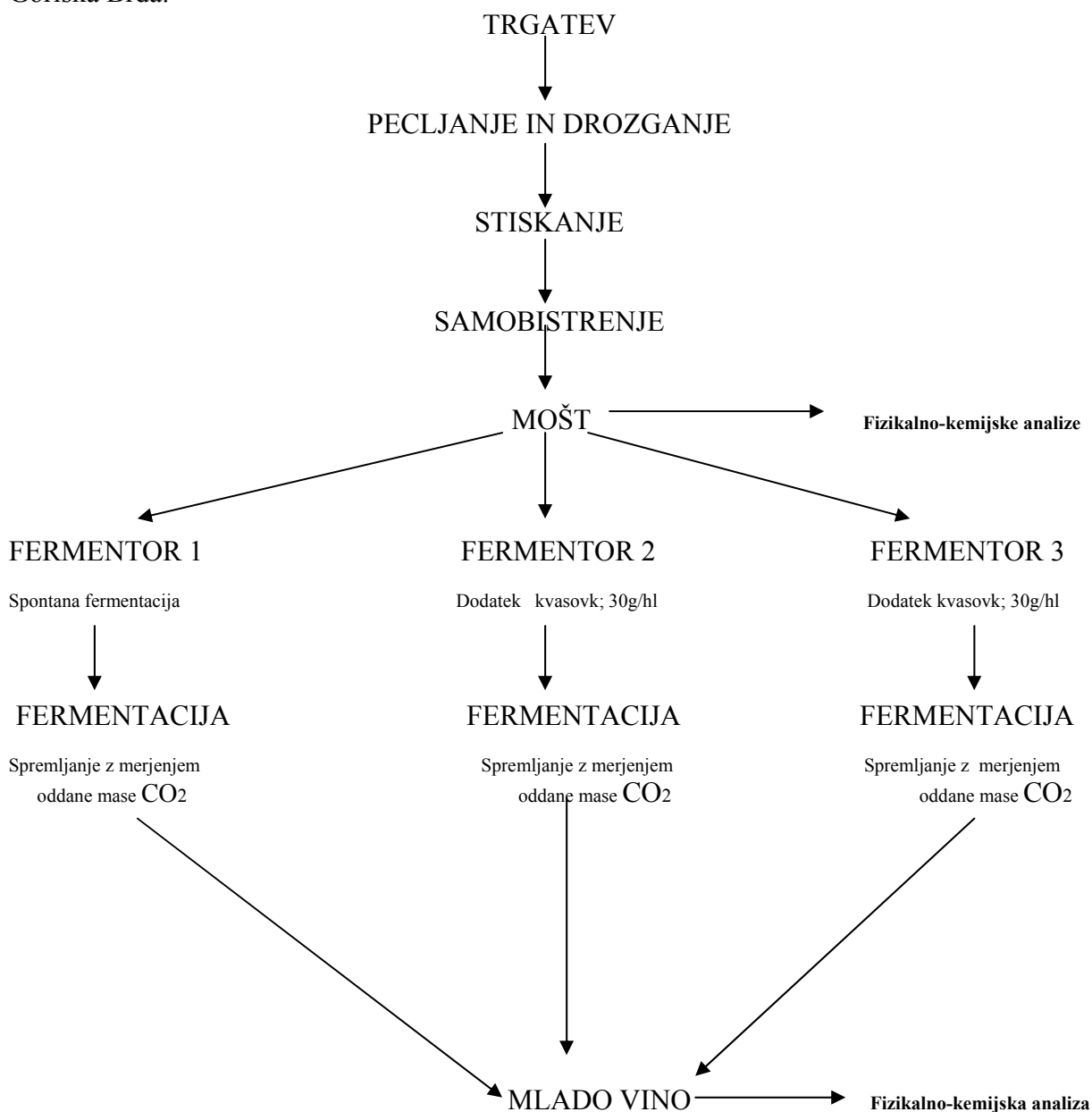
morebitnega slabega tesnenja vehe lahko pride do vdora kisika in posledično do napak vina (Šikovec, 1993).

Pred prvim pretokom vino pustimo, da se samo zbistri, nato dodamo žveplo in opravimo prvi pretok, ki naj bo, če je mlado vino brez napak brez-zračen.

### 3 MATERIAL IN METODE DELA

#### 3.1 ZASNOVA POSKUSA

Poskus se je začel konec septembra 2005 v Snežatnem, v vinogradu zadruženika Vinske kleti Goriška Brda.



Slika 5: Shema poskusa

## 3.2 MATERIAL

Surovina je bilo grozdje sorte Rebula. Pridelano je bilo v kraju Snežatno. Vinograd obsega 3200 trsov, ekspozicija vinograda je južna. Letnika sajenja sta za 1500 trsov 1973, za ostalih 1700 pa 1976. Vzgojna oblika je dvojni guyot. Sadilne razdalje so 2,40 m med vrstama in 1,20 m v vrsti, tako da je gostota sajenja 3472 trt/ha. Naklon vinograda je 30 %. Obremenitev po trti je bila okoli 3,5 kg/trto. Vinograd je zatravljen.

Starter kultura, ki smo jo uporabili, so bile liofilizirane kvasovke UVAFERM SLO.

Pri fizikalnih in kemijskih analizah smo uporabili reagente, ki jih predpisuje določena metoda.

## 3.3 METODE DELA

### 3.3.1 TRGATEV

Trgatev je bila opravljena v treh delih. Po prognozi Kmetijsko-veterinarskega zavoda Nova Gorica o datumu trgatve za sorto Rebula, smo glede na ta datum planirali trikratno trgatve grozdja. To se je zgodilo en teden pred napovedanim datumom (26.09.2005), na datum napovedane trgatve (04.10.2005) (trgatev je bila opravljena že po šestih dneh, ker je za naslednji dan bil napovedan dež) in en teden kasneje (10.10.2005). Trgatev je potekala na petdesetih trtah, ki smo jih enakomerno označili po celem vinogradu. Trgatev je potekala tako, da smo na vsaki trti nabrali kilogram grozdja, čim bolj enakomerno. V primeru, da je bilo grozdje gnilo smo del grozda odstranili. Trgatev je potekala v zgodnjih jutranjih urah, oziroma poznih popoldanskih, da grozdje ni bilo izpostavljeno visokim temperaturam med trgatvijo in dodatnemu izhlapevanju. Grozdje je bilo nabrano v lesene zabožčke.

### 3.3.2 TEHNOLOGIJA PREDELAVE GROZDJIA

Grozdje je bilo pripeljano v zabožčkih v Ljubljano na Katedro za vinarstvo, kjer se je poskus tudi opravljal. Po opravljenem tehtanju, je sledilo pecljanje in drozganje na pecljalniku in drozgalniku katedre za vinarstvo. Sledilo je stiskanje v 150 L pnevmatski stiskalnici, maksimalno do tlaka štirih barov, 30 minut, z enkratnim vmesnim rahljanjem. Po stiskanju smo mošt natočili v plastično 50 L posodo z odmičnim pokrovom, katero smo prenesli v prostor z 8 °C, na 22-24 urno samobistrenje. Po bistrenju smo bister mošt ločili od usedline, ga homogenizirali in natočili trikrat po 9L tega v tri 10L balone, kateri so nam kasneje služili kot fermentorji. Poleg treh glavnih poskusov, smo za spremljanje kinetike alkoholne fermentacije natočili še trikrat po pol litra v fermentacijske stekleničke z vrelni veho. Dnevno smo merili maso oddanega CO<sub>2</sub>, na podlagi katerega smo se odločili za datum konca fermentacije in kemijske analize mošta. Del razsluzenega mošta smo vzeli za kemijsko analizo. Posode smo prenesli v celico v kateri je bilo okoli 17 °C, tam jih pustili okoli 1 uro, da se je celoten mošt ogrel. Posode so bile zaprte z vrlnimi vehami. Po 1 uri smo dodali liofilizirane kvasovke, ki smo jih ponovno aktivirali v koncentraciji 30 g/hL grozdnega soka, jih dobro premešali, zaprli z vrlnimi vehami in pustili fermentirati. Fermentacija je potekala tri tedne pri temperaturi od 16-18 °C. Po končani fermentaciji smo odvzeli vzorce in jih kemijsko analizirali. Tak postopek je bil opravljen pri vseh treh trgatvah.

### 3.4 FIZIKALNE IN KEMIJSKE ANALIZE MOŠTA IN VINA

Analize smo opravili na Katedri za vinarstvo, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Vse analize in meritve smo opravili v treh ponovitvah, mošt in vino pa smo pred vsako analizo prefiltrirali skozi grob filter papir, s porami premera 125  $\mu\text{m}$ .

#### 3.4.1 DOLOČANJE VSEBNOSTI REDUCIRAJOČIH SLADKORJEV V MOŠTU IN VINU

Titribilna metoda po Rebeleinu (Košmerl in Kač, 2003):

Opis metode: S Fehlingovim reagentom in s segrevanjem reakcijske mešanice do vrenja, kvantitativno oksidiramo reducirajoče sladkorje do karboksilnih kislin. Divalentni bakrov ion iz reakcijske zmesi se reducira do bakrovega enovalentnega iona, tako da se izloči oborina bakrovega(I) oksida. Bakrovi divalentni ioni, ki niso reagirali oziroma se niso reducirali, se ob dodatku raztopine kalijevega jodida v kislem reducirajo, nastali jod pa titrimetrično določimo z raztopino natrijevega tiosulfata, v prisotnosti škrobovice kot indikatorja. Koncentracijo reducirajočih sladkorjev odčitamo v g/L direktno iz birete, ob upoštevanju slepega vzorca. Pri slepem vzorcu, namesto vina odmerimo enako količino destilirane vode.

Reagenti: raztopina  $\text{CuSO}_4$ , raztopina  $(\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6)$ , raztopina  $\text{KI}$ , raztopina  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , raztopina škrobovice, raztopina  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Oprema: električni grelec, pipete, erlenmajerice, puhalka z deionizirano vodo, ura, bireta.

#### 3.4.2 DOLOČANJE pH VINA

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2003):

Opis metode: Pri merjenju pH merimo razliko potencialov med referenčno elektrodo, ki ima stalen potencial in drugo, merilno elektrodo, ki je steklena. Njen potencial pa je odvisen od aktivnosti  $\text{H}_3\text{O}^+$  ionov. Danes se večinoma uporablja kombinirano stekleno elektrodo, kjer sta merilna in referenčna metoda v enem kosu. V elektrodi je elektrolit, ponavadi je to  $\text{KCl}$ , njegov nivo mora biti vedno dovolj visok. Preden začnemo elektrodo uporabljati jo moramo umeriti na pH 4,0 in 7,02, nato pa še preveriti vrednost pufru pri pH 4,01. Merimo tako da elektrodo potopimo v mošt ali vino in počakamo, da se pH umiri. pH mora biti merjen pri temperaturi  $20^\circ\text{C}$ , ker je pH močno odvisen od temperature.

Reagenti: pufrna raztopina s pH 4,0; pH 7,02 in pH 3,0

Oprema: pH meter s kombinirano stekleno elektrodo.

#### 3.4.3 DOLOČANJE SKUPNIH (TITRABILNIH) KISLIN V VINU

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2003):

Opis metode: S kombinirano stekleno elektrodo, s katero v vinu ali moštu merimo razliko v potencialu med referenčno in merilno elektrodo merimo pH, na avtomatskem titratorju pa poteka titracija kislin v vzorcu. Titracija poteka z 0,1 M raztopino  $\text{NaOH}$ , do pH 7,0 oziroma

8,2. Iz porabljenega volumna NaOH in koncentracije lahko preračunamo porabo v g vinske kisline/L mošta ali vina.

Reagenti: pufrna raztopina s pH 4,0; pH 7,02 in pH 3,0; 0,1 M raztopina NaOH.

Oprema: pH meter s kombinirano stekleno elektrodo, pipeta (25 mL), puhalka z deionizirano vodo.

### 3.4.4 DOLOČANJE (DEJANSKE) PUFRNE KAPACITETE

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2003):

Opis metode: Pufrno kapaciteto mošta ali vina opišemo kot lastnost mošta ali vina, da se njun pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz bistveno ne spremeni. Je funkcija pH. V moštu ali vinu, ki sta raztopini različnih šibkih organskih kislin, lahko pufrno kapaciteto, ki je aditivna lastnost, ocenimo na osnovi koncentracije vsake posamezne kisline in njene  $pK_a$  vrednosti. Pri določanju dejanske pufrne kapacitete merimo razliko v potencialu kombinirane steklene elektrode, pri katerem uporabljamo pH meter s skalo v pH enotah. Ko je potopljena že umerjena pH elektroda v nekem volumnu vzorca vina ali mošta, izmerimo začetno pH vrednost, nato pa prvo dodamo petkrat po en mililiter 0,1 M NaOH in ob vsakem dodatku izmerimo pH. Potem to še enkrat ponovimo spet v novem enakem volumnu vzorca istega vina, le da namesto 0,1 M NaOH, dodajamo 0,1 M HCl. Ko imamo podatke, volumne kisline in baze preračunamo v mmol/l mešanice  $H_3O^+$  in  $OH^-$  ionov. Narišemo dve krivulji, ob dodajanju kisline in ob dodajanju baze, kot pH v odvisnosti dodanih mmol/L mešanice  $H_3O^+$  in  $OH^-$  ionov. Iz njiju dobimo njuno enačbo. Iz enačbe premic izračunamo za vsako, kolikšno množino  $H_3O^+$  in  $OH^-$  ionov je treba dodati za povečanje ali zmanjšanje pH vrednosti za 0,5 enote. Tako dobimo kislinsko in bazično pufrno kapaciteto, kot mmol/L/0,5pH. Če ju seštejemo, dobimo dejansko pufrno kapaciteto v mmol/L/pH.

Reagenti: pufrne raztopine s pH 4,0; pH 7,02 in pH 3,0; 0,1 M raztopina NaOH, 0,1 M HCl.

Oprema: pH meter s kombinirano stekleno elektrodo, pipeta (50mL), puhalka z deionizirano vodo.

### 3.4.5 DOLOČANJE RELATIVNE GOSTOTE MOŠTA IN VINA TER SKUPNEGA EKSTRAKTA V MOŠTU IN VINU

Analize vina in mošta z Mettler-Paar denzimetri (Košmerl in Kač, 2003):

Opisi metode:

-Merjenje relativne gostote mošta in vina: Relativna gostota mošta ali vina pri neki določeni temperaturi (ponavadi je to 20 °C), je razmerje med gostoto mošta ali vina in gostoto vode pri enaki temperaturi. Suha namizna vina imajo relativno gostoto blizu 1; izjema so le suha alkoholno zelo bogata vina, ki imajo relativno gostoto občutno manjšo od 1. Mošt in vina s preostankom sladkorja imajo relativno gostoto nad 1. Na gostoto vina vplivajo snovi, ki so višje gostote ali nižje gostote v primerjavi z vodo. Merjenje relativne gostote je z Mettler-Paar denzimetri zelo enostavno. Potrebno je imeti mošt ali vino, ki je bilo prefiltrirano skozi grob filter papir in ki ne vsebuje motečega  $CO_2$ . Tako z vinom napolnimo brizgalko in spustimo dvakrat vzorec skozi denzimeter, nato v tretje napolnimo cevko v denzimetru in pazimo, da v merilni cevki ni mehurčkov. Aparat sam izmeri relativno gostoto, mi pa samo izpišemo rezultat.

Oprema: Mettler-Paar denzimeter, deionizirana voda, brizgalka.

-Določanje skupnega ekstrakta in alkohola v vinu:

-Skupni ekstrakt: Skupni ekstrakt vina sestavljajo po definiciji O.I.V. pri 100 °C nehlapne komponente vina (glicerol, sladkorji, fiksne kisline, organske soli,...). Na osnovi vsebnosti ekstrakta vina lahko sklepamo na začetno vrednost sladkorja v moštu, iz katerega je bilo vino pridelano. Rdeča vina imajo več ekstrakta brez sladkorja v primerjavi z belimi in rosé vini. Ekstrakt brez sladkorja je po definiciji razlika med skupnim ekstraktom in reducirajočimi sladkorji. Vsebnost ekstrakta je odvisna od sorte, zrelosti, načina trgatve in pogojev vinifikacije. Vpliv različnih sevov čiste kulture kvasovk v primerjavi s spontanim vrenjem po literarnih podatkih ni statistično značilen. Vsebnosti ekstrakta brez sladkorja je 7-30 g/l (povprečje 20 g/l); minimalne vrednosti so zakonsko predpisane.

-Opis metode: Vzorec damo v 100 mL bučko (damo ga čez oznako) in ga termostatiramo 20 min pri 20 °C. Nato s kapalko uravnamo meniskus vzorca z oznako in ga kvantitativno prenesemo v destilacijski aparat. Dodamo 5 mL 12 % raztopine kalcijevega oksida zaradi boljše prevodnosti, 2-3 kapljice protipenilca in speremo stene destilacijske posode z deionizirano vodo. Vzorec destiliramo v 100 mL bučko do volumna 75-80 mL, dopolnimo pod oznako z deionizirano vodo, ga termostatiramo še 20min pri 20°C, dopolnimo z deionizirano vodo do meniskusa, premešamo in izmerimo relativno gostoto ter volumski % alkohola na denzimetru.

Izračun relativne gostote in vsebnost skupnega ekstrakta:

Po AOAC relativno gostoto skupnega ekstrakta vina izračunamo po Tabarijévem obrazcu:

$d_{se} = d_v - d_a + 1,0000$ , kjer pomeni  $d_v$  relativno gostoto vzorca vina in  $d_a$  relativno gostoto alkoholnega destilata. Na podlagi znane relativne gostote, iz tabele odčitamo masno koncentracijo skupnega ekstrakta. Predpisana je tudi korekcija relativne gostote skupnega ekstrakta vina zaradi očetne kisline in skupnega SO<sub>2</sub>.

Reagenti: 12 % raztopina kalcijevega oksida, 20 % raztopina protipenilca.

Oprema: destilacijska naprava (D.E.E.Gibertini), merilna bučka(100 mL), kapalka, puhalka z deionizirano vodo.

### 3.4.6 DOLOČANJE HLAJNIH KISLIN V VINU

Destilacijska metoda (Cash steam distillation, Markham steam distillation) (Košmerl in Kač, 2003):

Opis metode: Vzorec vina odpipetiramo v destilacijsko bučko (20 mL), dodamo 1 mL 50% raztopine vinske kisline in 2-3 kapljice protipenilca. Stene speremo z deionizirano vodo. Destiliramo z vodno paro v 250 mL erlenmajerico, 150 mL destilata. Destilatu dodamo nekaj kapljic fenolftaleina in titriramo z 0,1 M NaOH. Iz porabe NaOH, izračunamo koncentracijo hlapnih kislin kot masno koncentracijo očetne kisline. Koncentracijo kislin korigiramo na prisoten SO<sub>2</sub>.

Reagenti: 0,1 M raztopina NaOH, 1 M raztopina NaOH, 1 % alkoholna raztopina fenoltaleina, 0,01 M raztopina joda, raztopina žveplove(IV) kisline (1+3), 1 % raztopina škrobovice, 50 % raztopina vinske kisline, 20 % raztopina protipenilca.

Oprema: generator pare (VADE, Gibertini), destilacijska naprava (D.D.E. Gibertini), pipete, erlenmajerice (250 mL), bireta, kapalka, puhalka z deionizirano vodo.

### 3.4.7 DOLOČANJE FENOLNIH SNOVI

Spektrofotometrična metoda (Košmerl in Kač, 2003):

Opis metode: Fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo UV in vidnega spektra. Pri primerni valovni dolžini, tako lahko odčitano vrednost absorbance uporabimo za oceno koncentracije skupnih fenolov. Koncentracijo skupnih fenolnih snovi določamo s pomočjo Folin-Ciocalteu (F.C.) reagenta. Ta se v alkalni raztopini (ob dodatku natrijevega karbonata), reducira v prisotnosti fenolnih snovi. Reagent F.C. je vodna raztopina natrijevega volframata(VI), natrijevega molibdata(VI), in litijevega sulfata(VI); slednji prepreči obarjanje F.C. reagenta. Ko dodamo v zmes F.C. reagent in natrijev karbonat (zaradi alkalnosti) pride do redukcije volframata(VI) in molibdata(VI), ki poteče le ob prisotnosti fenolatnega aniona. Če pride do redukcije se raztopina obarva modro, če pa fenolatni ion ni prisoten in ne pride do redukcije volframata(VI) in molibdata(VI), ostane raztopina rumene barve. Absorbanco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm. Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin odčitamo iz umiritvene krivulje in rezultat izrazimo kot mg galne kisline/L. To kislino uporabimo kot standardno referenčno spojino za določanje skupnih fenolnih spojin.

Reagenti: osnovna raztopina galne kisline, Folin-Ciocalteujev reagent, 20 % raztopina natrijevega karbonata, deionizirana voda.

Oprema: UV-VIS spektrofotometer, kivete (10 mm), merilne bučke (100 mL), avtomatska pipeta, puhalka z destilirano vodo.

### 3.4.8 DOLOČANJE PROSTEGA AMINOKISLINSKEGA DUŠIKA V VINU

Spektrofotometrična metoda ali metoda IASMA (Košmerl in Kač, 2003):

Opis metode: Vzorec mošta ali vina razredčimo, da je koncentracija aminokislinskega dušika od 0,5-1,5 mg N /L, ker za to območje velja Beer-Lambertov zakon. Temu dodamo razvijalec barve (ninhidrin, acetatni pufer) in ga segrevamo 20 min pri 100°C. Nato vzorec ohladimo na 20 °C, mu dodamo 10 mL raztopine za razredčevanje, dobro premešamo in posnamemo absorpcijski spekter v območju valovne dolžine od 450 do 700 nm. Iz posnetega spektra izračunamo absorbanco  $A=(x/y)*z$ , kjer je x delovno območje; odvisno od intenzitete vijolične barve, y je višina grafa v cm, z pa navpična razdalja med absorpcijskim maksimumom in narisano bazno linijo (cm). Koncentracijo FAN v vzorcu lahko odčitamo iz umeritvene krivulje, ki jo po enakem postopku, kot analiziramo vzorec, pripravimo z raztopinami L(-)-treonina znane koncentracije. Rezultat izrazimo v mg N/L.

Reagenti: osnovna raztopina L(-)-treonina, acetatni pufer (pH 5,53), barvni reagent, raztopina za razredčevanje.

Oprema: UV-VIS spektrofotometer, kivete (10 mm), erlenmajerica (500 mL), epruvete, merilne bučke (100 in 1000 mL), avtomatska pipeta, puhalka z deionizirano vodo.

### 3.4.9 DOLOČANJE BARVE VINA

Spektrofotometrična metoda (Košmerl in Kač, 2003):

Opis metode: Barvo opisujemo različno glede na spekter absorbirane in prepuščene svetlobe, pri čemer vse subjektivne zaznave ne pomenijo jasno definirane fizikalne veličine (intenziteta, odtenek barve in spekter svetlobe). Človeško oko ni sposobno razlikovati posameznih komponent barve ločeno po valovnih dolžinah. Obarvanost belih vin merimo direktno (brez razredčitve) s spektrofotometrom; merimo absorbanco vzorca pri valovni dolžini 420 nm. V širšem spektru svetlobe od 400-440 nm lahko izmerimo tudi odtenke rjave barve belih vin. Poleg intenzivnosti barve belih vin pri 420 nm, pri 600 nm izmerimo njegovo motnost. Pri merjenju intenzivnosti barve in motnosti mora vzorec vina najprej čez filter z modrim trakom.

Oprema: UV-VIS spektrofotometer, kivete (10 mm), epruvete 20mL, filter papir z modrim trakom, lij.

### 3.4.10 DOLOČANJE SLADKORJEV IN ORGANSKIH KISLIN (Milek, 2001)

Koncentracijo organskih kislin smo določali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC), s kromatografom znamke Knauer.

Priprava vzorcev: Najprej pripravimo standard za kvantifikacijo: v 100mL bučke zatehtamo določene koncentracije posameznih kislin in sladkorjev, ki jih pričakujemo v vzorcih in jih dopolnimo z destilirano vodo do oznake.

Vzorci in standarde predhodno prefiltriramo skozi 0,45 µm celulozno acetatni filter in jih nato prenesemo v steklene vial. Sledi določanje na HPLC.

Masne koncentracije kislin(vinska, jabolčna, citronska, mlečna, jantarna), sladkorjev (glukoza, fruktoza, saharoza) ter glicerola v g/L se izračuna po matematični zvezi;  $c(\text{vzorec}) = (A(\text{vzorec}) * c(\text{standard})) / A(\text{standard})$

$c(\text{standard})$ .....koncentracija standardne raztopine (g/L)

$A(\text{standard})$ .....površina signala standardne raztopine

$A(\text{vzorec})$ .....površina signala vzorca

Določanje organskih kislin:

Kromatografski pogoji:

- razplinjevalnik: X-Act, Jour Research;
- črpalka: BIO-RAD, AMINEX HPX-87 H, dimenzij 300 x 78 mm;
- mobilna faza: 0,0125 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;
- pretok mobilne faze 0,5 mL/min, T= 65 °C;
- avtomatski podajalec vzorcev v grelno komoro: Marathon- XT, Spark Holland;
- volumen injeciranja 20µL;
- detektor: KNAUER, UV-VIS, 212 nm;
- zapis signala: programska oprema Eurochrom 2000.



Določanje sladkorjev in glicerola:

Kromatografski pogoji:

- razplinjevalnik: X-Act, Jour Research;
- črpalka: BIO-RAD, AMINEX HPX-87 H, dimenzij 300 x 78 mm;
- mobilna faza: 0,0025 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;
- pretok mobilne faze 0,5 mL/min, T=25 °C;
- avtomatski podajalec vzorcev v grelni komoro: Marathon- XT, Spark Holland;
- volumen injiciranja 20 µL;
- detektor: RI K-2301, Knauer;
- zapis signala: programska oprema Eurochrom 2000.

### 3.4.11 DOLOČANJE VIŠJIH ALKOHOLOV IN Hlapnih snovi (Milek, 2001)

Opis metode: Hlapne snovi in višje alkohole določimo tako, da destilat, ki ga dobimo pri določevanju skupnega ekstrakta in alkohola analiziramo na plinskem kromatografu. Koncentracijo posameznih alkoholov in hlapnih snovi določimo s pomočjo površine signala v standardu in vzorcu ter koncentracije standarda.

Destilate smo shranili v vialah v hladilniku.

Kromatografski pogoji:

- avtomatski podajalec vzorcev;
- plinski kromatograf Hewlett- Packart 5890 Series II;
- kolona HP-FFAP (50 m\* 0,2 mm\* 0,3 mm), temperatura kolone: začetna temperatura 40 °C (6 min), temperaturni gradient 25 °C/min do končne temperature 220 °C (5 min);
- injektor: razdelitev 1:50, 200 °C, volumen injiciranja: 1,0 µL, tlak je 2,18 bar, pretok N<sub>2</sub> je 45 mL/min;
- detektor: FID 300 °C, pretok H<sub>2</sub>: 40 mL/min, pretok zraka: 450 mL/min;
- nosilni plin: He, pretok 1 mL/min;
- zapis signala in obdelava podatkov: programska oprema Chem Station.

### 3.4.12 STATISTIČNA ANALIZA

Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket SAS/STAT (SAS Software. Version 8.01, 1999). V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Osnovne statistične parametre smo izračunali s proceduro MEANS, s proceduro UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve. Pri obdelavi podatkov s statističnim modelom smo uporabili proceduro GLM (General Linear Model).

Za obdelavo podatkov smo uporabili dva statistična modela. Prvega smo uporabili za obdelavo podatkov mošta, drugega pa za vino. V prvi statistični model (statistični model 1) smo vključili vpliv trgatve, v drugi (statistični model 2) smo vključili tudi vpliv načina fermentacije ter interakcijo med trgatvijo in načinom fermentacije. Vsi podatki so predstavljeni kot ocenjene srednje vrednosti (LS-mean) (Adamič, 1989).

Statistični model 1:

$$y_{ij} = \mu + T_i$$

Statistični model 2:

$$y_{ijk} = \mu + T_i + F_j + T * F_{ij} + e_{ijk}$$

$y_{ijk}$  = opazovana vrednost

$\mu$  = povprečna vrednost

$T_i$  = vpliv i-te trgateve;  $i=1,2,3$

$F_j$  = vpliv j-tega načina fermentacije;  $j$ =vodena, spontana

$T * F_{ij}$  = vpliv interakcij me i-to trgatvo in j-tim načinom fermentacije

$e_{ijk}$  = ostanek.

### **3.5 MERITVE MED FERMENTACIJO**

#### **3.5.1 MERJENJE FERMENTACIJSKE TEMPERATURE**

Fermentacijsko temperaturo smo merili s pomočjo termometra v celici, kjer so bile fermentacijske posode.

#### **3.5.2 SPREMLJANJE KONTROLNE FERMENTACIJE**

Kontrolna fermentacija je potekala vzporedno z glavno. V fermentacijske steklenice smo prenesli 0,5 L mošta in ga (ali ne pri spontanih fermentacijah) inokulirali s 30 g/hL kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* UVAFERM SLO ter ga prvič stehtali. Od takrat dalje smo redno tehtali maso stekleničk, ki se je manjšala z oddajanjem CO<sub>2</sub>.

Oprema: tehtnica, fermentacijske stekleničke z vrelni veho

## 4 REZULTATI

### 4.1 REZULTATI ANALIZE MOŠTA

Preglednica 1: Rezultati analiz razsluzenih grozdnih sokov sorte Rebula treh trgategv opravljenih 26.09 (prva trgategv), 04.10 (druga trgategv) in 10.10.2005 (tretja trgategv)

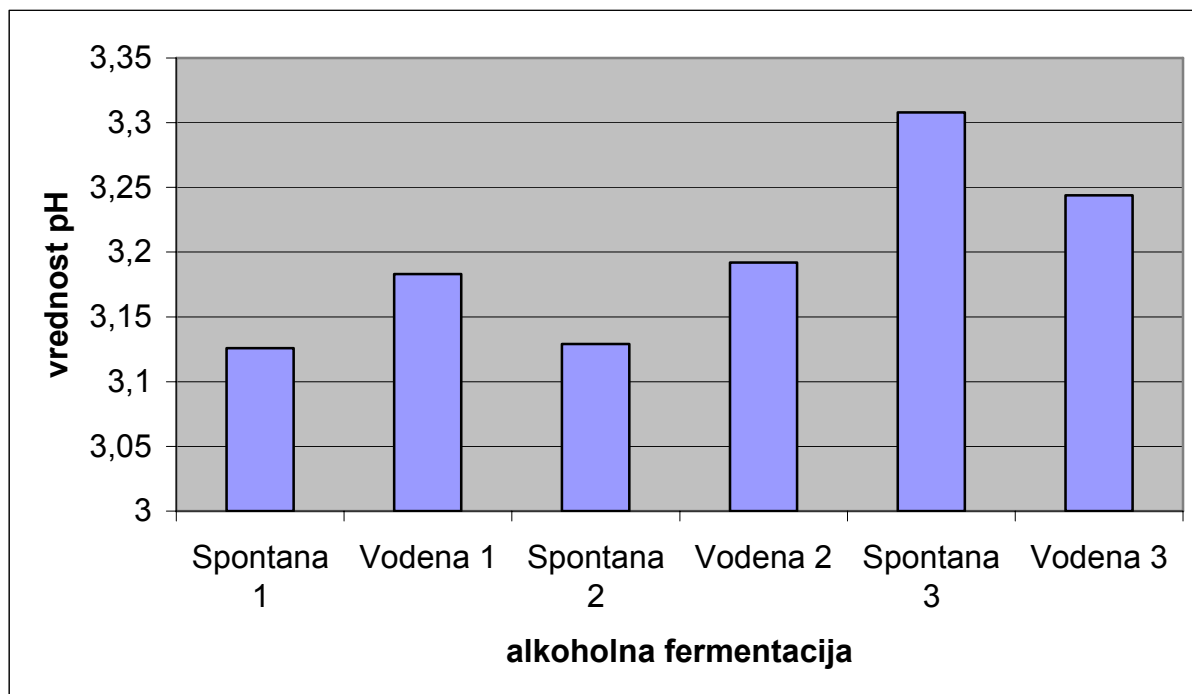
Parameter	Enota	Vrednost (prva trgategv) 26.09.05	Vrednost (druga trgategv) 04.10.05	Vrednost (tretja trgategv) 10.10.05
Bruto masa grozdja	kg	54,0	55,5	62,0
Masa pecljevine	kg	2,0	2,6	2,9
% pecljevine	%	3,7	4,7	4,7
Neto masa grozdja	kg	52,0	52,9	59,1
Volumen mošta	L	31,0	31,5	34,0
Volumen usedline	L	2,0	2,0	3,0
Reducirajoči sladkorji	g/L	162,00	176,00	176,67
pH	/	3,081	3,082	3,223
Dejanska pufrna kapaciteta	m mol/l/pH	59,17	58,29	59,25
Titribilne kisline (pH=7,00)	g/L	10,02	9,05	8,69
Titribilne kisline (pH=8,20)	g/L	10,22	9,24	8,91
Prosti aminokislinski dušik (FAN)	mgN/L	111,70	112,96	142,00
Skupni fenoli	mg galne kisline/L	181,5	190,6	225,2
Specifična gostota	/	1,07097	1,07497	1,07877
Koncentracija glukoze	g/L	90,19	86,05	87,35
Koncentracija fruktoze	g/L	79,02	93,29	94,77
Razmerje med gluk. in fruk.	/	1,14	0,92	0,92
Koncentracija vinske kisline	g/L	1,75	3,34	3,82
Konc. jabolčne kisline	g/L	5,70	4,04	3,65
Konc. citronske kisline	g/L	0,44	0,36	0,34
Konc. Jant. kisline	g/L	0,10	0,26	0,46

Analize bistrenih grozdnih sokov so bile opravljene 1 dan po trgatvi.

V tabelah so prikazane kemijsko-fizikalne lastnosti grozdnih sokov, ki so bili analizirani po predelavi in samobistrenju. Analize so bile opravljene en dan po trgatvi in predelavi, ker je razsluz potekal pri 8 °C od 22-24 h.

## 4.2 REZULTATI ANALIZE MLADEGA VINA

### 4.2.1 VREDNOST pH

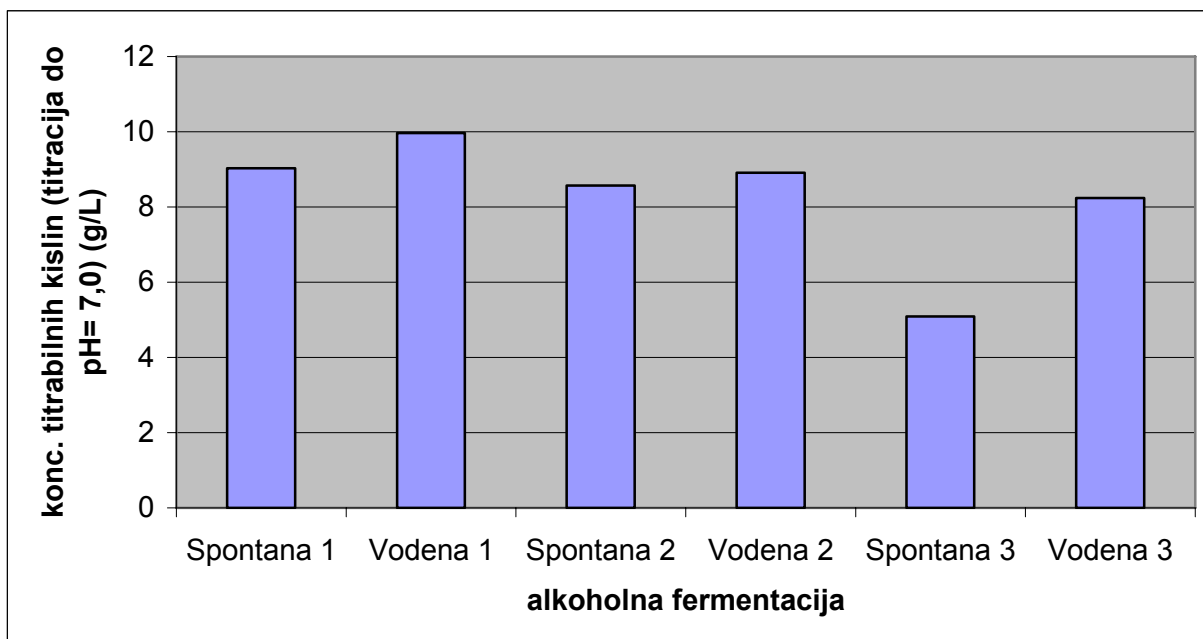


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 6: Vrednosti pH v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 6 prikazuje pH vrednosti mladih vin sorte Rebula, ki so bila pridelana z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve opazimo povečanje pH iz začetne vrednosti mošta 3,081 na pH 3,126 mladega vina pridelanega s spontano alkoholno fermentacijo in na 3,183 mladega vina pridelanega z vodeno alkoholno fermentacijo. Mlado vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo ima za 0,057 stopnje večjo pH vrednost, kot vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve opazimo povečanje pH iz začetne vrednosti mošta 3,082 na pH 3,129 mladega vina pridelanega s spontano alkoholno fermentacijo in na 3,192 mladega vina pridelanega z vodeno alkoholno fermentacijo. Mlado vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacije ima za 0,063 stopnje večjo pH vrednost, kot vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve z razliko od prejšnjih dveh trgatav, je pH mladega vina pridelanega s spontano alkoholno fermentacijo večji od pH vrednosti vina pridelanega z vodeno alkoholno fermentacijo. pH vina pridelanega s spontano alkoholno fermentacijo je 3,308, pH vina pridelanega z vodeno fermentacijo pa je 3,244. pH slednjega je manjši za 0,064 pH enote. pH vrednost mošta je bila 3,223.

#### 4.2.2 KONCENTRACIJA TITRABILNIH KISLIN (titracija do pH=7,0)

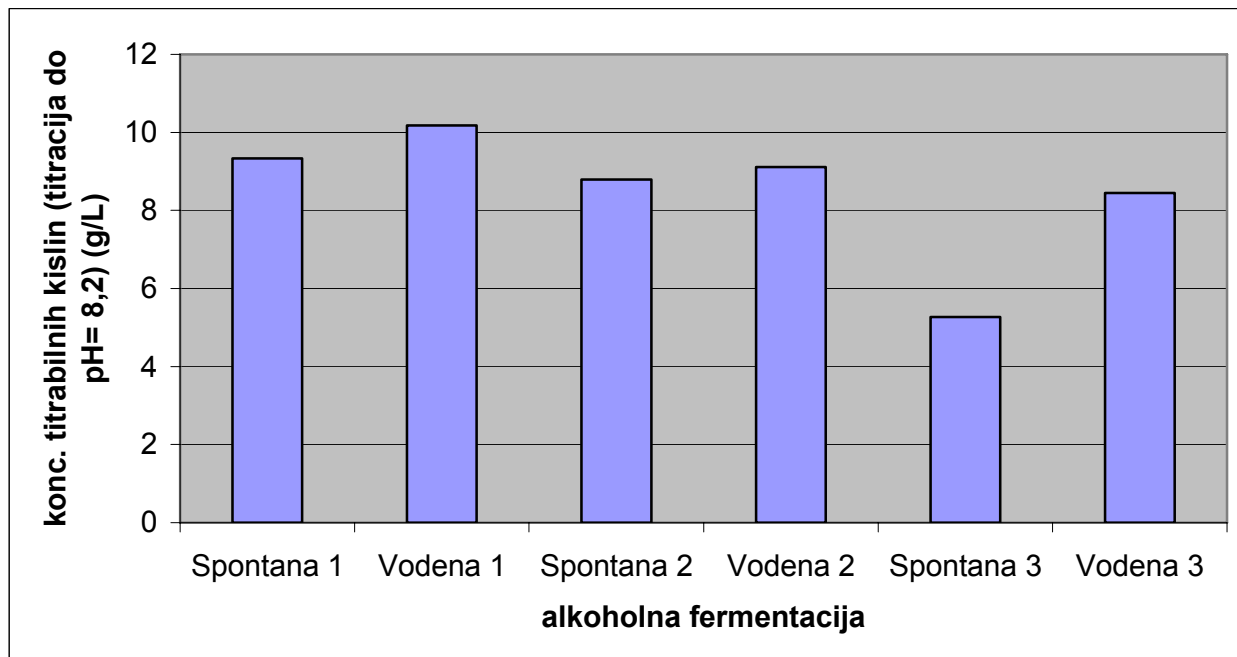


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 7: Koncentracija titrabilnih kislin v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 7 prikazuje koncentracijo titrabilnih kislin mladih vin sorte Rebula, ki so bila pridelana s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve opazimo zmanjšanje začetne vrednosti titrabilnih kislin iz 10,02 g/L v moštu, na 9,03 g/L v mladem vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 9,97 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Mlado vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo ima za 0,94 g/L večjo vrednost titrabilnih kislin kot vino, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve opazimo znižanje začetne vrednosti titrabilnih kislin iz 9,05 g/L v moštu, na 8,57 g/L v mladem vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 8,91 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Mlado vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo ima za 0,34 g/L večjo vrednost titrabilnih kislin, kot mlado vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve ima vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo 5,09 g/L titrabilnih kislin, vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo pa 8,24 g/L titrabilnih kislin, kar je za 3,15 g/L več. Pri tretji trgatvi je prišlo do največje razlike med vini. Koncentracija titrabilnih kislin v moštu, ki je bil pridobljen iz grozdja tretje trgatve je bila 8,69 g/L.

#### 4.2.3 KONCENTRACIJA TITRABILNIH KISLIN (titracija do pH=8,2)

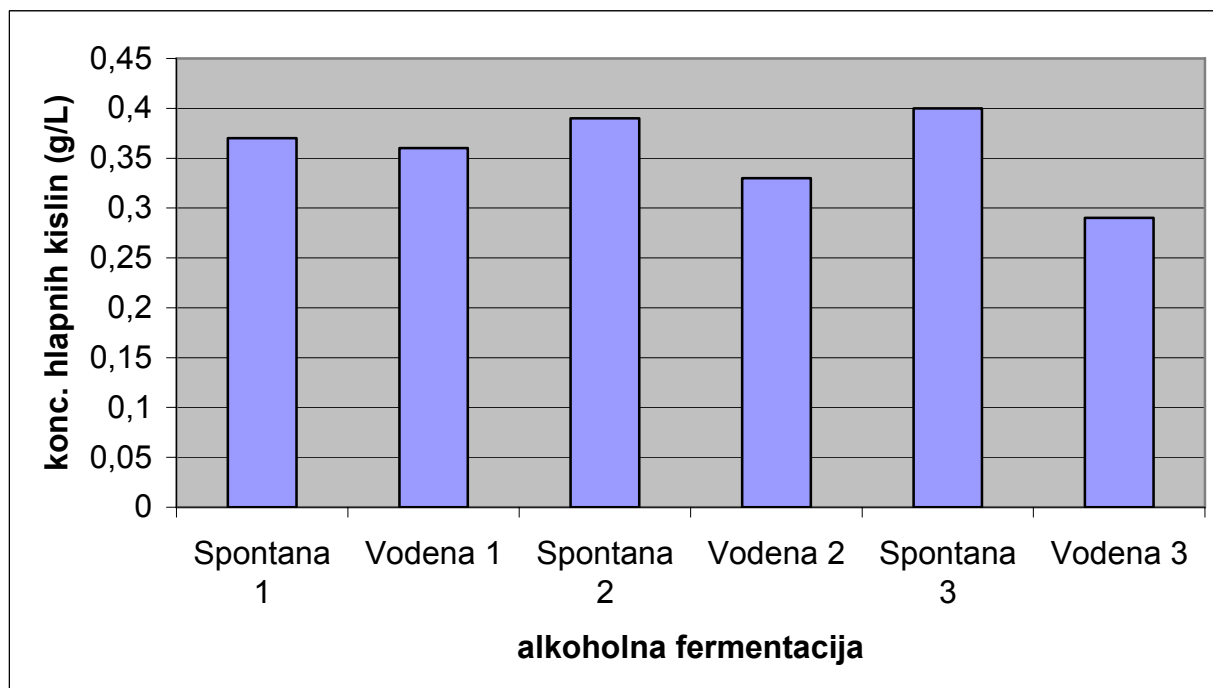


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 8: Koncentracija titrabilnih kislin v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 8 prikazuje koncentracijo titrabilnih kislin mladih vin sorte Rebula, ki so bila pridelana s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo. Vrednost titrabilnih kislin se je v vinih, ki so bila pridelana iz grozdja prve trgatve zmanjšala iz začetnih 10,22 g/L mošta, na 9,33 g/L v mladem vinu pridelanem s spontano fermentacijo, oziroma na 10,18 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Slednje mlado vino ima za 0,85 g/L večjo koncentracijo titrabilnih kislin. Koncentracija titrabilnih kislin se je v vinih, ki so bila pridelana iz grozdja druge trgatve zmanjšala iz začetnih 9,24 g/L mošta, na 8,79 g/L v mladem vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo, oziroma na 9,11 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Slednje mlado vino ima za 0,32 g/L večjo vrednost titrabilnih kislin. V vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve, je razlika med koncentracijama titrabilnih kislin med vini pridelanimi s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo 3,18 g/L in je največja med vsemi tremi trgatvami. Koncentracija titrabilnih kislin je v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo 5,27 g/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa 8,45 g/L. Začetna koncentracija titrabilnih kislin v moštu pridobljenem iz grozdja tretje trgatve je bila 8,91 g/L.

#### 4.2.4 KONCENTRACIJA Hlapnih KISLIN

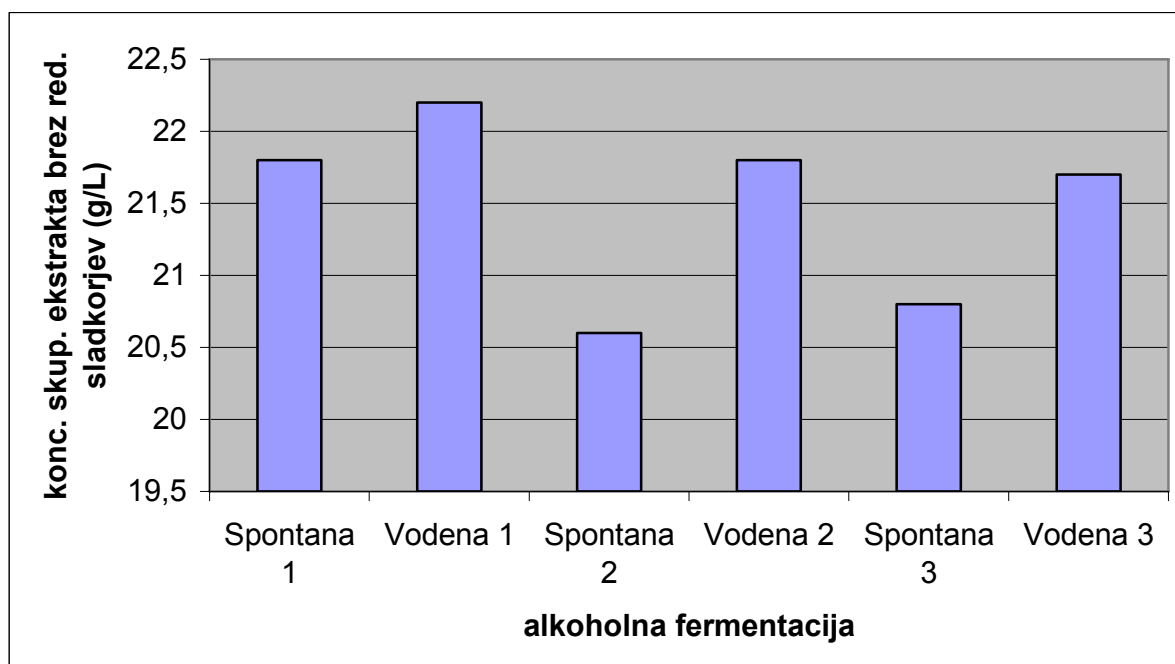


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 9: Koncentracija hlapnih kislin v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 9 prikazuje koncentracijo hlapnih kislin mladih vin sorte Rebula, ki so nastala s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo. V moštu pridelanemu iz zdravega grozdja je koncentracija hlapnih kislin skoraj ničelna, v sledovih se pojavi le v obliki mravljične kisline. V vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve je koncentracija hlapnih kislin narasla, in sicer na 0,36 g/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je vrednost narasla na 0,37 g/L. V vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je vrednost hlapnih kislin večja za 0,01 g/L. V vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve se je koncentracija hlapnih kislin povečala, in sicer na 0,33 g/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je vrednost narasla do 0,39 g/L. V vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je vrednost hlapnih kislin večja za 0,06 g/L. Za vina, ki so bila pridelana iz grozdja tretje trgatve velja, da v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija hlapnih kislin 0,40 g/L, v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo pa je koncentracija 0,29 g/L. Razlika med vini je 0,11 g/L.

#### 4.2.5 KONCENTRACIJA SKUPNEGA EKSTRAKTA BREZ REDUCIRAJOČIH SLADKORJEV



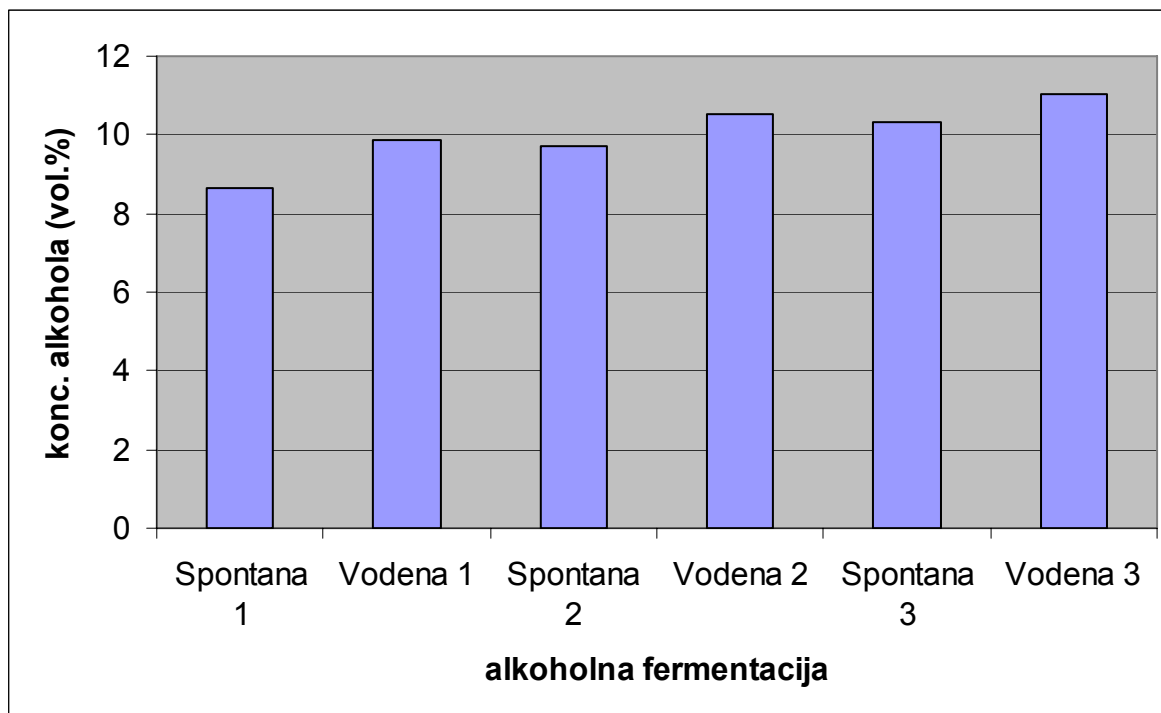
Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 10: Koncentracija skupnega ekstrakta brez reducirajočih sladkorjev v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 10 prikazuje koncentracijo skupnega ekstrakta brez reducirajočih sladkorjev mladih vin sorte Rebula, ki so bila pridelana z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo. V vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve je koncentracija le-tega v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo 21,8 g/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa 22,2 g/L. V vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija manjša za 0,4 g/L. V vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve je koncentracija skupnega ekstrakta brez reducirajočih sladkorjev v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo 20,6 g/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa je 21,8 g/L. V vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija v tem primeru za 1,2 g/L manjša. V vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve je koncentracija skupnega ekstrakta brez reducirajočih sladkorjev v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo 20,8 g/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa je koncentracija 21,7 g/L. Razlika med vini je 0,9 g/L.



#### 4.2.6 VSEBNOST ALKOHOLA

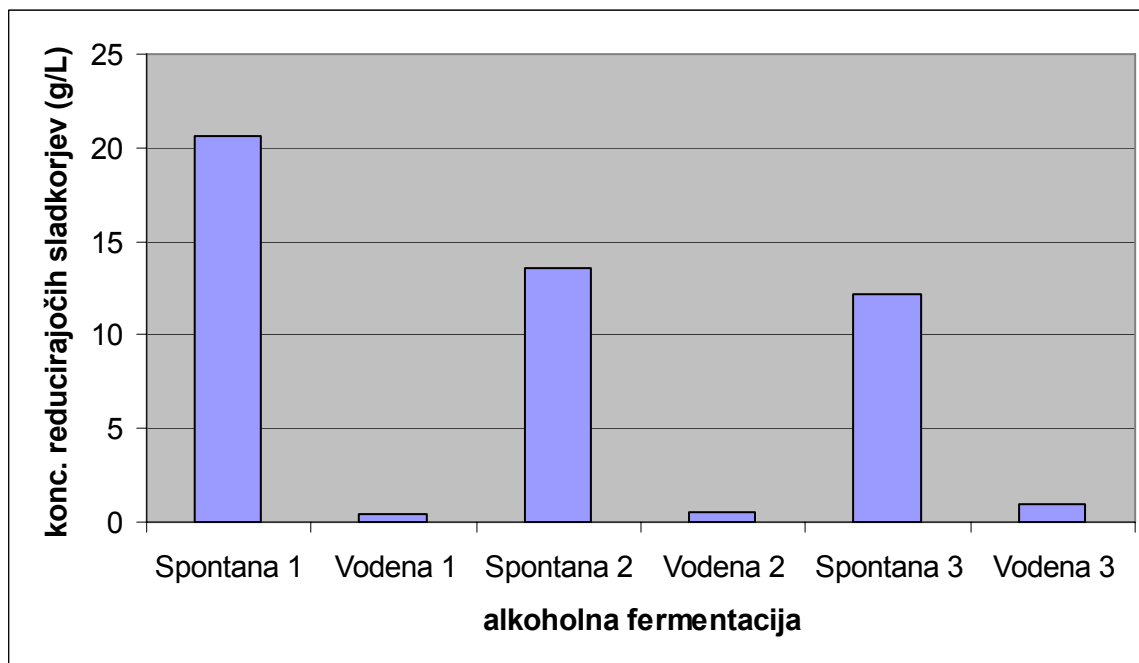


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 11: Koncentracija alkohola v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 11 prikazuje koncentracijo alkohola v mladih vinih sorte Rebula pridelanih s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo. V vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve je koncentracija alkohola v mladem vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo 8,63 vol.%, medtem ko je koncentracija alkohola v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo 9,86 vol.%. V slednjem vinu je koncentracija alkohola večja za 1,23 vol.%. V vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve je koncentracija alkohola v mladem vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholne fermentacije 9,71 vol.%, medtem ko je koncentracija alkohola v vinu, ki je nastalo z vodeno alkoholno fermentacijo 10,54 vol.%. V slednjem vinu je koncentracija alkohola večja za 0,83 vol.%. Spet je alkoholna stopnja višja v vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinih, ki so bila pridelana iz grozdja tretje trgatve je koncentracija alkohola večja v mladem vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, in sicer za 0,72 vol.%. V slednjemu je bila koncentracija 11,04 vol.%. V vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija alkohola 10,32 vol.%.

#### 4.2.7 KONCENTRACIJA REDUCIRAJOČIH SLADKORJEV

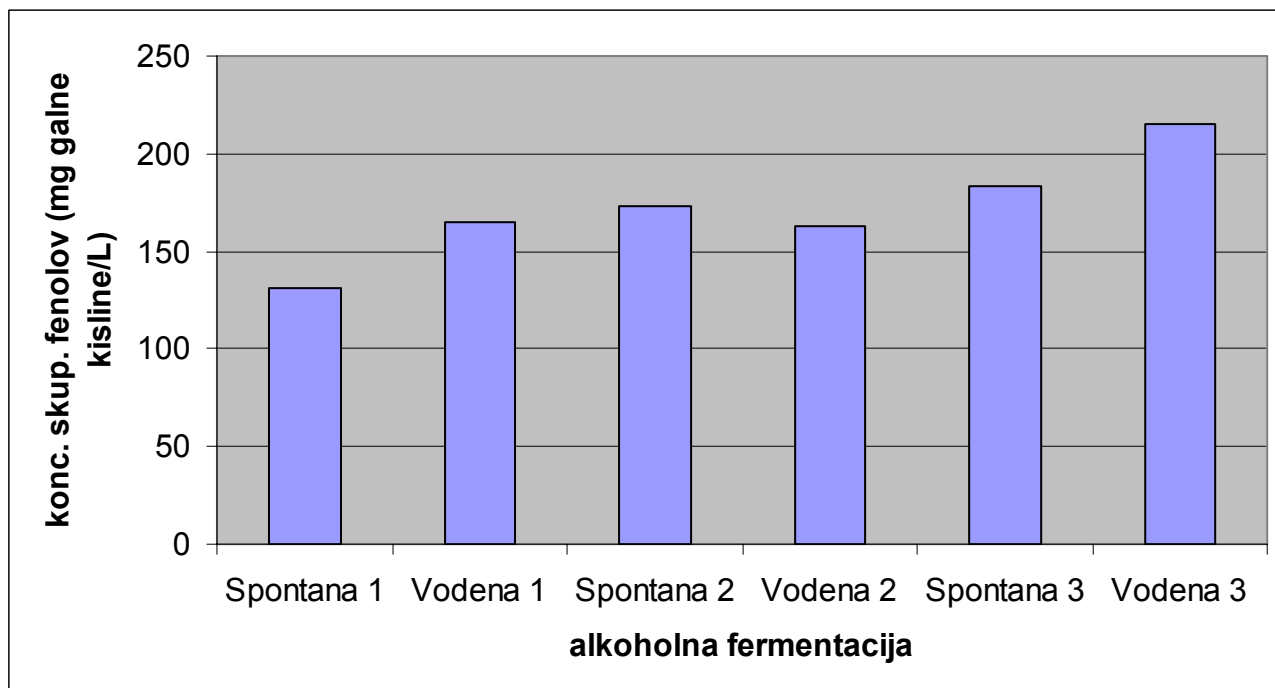


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 12: Koncentracija reducirajočih sladkorjev v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 12 prikazuje koncentracijo reducirajočih sladkorjev v mladih vinih sorte Rebula, ki so bila pridelana z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo. V vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve je v vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo ostanek reducirajočih sladkorjev 20,67 g/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa je ostanek reducirajočih sladkorjev 0,45 g/L. V vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo je ostanek manjši za 20,22 g/L. To se je zgodilo predvsem zaradi slabe fermentacijske sposobnosti avtohtone mikroflore. V vinih, ki so bila pridelana iz grozdja druge trgatve je v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo ostanek reducirajočih sladkorjev 13,62 g/L, v vinu, ki pa je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija ostanka 0,58 g/L. V vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo je ostanek manjši za 13,04 g/L. V vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve je koncentracija ostanka reducirajočih sladkorjev v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo večja, in sicer za 11,2 g/L. Koncentracija reducirajočih sladkorjev je v slednjem 12,13 g/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa 0,93 g/L.

#### 4.2.8 KONCENTRACIJA SKUPNIH FENOLOV

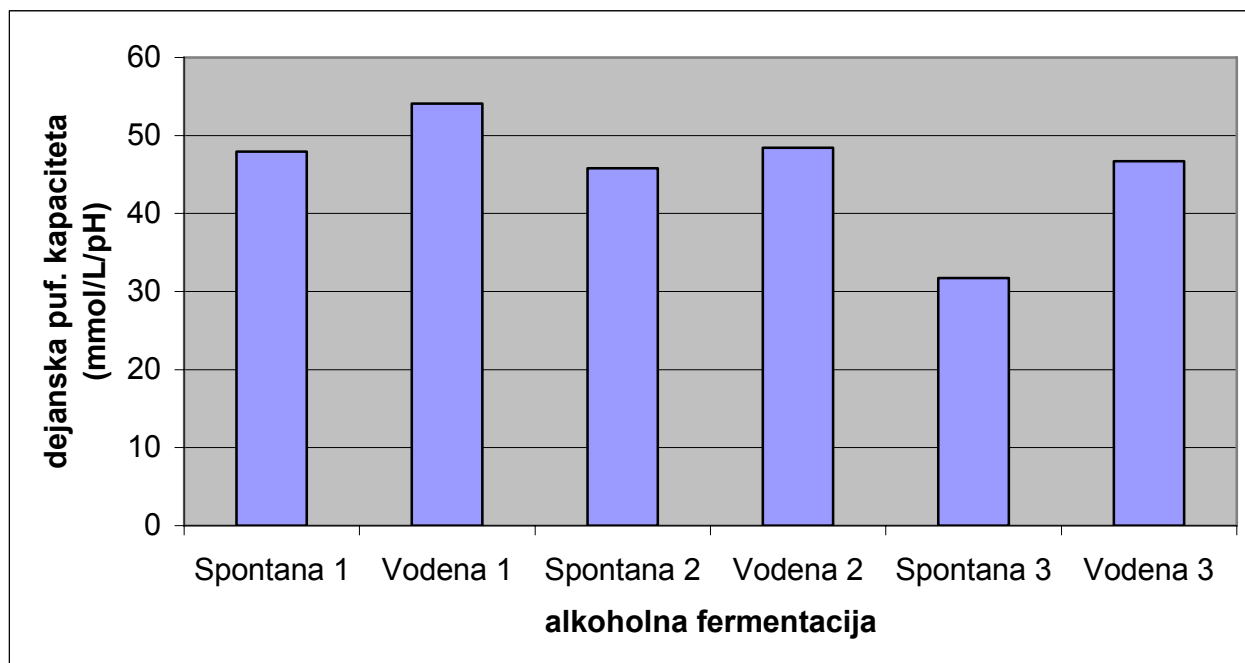


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 13: Koncentracija skupnih fenolov v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 13 prikazuje koncentracijo fenolnih snovi v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo. V vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve je koncentracija fenolov v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo 131,1 mg galne kisline/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo je pa 165,0 mg galne kisline/L. Začetna koncentracija v moštu je bila 181,5 mg galne kisline/L, tako da se je le-ta zmanjšala, v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo za 50,4 mg/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa za 15,5mg/L. V vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve, je koncentracija fenolov v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo 172,8 mg galne kisline/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo je pa 162,6mg galne kisline/L. Začetna koncentracija v moštu je bila 190,6 mg galne kisline/L, tako da se je le-ta zmanjšala, v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo za 17,6mg/L, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa za 28,0 mg/L. Kot v primeru vin iz prve trgatve, je koncentracija fenolov v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve manjša v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo. Manjša je za 31,7 mg/L. V vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija 214,9 mg/L, v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo pa 183,2 mg/L.

## 4.2. DEJANSKA PUFRNA KAPACITETA

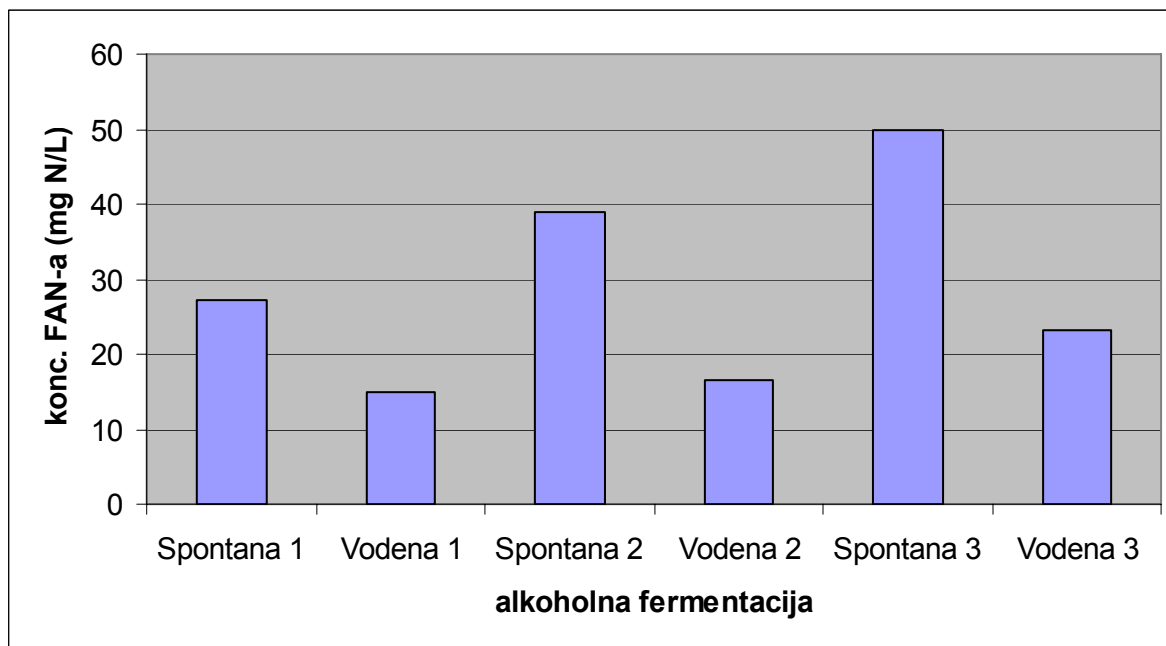


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika14: Dejanska pufna kapaciteta mladih vin sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika14 prikazuje pufno kapaciteto mladih vin sorte Rebula pridelanih s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo. Pufna kapaciteta mošta, ki je bil pridelan iz grozdja prve trgatve je bila 59,17 mmol/L/pH. Pri fermentaciji se je zmanjšala, in sicer na 47,94 mmol/L/pH v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa na 54,11 mmol/L/pH. Razlika med obema mladima vinoma je 6,17 mmol/L/pH, v prid vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Pufna kapaciteta mošta pridelanega iz grozdja druge trgatve je bila 58,29 mmol/L/pH. Pri alkoholni fermentaciji se je zmanjšala, in sicer na 45,79 mmol/L/pH v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo, v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo pa na 48,44 mmol/L/pH. Razlika med obema mladima vinoma je 2,65 mmol/L/pH, v prid vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Razlika med tema dvema vzorcema je manjša kot razlika pri vinih iz prve trgatve. Pufna kapaciteta je pri vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve najmanjša. Razlika med vini pridelanimi s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo je največja, in sicer 14,97 mmol/L/pH. Pufna kapaciteta vina pridelanega z vodeno alkoholno fermentacijo je 46,69 mmol/L/pH vina, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo pa je 31,72 mmol/L/pH.

#### 4.2.10 KONCENTRACIJA PROSTEGA AMINOKISLINSKEGA DUŠIKA (FAN)

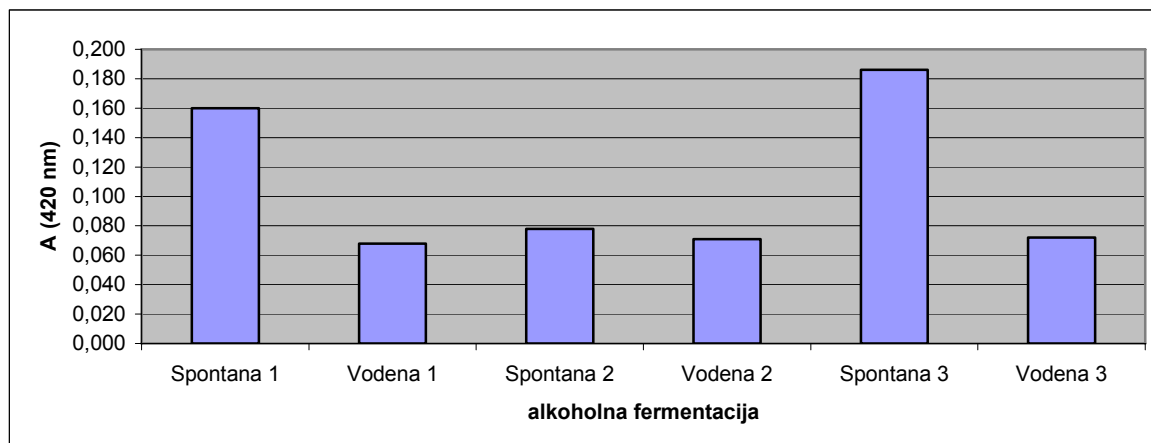


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 15: Koncentracija FAN v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 15 prikazuje koncentracijo FAN v mladih vinih sorte Rebula pridelanih s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo. Pri fermentaciji pride do zmanjšanja koncentracije FAN, zaradi delovanja kvasovk. V vinih, ki so bila pridelana iz grozdja prve trgatve, se je iz začetne koncentracije FAN v moštu, ki je bila 111,70 mg N/L, le-ta zmanjšala na 27,14 mg N/L v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo ter na 14,92 mg N/L v vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo. Razlika v ostanku med dvema vinoma je 12,22 mg N/L, v prid vina pridelanega s spontano alkoholno fermentacijo. V vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve pride do zmanjšanja koncentracije FAN. Iz začetne koncentracije v moštu, ki je bila 112,9 mg N/L, se je zmanjšala na 38,87 mg N/L v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo ter na 16,47 mg N/L v vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo. Razlika v ostanku med dvema vinoma je 22,4 mg N/L, v prid vina pridelanega s spontano alkoholno fermentacijo. FAN, je največ ostalo v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve. Razlika med vini pridelanimi s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo je 26,71 mg N/L. Koncentracija FAN v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo je 23,29 mg N/L, medtem ko je v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo koncentracija 50,00 mg N/L.

#### 4.2.11 ABSORBANCA PRI 420 nm (INTENZIVNOST BARVE BELEGA VINA)

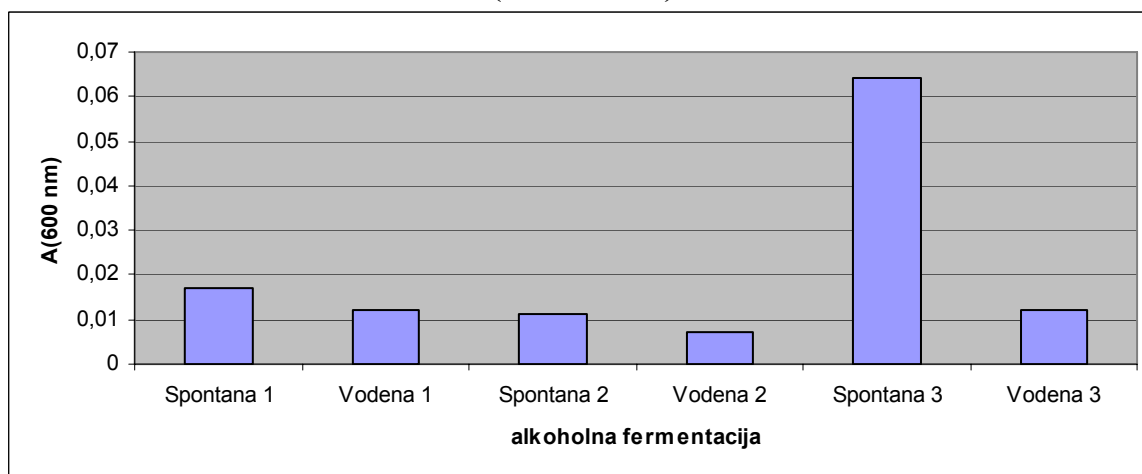


Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve (04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 16: Intenzivnost barve belih mladih vin sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 16 nam prikazuje intenzivnost barve belih vin sorte Rebula, oziroma njihovo absorbanco pri 420 nm. Pri vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve velja, da za vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo je značilna bolj intenzivna barva, ( $A=0,160$ ), medtem ko ima vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo absorbanco 0,068. To pomeni, da je njegova barva manj intenzivna. Pri vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve velja, da za vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo je značilna intenzivnejša barva, absorbanca tega vzorca je 0,078, medtem ko ima vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo absorbanco 0,071. To pomeni, da je njegova barva manj intenzivna. Tako kot pri vinih iz prve trgatve, je tudi pri vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve intenzivnost barve vina pridelanega s spontano alkoholno fermentacijo veliko večja od vina, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. Razlika je 0,115 enote. Absorbanca prvega je 0,186, drugega pa 0,073.

#### 4.2.12 ABSORBANCA PRI 600 nm (MOTNOST)



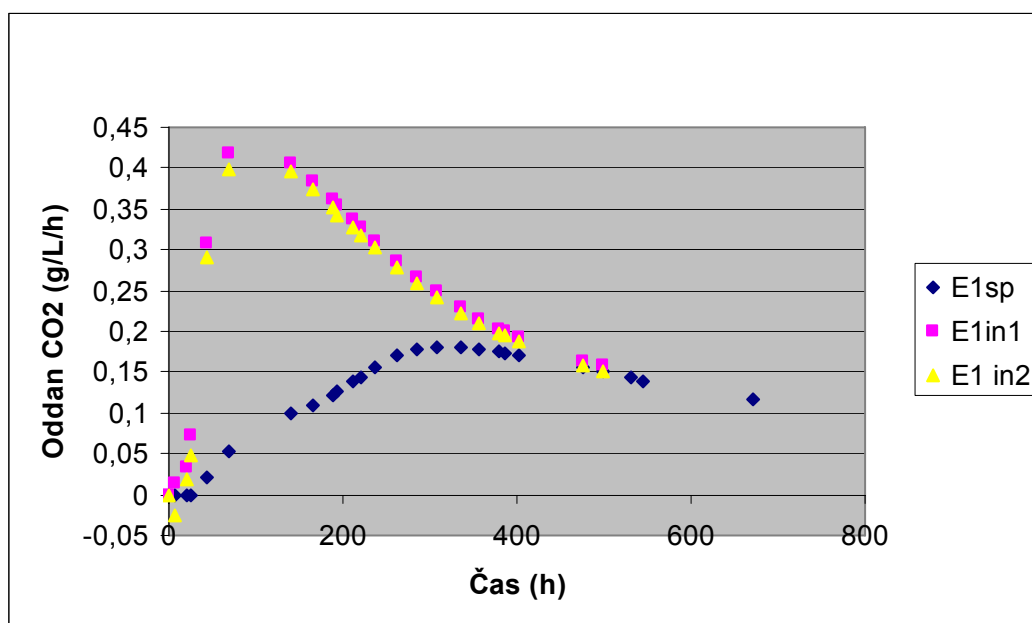
Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve(04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 17: Absorbanca pri 600 nm mladih vin sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 17 prikazuje absorbanco pri 600 nm, vin pridelanih s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo. V vinih, ki so bila pridelana iz grozdja prve trgatve je absorbanca vina, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, 0,017. To pomeni, da ima večjo absorbanco za 0,005 v primerjavi z vinom pridelanim z vodeno alkoholno fermentacijo. Absorbanca le-tega je 0,012. Vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo vsebuje večjo koncentracijo motnih delcev. V vinu, ki je bilo pridelano iz grozdja druge trgatve je absorbanca vzorca, ki je bil pridelan s spontano alkoholno fermentacijo 0,011. To pomeni, da ima večjo absorbanco za 0,004 v primerjavi z vinom pridelanim z vodeno alkoholno fermentacijo. Absorbanca le-tega je 0,007. Vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo vsebuje večjo koncentracijo motnih delcev. Obe vini imata v primerjavi z vini iz prve trgatve pri enakem načinu fermentacije manjšo koncentracijo motnih delcev. V vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve je absorbanca, oziroma koncentracija motnih delcev veliko večja v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo, v primerjavi z vinom pridelanim z vodeno alkoholno fermentacijo. Razlika med njima je 0,053. Absorbanca prvega je 0,064, drugega vina pa 0,011.

## 4.2.13 REZULTATI ANALIZE KONTROLNIH FERMENTACIJ

### 4.2.13.1 Kinetika alkoholne fermentacije moštov sorte Rebula prve trgatve



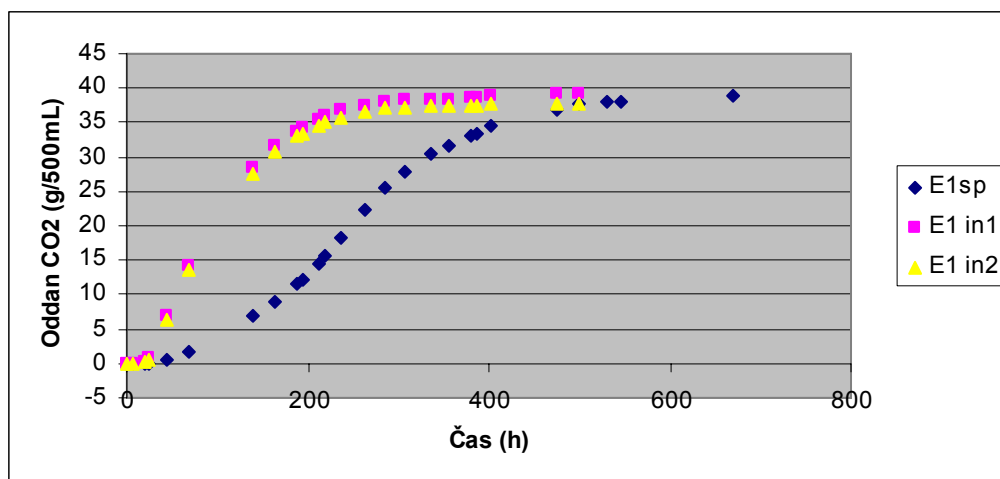
E1sp= Kinetika spontane alkoholne fermentacije mošta iz prve trgatve (26.09.05), E1in1=Kinetika vodene alkoholne fermentacije mošta iz prve trgatve (26.09.05)- paralelka 1, E1in2= Kinetika vodene alkoholne fermentacije mošta iz prve trgatve (26.09.05)- paralelka 2

Slika 18: Kinetika fermentacije moštov sorte Rebula prve trgatve

Na sliki 18 je predstavljena kinetika fermentacije moštov pridobljenih iz grozdja prve trgatve. Niz E1sp, predstavlja kinetiko spontane fermentacije, E1in1 ter E1in2 pa kinetiko vodene alkoholne fermentacije moštov, ki so bili inokulirani z liofiliziranimi kvasovkami.

Iz grafa je lepo razvidno, da ima spontana fermentacija daljšo lag fazo, medtem ko pri vodenih fermentacijah je lag faza skoraj neopazna. Za vodeno fermentacijo je viden hiter prehod v eksponentno fazo rasti, pri spontani fermentaciji je ta faza zelo počasna. Maksimalno hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> opazimo pri obeh vodenih paralelkah pri 68,1h, ko je hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> 0,417 g/L/h pri E1in1 in 0,399 g/L/h pri E2in2. Pri spontani

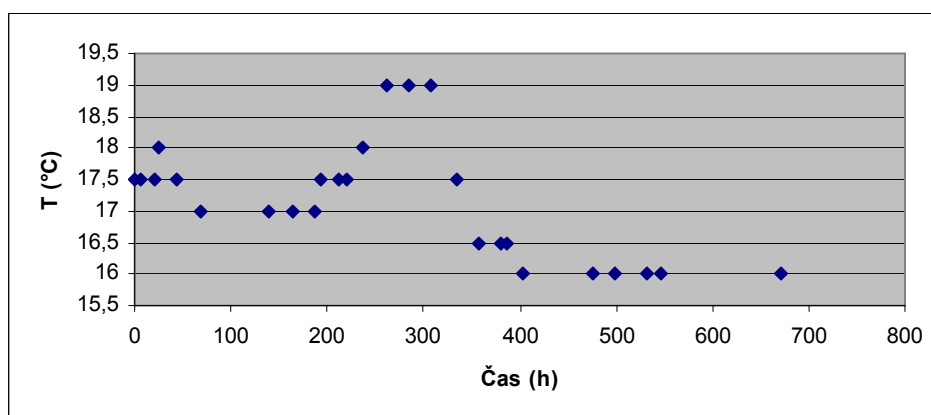
fermentaciji je maksimalna hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> dosežena šele pri 307,41 h, ko je hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> 0,182 g/L/h. Vodeni fermentaciji začneta po 70-ih uri hitro izgubljati hitrost. Prične se faza pojemajoče rasti, ki po 140 urah preide v stacionarno fazo. Stacionarna faza traja do petstote ure fermentacije, ko se kvasovke posedejo dno stekleničke. Meritve smo prekinili in odvzeli vzorce za analizo. Spontana alkoholna fermentacija doseže maksimum hitrosti in počasi preide preko faze pojemajoče rasti v stacionarno fazo okoli 370. ure. Stacionarna faza je zelo dolga in traja vse tja do 650. ure, ko se kvasovke posedejo na dno posode.



E1sp=Oddajanje CO<sub>2</sub> pri spontani alkoholni fermentaciji mošta iz prve trgatve (26.09.05), E1in1= Oddajanje CO<sub>2</sub> pri vodeni alkoholni fermentaciji mošta iz prve trgatve (26.09.05)- paralelka 1, E1in2= Oddajanje CO<sub>2</sub> pri vodeni alkoholni fermentaciji mošta iz prve trgatve (26.09.05)- paralelka 2

**Slika 19: Oddajanje CO<sub>2</sub> pri alkoholni fermentaciji moštov sorte Rebula prve trgatve**

Po izrisanih krivuljah kinetike fermentacij je ta slika povsem pričakovana. Vodeni paralelki začneta zelo hitro oddajati velike količine CO<sub>2</sub>, kar je dobro vidno iz zelo strmega naklona krivulje. Po 280. uri je oddan že skoraj ves CO<sub>2</sub>, nakar pride do oddaje le enega do dveh gramov v vseh nadaljnjih 220-ih urah. Za spontano fermentacijo to ne velja. CO<sub>2</sub> se začne oddajati zelo počasi. Masa oddanega CO<sub>2</sub> se sprošča skoraj linearno konstantno. Krivulja se počasi približuje končni masi oddanega CO<sub>2</sub>. Končna masa oddanega CO<sub>2</sub> se zelo malo razlikuje med poskusi; E1sp odda 38,91 g, E1in1 odda 39,25 g in E1in2 pa 37,76g. V povprečju je oddanega več CO<sub>2</sub> v vodeni fermentacijah.

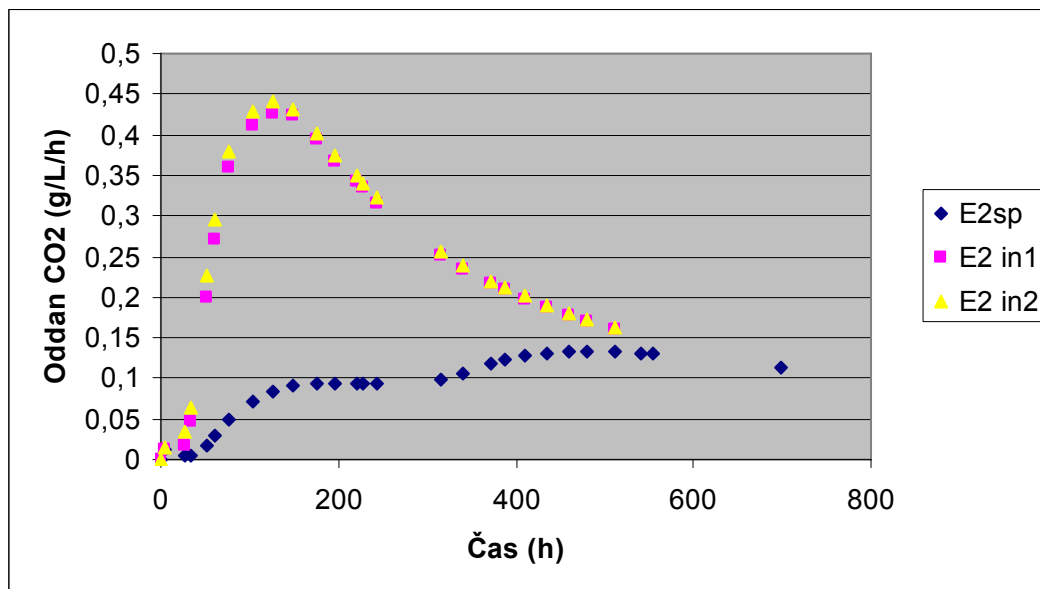


**Slika 20: Temperatura pri alkoholni fermentaciji moštov sorte Rebula prve trgatve**



Temperatura ni bila konstantna, nihala je od 16-19 °C. Prvi del fermentacije je potekal pri 17,5 °C, nato je bila temperatura tri dni 19 °C. V poznih fazah fermentacije je temperatura padla na 16 °C in se ustalila.

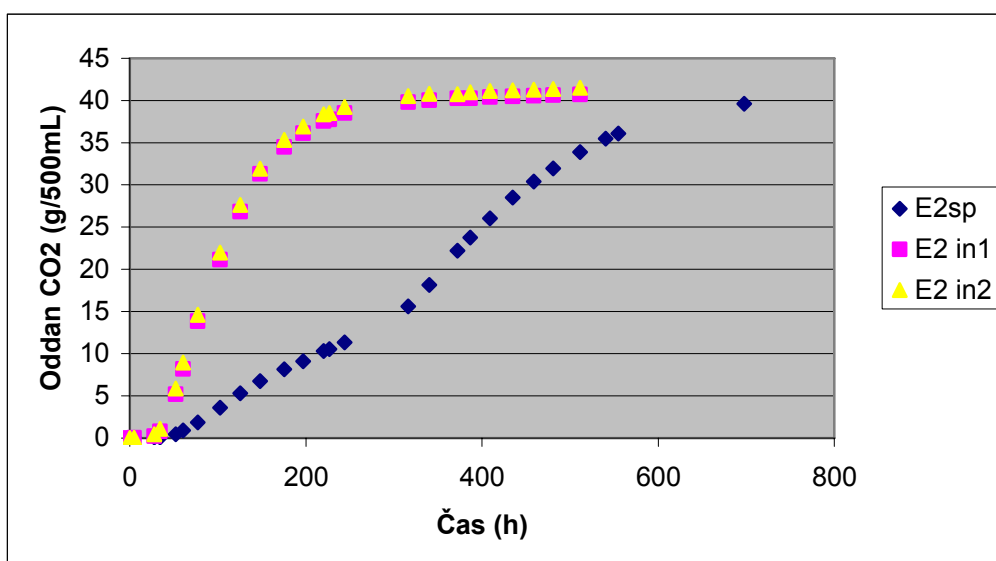
#### 4.2.13.2 Kinetika alkoholne fermentacije moštov sorte Rebula druge trgateve



E2sp= Kinetika spontane alkoholne fermentacije mošta iz druge trgateve (04.10.05), E2in1=Kinetika vodene alkoholne fermentacije mošta iz druge trgateve (04.10.05)- paralelka 1, E2in2= Kinetika vodene alkoholne fermentacije mošta iz druge trgateve (04.10.05)- paralelka 2

Slika 21:Kinetika fermentacije moštov sorte Rebula druge trgateve

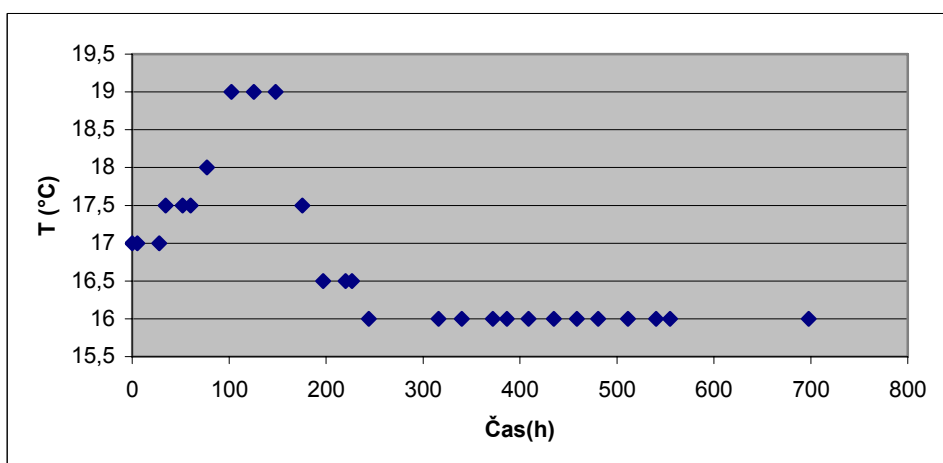
Slika 21 kaže kinetiko fermentacije moštov druge trgateve. Niz E2sp predstavlja kinetiko spontane alkoholne fermentacije, niza E2in1 ter E2in2 pa predstavljata kinetiko vodenih alkoholnih fermentacij. V osnovi vidimo pri krivuljah enake poteze; krajša lag faza, hiter prehod v eksponentno fazo in višja maksimalna hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> vodenih fermentacij, v nasprotju s spontano alkoholno fermentacijo. V moštu iz druge trgateve dosežejo vodene alkoholne fermentacije maksimalno hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> pri 125,58. uri, ko doseže E2in1 0,427 g/L/h ter E2in2 0,430 g/L/h. Po doseženi največji hitrosti rasti je moč opaziti hiter prehod preko faze pojemajoče rasti v stacionarno (120ur). Stacionarna faza traja vse do 500. ure, ko se vse kvasovke posedejo in vino zbistri. Prekinili smo meritve oddanega CO<sub>2</sub> in odvzeli vzorce za analize. Spontana fermentacija je pri tem moštu zelo počasna. Do 148. ure hitrost zelo počasi narašča, nato se vstali in je do 244. ure konstantna. Od 316. ure začne spet naraščati hitrost rasti in doseže vrh pri 480. uri, ko ima hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> 0,133 g/L/h. Hitrost se počasi manjša do 700. ure, ko se vse kvasovke posedejo na dno posode in se vino zbistri.



E2sp=Oddajanje CO<sub>2</sub> pri spontani alkoholni fermentaciji mošta iz druge trgateve (04.10.05) E2in1= Oddajanje CO<sub>2</sub> pri vodeni alkoholni fermentaciji mošta iz druge trgateve (04.10.05)- paralelka 1, E2in2=Oddajanje CO<sub>2</sub> pri vodeni alkoholni fermentaciji mošta iz druge trgateve (04.10.05)- paralelka 2

Slika 22: Oddajanje CO<sub>2</sub> pri fermentaciji moštov sorte Rebula druge trgateve

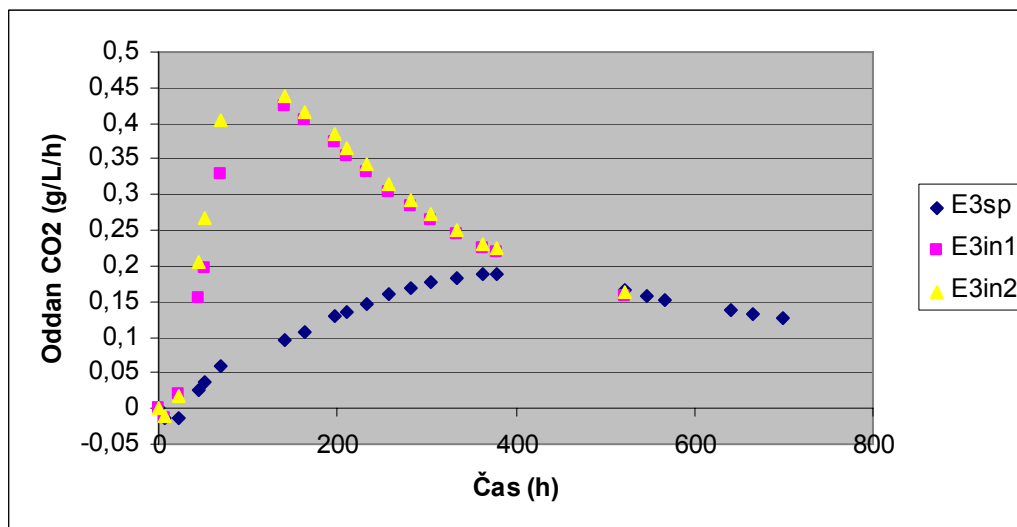
Slika 22 opisuje oddajanje CO<sub>2</sub>, ki je v principu skoraj popolnoma enako kot pri moštu prve trgateve, vendar je pri spontani fermentaciji oddajanje CO<sub>2</sub> rahlo počasnejše. Masa oddanega CO<sub>2</sub> je večja, in sicer 39,63 g. Pri vodnih fermentacijah je bilo oddajanje CO<sub>2</sub> hitrejše kot pri fermentaciji mošta prve trgateve. Oddana je bila tudi večja masa CO<sub>2</sub>, in sicer 40,73 g pri E2in1 ter 41,5 g pri E2in2.



Slika 23: Temperatura pri fermentaciji mošta sorte Rebula druge trgateve

Pri fermentaciji moštov iz druge trgateve niha temperatura med 19 in 16 °C. V času, najhitrejšega oddajanja CO<sub>2</sub> je temperatura najvišja. Doseže tudi 19 °C. Potem se temperatura zmanjša in po 200. uri se vstali pri 16 °C.

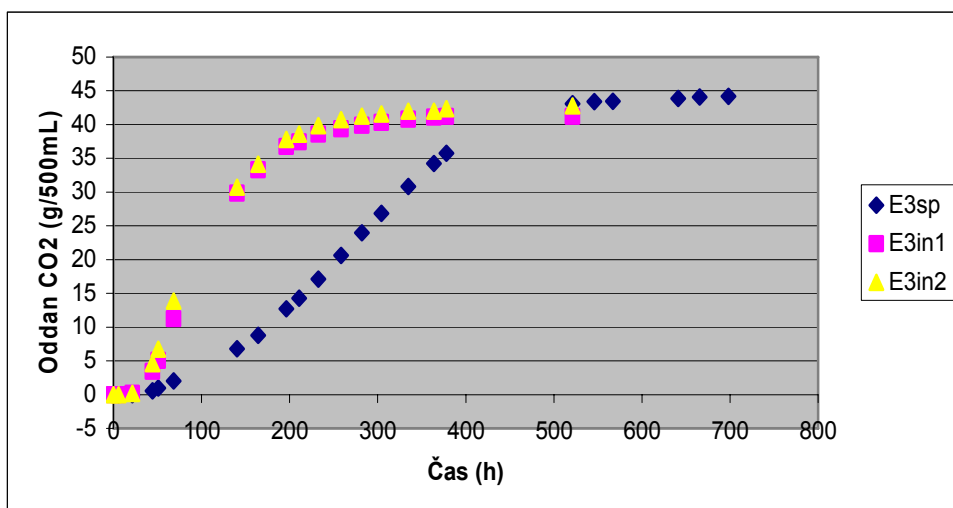
#### 4.2.13.3 Kinetika fermentacije moštov sorte Rebula tretje trgatve



E3sp= Kinetika spontane alkoholne fermentacije mošta iz tretje trgatve (10.10.05), E3in1=Kinetika vodene alkoholne fermentacije mošta iz tretje trgatve (10.10.05)- paralelka 1, E3in2= Kinetika vodene alkoholne fermentacije mošta iz tretje trgatve (10.10.05)- paralelka 2

Slika 24: Kinetika fermentacije moštov sorte Rebula tretje trgatve

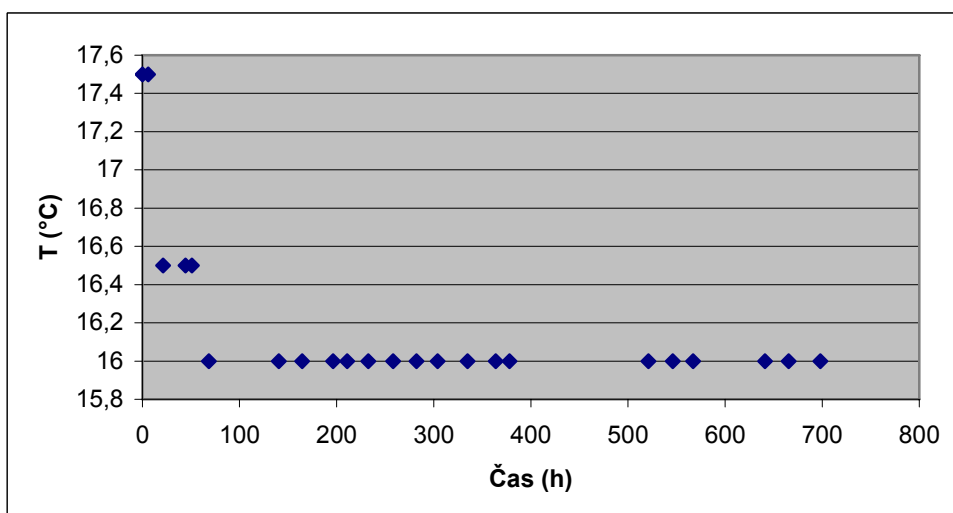
Slika 24 nam predstavlja kinetiko fermentacije mošta tretje trgatve. Niz E3sp predstavlja kinetiko spontane fermentacije, niza E3in1 in E3in2 pa kinetiko vodenih paralelk. Tako kot pri ostalih dveh trgatvah, tudi v tem primeru je lag faza vodenih fermentacij krajša v primerjavi s spontano. Prehod iz lag faze, preko faze pospešene rasti v eksponentno fazo je na grafu skoraj neviden. Eksponentna faza je zelo strma, maksimalno hitrost rasti doseže pri 140. uri, ko je hitrost 0,43 g/L/h za E3in1 in 0,44 g/L/h za E3in2. Realno največjo hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> smo zamudili, ker v tistem času ni bilo meritev. To pomeni, je bila hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> še večja. Po logaritemski fazi pride do faze pojemajoče rasti, ki je v primerjavi s fermentacijami prejšnjih trgatav najkrajša, saj traja manj kot 100 ur. Sledila je stacionarna faza, ki je dolga in traja vse do 520. ure, ko se vse kvasovke posedejo na dno posode. Prekinili smo meritve oddanega CO<sub>2</sub> in odvzeli vzorec za analize. Spontana fermentacija je v primerjavi z vodeno počasnejša. Lag faza traja do 45. ure. Sledi faza pospešene rasti, ta takoj preide v eksponentno fazo, ki ni zelo strma in traja do 378. ure. Takrat doseže svojo največjo hitrost oddajanja CO<sub>2</sub>; 0,19 g/L /h. Sledi prehod v fazo pojemajoče rasti, ki jo z meritvami popolnoma zamudimo zaradi odsotnosti. Traja okoli 120 ur. Stacionarna faza se nato prične in traja vse do 698. ure, ko se tudi pri spontani fermentaciji vse kvasovke posedejo na dno in se vino zbistri.



E3sp=Oddajanje CO<sub>2</sub> pri spontani alkoholni fermentaciji mošta iz tretje trgatve (10.10.05) E3in1= Oddajanje CO<sub>2</sub> pri vodeni alkoholni fermentaciji mošta iz tretje trgatve (10.10.05)- paralelka 1, E3in2=Oddajanje CO<sub>2</sub> pri vodeni alkoholni fermentaciji mošta iz tretje trgatve (10.10.05)- paralelka 2

**Slika 25: Oddajanje CO<sub>2</sub> pri fermentaciji moštov sorte Rebula tretje trgatve**

Slika nam opisuje, kako je potekalo oddajanje CO<sub>2</sub> med fermentacijo mošta tretje trgatve. Tudi v tem primeru poteka oddajanje CO<sub>2</sub> hitreje pri vodeni fermentaciji. Oddajanje CO<sub>2</sub>, je najhitrejše pri dveh vodnih fermentacijah; če ju primerjamo z vsemi ostalimi, saj večji del CO<sub>2</sub> je oddan že po 250-ih urah. Kljub temu, da je oddajanje CO<sub>2</sub> najhitrejše, ga oddajo največ kvasovke pri spontani fermentaciji. Pri spontani fermentaciji je bilo oddanega 44,20 g, pri E3in1 41,21 g, pri E3in2 pa 42,75 g.

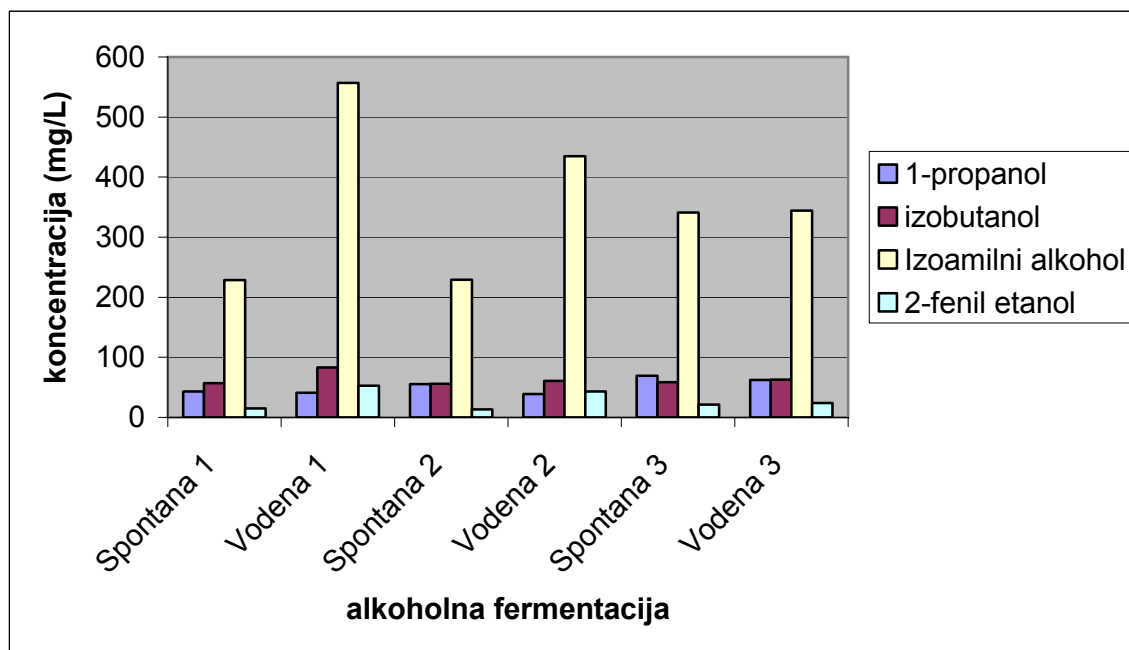


**Slika 26: Temperatura pri fermentaciji mošta sorte Rebula tretje trgatve**

Pri tretji fermentaciji ni prišlo do velikega nihanja temperatur. Od začetnih 17,5 °C, se je po petdesetih urah temperatura znižala na 16 °C in tako ostala konstantna do konca fermentacije.

## 4.2.14 REZULTATI ANALIZ HLAPNIH KOMPONENT MLADEGA VINA SORTE REBULA (GC)

### 4.2.14.1 Višji alkoholi



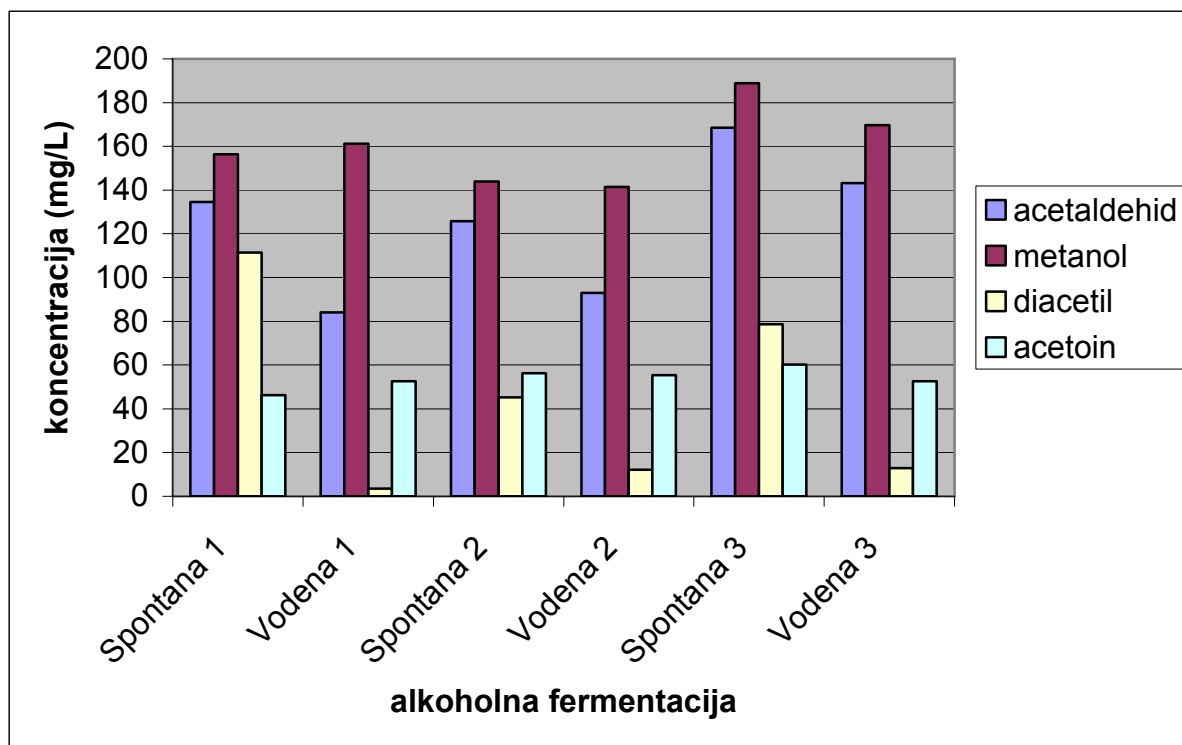
Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve(04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 27: Koncentracija višjih alkoholov v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 27 predstavlja koncentracijo štirih višjih alkoholov v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo, in sicer 1-propanola, izobutanola, izoamilnega alkohola in 2-fenil-etanola. Največja koncentracija je izoamilnega alkohola, in sicer v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je koncentracija 228,69 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 556,78 mg/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 229,29 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 434,78 mg/L, v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve je koncentracija 341,05 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 344,02 mg/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. Koncentracija 1-propanola je v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo; 43,16 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 55,68 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 69,49 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija 40,86 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 38,89 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 62,35 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. Koncentraciji izobutanola in 2-fenil-etanola sta v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo 57,13 in 15,06 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 56,15 in 13,51 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 58,59 ter 21,35 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo sta koncentraciji izobutanola in 2-fenil-etanola 83,11 in 52,71 mg/L v vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve,

60,67 in 43,11 mg/L v vinih pridelanih iz grozolja druge trgatve in 62,89 ter 24,01 mg/L v vinih pridelanih iz grozolja tretje trgatve.

#### 4.2.14.2 Koncentracije acetaldehida, metanola, diacetila in acetoina



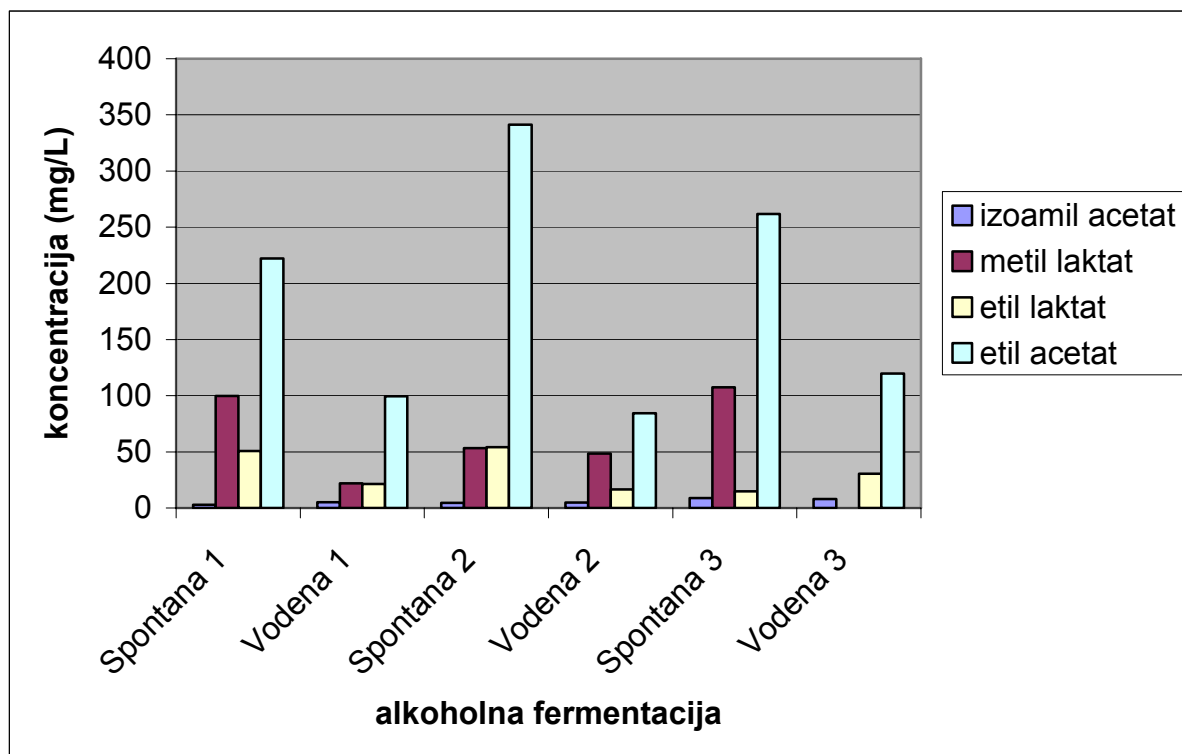
Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozolja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozolja druge trgatve(04.10.05), 3= vino pridelano iz grozolja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 28: Koncentracije acetaldehida, metanola, diacetila in acetoina v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 28 predstavlja koncentracije acetaldehida, metanola, diacetila in acetoina v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo. Največja koncentracija je metanola. V vinu pridelanem iz grozolja prve trgatve je koncentracija 156,43 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 161,13 mg/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve je koncentracija 143,90 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 141,40 mg/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve je koncentracija 188,88 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 169,63 mg/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. Koncentracija acetaldehida v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je 134,50 mg/L v vinu pridelanem iz grozolja prve trgatve, 125,78 mg/L v vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve in 168,47 mg/L v vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija 83,97 mg/L v vinu pridelanem iz grozolja prve trgatve, 92,92mg/l v vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve in 143,13 mg/L v vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve. Koncentraciji diacetila in acetoina sta v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo 111,49 in 66,25 mg/L, v vinu pridelanem iz grozolja prve trgatve, 45,28 in 56,15 mg/L v vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve in 78,66 ter 60,23 mg/L v vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo sta koncentraciji diacetila in acetoina 3,45 in 52,56mg/l v vinih pridelanih iz

grozdja prve trgatve, 12,18 in 55,32 mg/L v vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve in 12,89 ter 52,56 mg/L v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve.

#### 4.2.14.3 Koncentracije estrov



Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve(04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 29: Koncentracije izoamil-acetata, metil-laktata, etil-laktata in etil-acetata v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

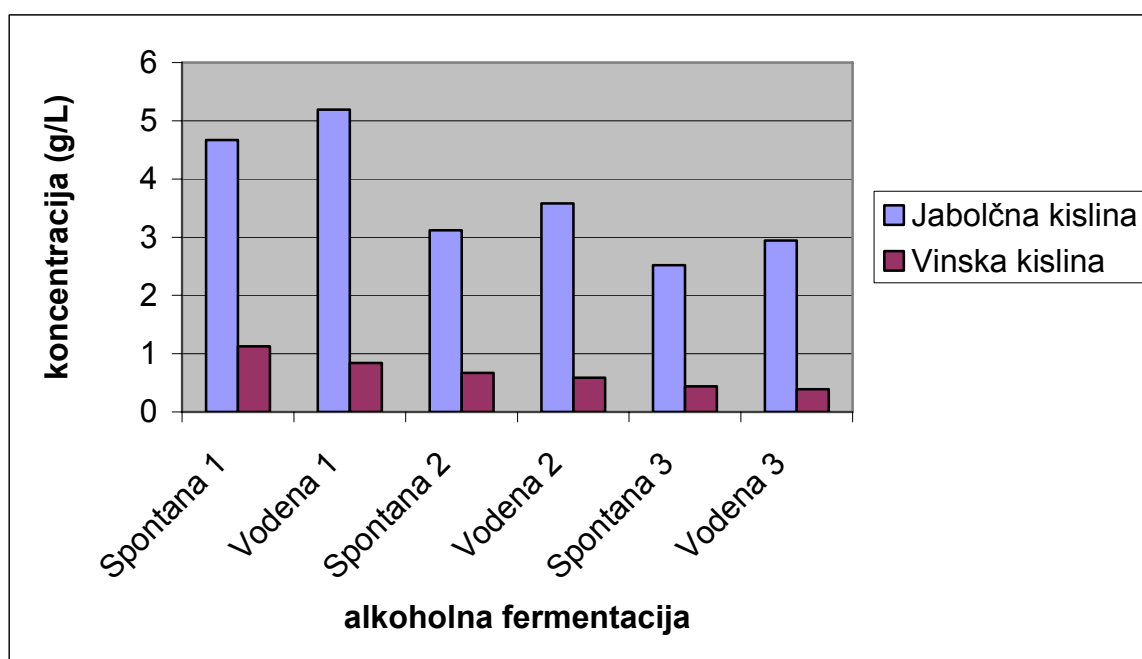
Slika 29 predstavlja koncentracije štirih estrov v mladih vinih pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo, in sicer izoamil-acetata, metil-laktata, etil-laktata in etil-acetata. Največja koncentracija je etil-acetata. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je koncentracija 222,20 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 99,47 mg/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 341,26 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 84,40 mg/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve je koncentracija 261,66 mg/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 119,65 mg/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. Koncentracija metil-laktata v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je 99,69 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 53,44 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 107,48 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija 22,00 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 48,46 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 0,00 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. Koncentraciji izoamil-acetata in etil-laktata sta v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo 2,83 in 50,67 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 4,59 in 54,30 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 8,71 ter 14,90 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. V vinih

pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo sta koncentraciji izoamil-acetata in etil-laktata 5,06 in 21,48 mg/L v vinih pridelanih iz grozolja prve trgatve, 4,72 in 16,59 mg/L v vinih pridelanih iz grozolja druge trgatve in 8,06 ter 30,39 mg/L v vinih pridelanih iz grozolja tretje trgatve.

Analizirali smo tudi koncentracijo 2-fenil-etil-acetata in ugotovili, da v nobenem od vin tega ni bilo prisotnega, oziroma je bilo tega v zelo majhnih koncentracijah, pod mejo detekcije.

#### 4.2.15 REZULTATI ANALIZ KONCENTRACIJ ORGANSKIH KISLIN SLADKORJEV IN GLICEROLA V MLADIH VINIH SORTE REBULA

##### 4.2.15.1 Vinska in jabolčna kislina v mladem vinu



Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozolja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozolja druge trgatve(04.10.05), 3= vino pridelano iz grozolja tretje trgatve (10.10.05)

Slika 30: Koncentracija jabolčne in vinske kisline v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo

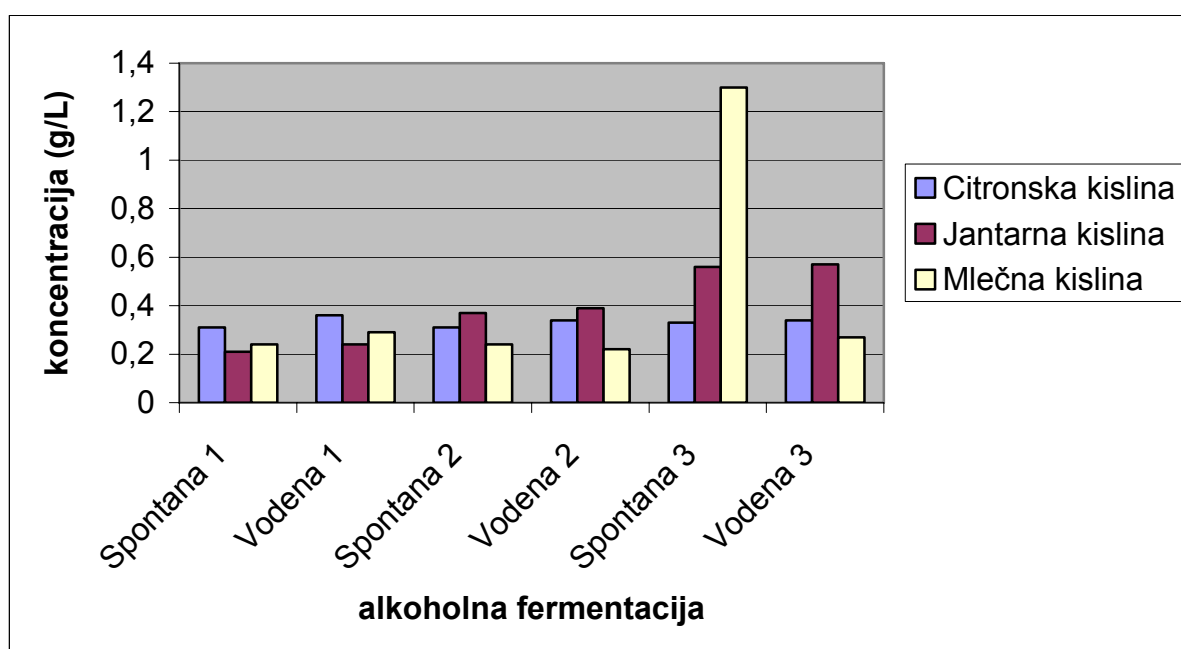
Slika 30 predstavlja koncentracijo dveh po koncentraciji in po vplivu na senzorične ter kemijsko-fizikalne lastnosti vina najpomembnejših kislin, in sicer jabolčne in vinske v mladih vinih sorte Rebula. Koncentracija jabolčne kisline je največja v vinu, ki je bilo pridelano iz mošta prve trgatve in ta pada proti tretji. To je značilno za vina, ki so bila pridelana tako s spontano kot z vodeno alkoholno fermentacijo. Koncentracija jabolčne kisline v vinu pridelanem iz mošta prve trgatve je; 4,67 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 5,19 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz mošta druge trgatve je koncentracija jabolčne kisline 3,12 g/L v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo in 3,58 g/L v vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve je koncentracija jabolčne kisline najmanjša, in sicer 2,52 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 2,94 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo.

Koncentracija vinske kisline prikazana na grafu ni realna, ker smo vzorce preden smo jih analizirali zamrznili, tako da je prišlo do izločanja vinskega kamna. Kljub temu so opazni



enaki trendi padanja vinske kisline; največja koncentracija je v vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve in najmanjše koncentracije v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve. To je značilno pri obeh načinih alkoholne fermentacije. Rezultate bom podal kljub temu, da so nerealni, oziroma je njihova vrednost manjša od prave. Koncentracija vinske kisline v vinu pridelanem iz mošta prve trgatve je 1,13 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 0,84 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz mošta druge trgatve je koncentracija vinske kisline 0,67 g/L v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo in 0,59 g/L v vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve je koncentracija vinske kisline najmanjša, in sicer 0,44 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in 0,39 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo.

#### 4.2.15.2 Citronska, jantarna in mlečna kislina v mladem vinu



Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozdja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozdja druge trgatve(04.10.05), 3= vino pridelano iz grozdja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 31: Koncentracije citronske, jantarne in mlečne kisline v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

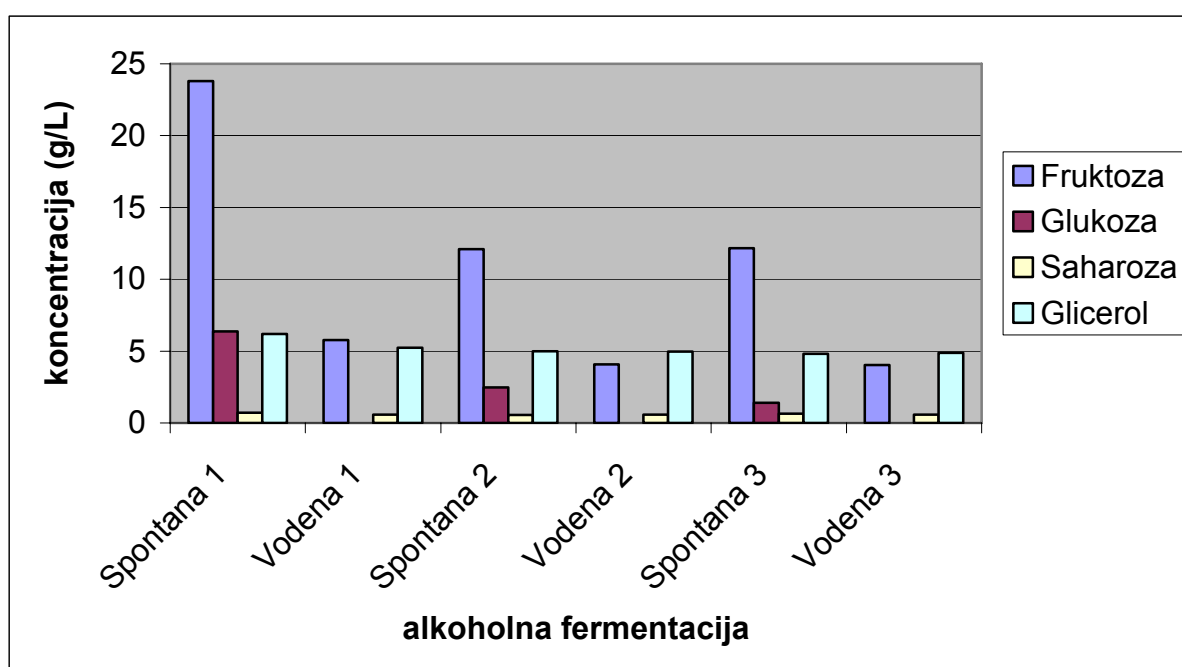
Slika 31 predstavlja koncentracijo citronske kisline, ki je tretja najpomembnejša kislina po koncentraciji in vplivu na senzorične in fizikalno-kemijske lastnosti vina ter jantarne in mlečne kisline, ki imata predvsem vpliv na senzorične lastnosti, v mladem vinu sorte Rebula. Koncentracija citronske kisline je majhna, najmanjša je v vinih iz prve in druge trgatve pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo, in sicer 0,31 g/L. Rahlo večja koncentracija je v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve s spontano alkoholno fermentacijo, in sicer 0,33 g/L. Največje koncentracije se nahajajo v vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinih pridelanih iz grozdja tretje in druge trgatve je koncentracija 0,34 g/L, v vinu pridelanem iz prve trgatve pa 0,36g/l. Razlike v koncentracijah med vini so zanemarljive.

Za jantarno kislino je značilna koncentracija 0,56 g/L, prisotna v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve s spontano alkoholno fermentacijo in koncentracija 0,57 g/L, prisotna v vinu

pridelanem iz grozolja tretje trgatve z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo iz grozolja prve trgatve je koncentracija 0,21 g/L, v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo pa je koncentracija 0,24 g/L. V vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija 0,39 g/L, v vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve s spontano alkoholno fermentacijo pa 0,37 g/L.

Tudi koncentracije mlečne kisline v mladih vinih so majhne. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija mlečne kisline 0,29 g/L v vinu pridelanem iz grozolja prve trgatve, 0,22 g/L v vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve in 0,27 g/L v vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve. V vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija 0,24 g/L v vinu pridelanem iz grozolja prve in druge trgatve, največja in daleč najbolj izstopajoča koncentracija 1,30 g/L, pa se nahaja v vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve.

#### 4.2.15.3 Koncentracija glukoze, fruktoze in saharoze ter glicerola v mladem vinu



Spontana= vino pridelano s spontano alkoholno fermentacijo, Vodena= vino pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, 1=vino pridelano iz grozolja prve trgatve (26.09.05), 2= vino pridelano iz grozolja druge trgatve(04.10.05), 3= vino pridelano iz grozolja tretje trgatve (10.10.05)

**Slika 32: Koncentracije fruktoze, glukoze, saharoze in glicerola v mladih vinih sorte Rebula pridelanih z vodeno in spontano alkoholno fermentacijo**

Slika 32 predstavlja koncentracijo najpomembnejših sladkorjev prisotnih v mladem vinu, ki jih je kvasovka sposobna pretvoriti v alkohol, ter glicerola, ki je glavni stranski produkt alkoholne fermentacije. Fruktoza je v mladih vinih zastopana v največjih koncentracijah. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija 23,80 g/L v vinu pridelanem iz grozolja prve trgatve, 12,11 g/L v vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve in 12,17 v vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo so koncentracije fruktoze nižje, in sicer 5,76 g/L v vinu pridelanem iz grozolja prve trgatve, 4,07 g/L v vinu pridelanem iz grozolja druge trgatve in 4,04 g/L v vinu pridelanem iz grozolja tretje trgatve. Naslednji in najpomembnejši sladkor je glukoza, katerega najdemo prisotnega le še v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo, ker v

vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je bil ves porabljen v alkoholni fermentaciji. Koncentracije glukoze so 6,38 g/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 2,47g/l v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 1,40 g/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. Saharoza je v vinih prisotna v zelo majhnih koncentracijah. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija 0,71 g/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 0,56 g/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 0,64 g/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo so koncentracije saharoze 0,58 g/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 0,59g/l v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 0,59 g/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve.

Glicerol, prisoten v vinu je drugi najpomembnejši produkt alkoholne fermentacije. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija le-tega 6,20 g/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 5,00 g/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 4,82 g/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija glicerola 5,24 g/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 4,96 g/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 4,89 g/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve.

## 5 RAZPRAVA

### 5.1 RAZPRAVA O GROZDNEM SOKU SORTE REBULA

Grozdni sok smo pridobili s predelavo grozdja in analizirali. Pridobili smo podatke, ki smo jih potrebovali, da lahko ugotovimo kako njegova sestava oziroma vsebnost hranilnih snovi vpliva na potek alkoholne fermentacije. Trgatev smo opravili trikrat, zato smo primarno opazovali, kako se sestava grozdnega soka spreminja z zorenjem. Vrednosti so se spreminjale po pričakovanjih.

#### -Koncentracija reducirajočih sladkorjev v grozdnem soku sorte Rebula (Preglednica 1)

Koncentracija reducirajočih sladkorjev se je po sedmih dneh povečala od začetnih 162,00 g/L, na vrednost 176,00 g/L, kar je statistično značilna sprememba. V času pred prvima dvema trgatvama je bilo predvsem sončno in oblačno vreme, dežja je bilo zelo malo. Grozdje je normalno dozorevalo. Teden pred zadnjo trgatvijo je cel teden deževalo, tako da grozdje ni popolnoma dozorelo. Koncentracija sladkorjev se je povečala le za 0,67 g/L, na 176,76 g/L grozdnega soka, kar ni statistično značilna razlika. Paralelno s sladkorno stopnjo se je povečala tudi specifična gostota grozdnega soka. Mošt, ki smo ga pridelali iz grozdja prve trgatve je imel specifično gostoto 1,07097, do druge trgatve se je le-ta povečala na 1,07497, kar je statistično značilna sprememba. V moštu tretje trgatve se je le-ta povečala na 1,07877, kar je tudi statistično značilna sprememba.

#### -Glukoza in fruktoza v grozdnem soku sorte Rebula (Preglednica 1)

Koncentracija glukoze v grozdnem soku po pričakovanjih pada v primerjavi s koncentracijo fruktoze zaradi dihanja v grozdni jagodi. Dogaja se zaradi lažje uporabe glukoze v procesu dihanja v primerjavi s fruktozo, kar pogojujejo encimski sistemi. Koncentracija glukoze je ob prvi trgatvi 90,19 g/L, do druge trgatve se zmanjša za 4,14 g/L na vrednost 86,05 g/L. Ob zadnji trgatvi se koncentracija glukoze rahlo poveča, in sicer na 87,35 g/L. V nasprotju z glukozo se koncentracija fruktoze poveča od začetnih 79,02 g/L v moštu prve trgatve, na 93,29 g/L v moštu druge trgatve; koncentracija se je povečala za 14,27 g/L. V grozdnem soku tretje trgatve, se koncentracija zanemarljivo poveča za 1,48 g/L na vrednost 94,77 g/L. Razmerje med glukozo in fruktozo je ob prvi trgatvi 1,14, kar kaže na to da grozdje ni še povsem dozorelo. V grozdnem soku ob naslednji trgatvi je opazna sprememba razmerja, in sicer razmerje pade na 0,92, kar pomeni, da je grozdje prešlo v polno zrelost. V moštu zadnje trgatve ostane razmerje nespremenjeno.

Do skoraj zanemarljivih sprememb od druge do tretje trgatve v moštih je prišlo zato, ker je v vmesnem času bilo vreme deževno, tako da ni prišlo do prehoda v prezrelost.

#### -pH v grozdnem soku sorte Rebula (Preglednica 1)

pH vrednost se je večala. Od začetnih 3,081 ob prvi trgatvi, se je do druge trgatve zanemarljivo povečala na 3,082, kar ni statistično značilna sprememba. Zadnji teden se je zaradi obilnega deževja in razredčitve grozdnega soka v grozdnih jagodah pH povečal na 3,223, kar je statistično značilna sprememba.

#### -Koncentracija titrabilnih kislin v grozdnem soku sorte Rebula (Preglednica 1)

Koncentracija titrabilnih kislin tako tistih, ki jih določamo s titracijo do pH=7,0, kot tudi do pH=8,2 se manjša. Začetna koncentracija je bila 10,02 g/L oziroma 10,22 g/L. Po enem tednu se je zmanjšala na 9,05 g/L oziroma na 9,24 g/L. Zadnji teden se je zmanjšala na 8,69 g/L

oziroma 8,91 g/L. Kisline so zelo visoke, kar kaže na slabšo dozorelost letnika. Vse vrednosti se med seboj statistično razlikujejo.

#### -Organske kisline v grozdnem soku sorte Rebula (Preglednica 1)

Za vinsko kislino je značilno, da se do polne zrelosti povečuje, potem pa naj bi koncentracija le-te ostala konstantna. To se zgodi tudi v našem primeru; v moštu iz prve trgatve, ko polna zrelost ni še dosežena je njena koncentracija 1,75 g/L, do druge trgatve, ko je dosežena polna zrelost se koncentracija poveča na 3,34 g/L. Do tretje trgatve pride do zanemarljivega povečanja koncentracije za 0,48 g/L, na vrednost 3,82 g/L. Jabolčna kislina v nasprotju z vinsko bolj niha v koncentraciji. To je kislina, ki je najdemo več v nezrelih jagodah, oziroma; večja kot je njena koncentracija manjša je stopnja zrelosti. Ob prvi trgatvi je njena koncentracija še visoka, in sicer 5,70 g/L, do druge trgatve vrednost pade za 1,66 g/L na vrednost 4,04 g/L. V zadnjem tednu pride do nadaljnjega zmanjšanja koncentracije, ta pade za 0,39 g/L, na vrednost 3,65 g/L. Zmanjšanje koncentracije jabolčne kisline je posledica oksidacije in glukoneogeneze v kateri se kislina porablja.

Koncentracija citronske kisline je konstantna v grozdnem soku. Njena koncentracija je majhna; v moštu prve trgatve je njena koncentracija 0,44 g/L, ta pade do druge trgatve na 0,36 g/L. V moštu zadnje trgatve se zmanjša zanemarljivo, le za 0,02 g/L na vrednost 0,34 g/L citronske kisline.

Koncentracija jantarne kisline je v grozdnem soku majhna. Nastaja predvsem v Krebsovem ciklu. V moštu prve trgatve je njena koncentracija 0,10g/l, do druge trgatve naraste na 0,26g/l, v moštu zadnje trgatve pa je koncentracija največja, in sicer 0,46g/l. Koncentracija se povečuje zaradi povečanja intenzivnosti dihanja.

#### -Pufrna kapaciteta v grozdnem soku sorte Rebula ( Preglednica 1)

Začetna vrednost pufrne kapacitete ob prvi trgatvi je bila 59,17 mmol/L/pH. Po enem tednu se je zmanjšala na 58,29 mmol/L/pH. Zadnji teden, ko pade izjemno velika količina padavin, se pufrna kapaciteta spet poveča na 59,25 mmol/L/pH. Mislimo, da se to zgodi zaradi majhnega zmanjšanja kislin in velikega povečanja pH vrednosti. Pufrna kapaciteta je v normalnih razmerah od 35-50 mmol/L/pH; v našem primeru so vse pufrne kapacitete zelo visoke. Za vrednosti iz vseh treh trgatev velja, da se med seboj statistično ne razlikujejo.

#### -Koncentracija prostega aminokislinskega dušika (FAN) v grozdnem soku sorte Rebula (Preglednica 1)

FAN se po pričakovanju povečuje od začetnih 111,70 mg N/L, na 112,96 mg N/L po enem tednu, kar ni statistično značilna sprememba. Zadnji teden se poveča največ, in sicer na 142,00 mg N/L, kar je statistično značilna sprememba. Kljub temu, da je se zadnji teden povečala koncentracija je še vedno riskantno, da bo prišlo do zaustavitve alkoholne fermentacije. V literaturi je navedeno, da je najnižja koncentracija FAN za normalen potek alkoholne fermentacije okoli 140 mg N/L

#### -Skupni fenoli v grozdnem soku sorte Rebula (Preglednica 1)

Koncentracija skupnih fenolov po pričakovanju narašča. Od začetnih 181 mg/L, se po enem tednu poveča na 190 mg/L, kar pa ni statistično značilna sprememba. Zadnji teden se poveča na 225 mg/L, kar je statistično značilna sprememba. V povprečju naj bi imela bela

vina okoli 225 mg/L fenolov, kar pomeni, da je grozdje šele ob zadnji trgatvi doseglo pričakovano vrednost.

## **5.2 RAZPRAVA O MLADEM VINU SORTE REBULA**

### **5.2.1 pH VREDNOST V MLADEM VINU SORTE REBULA**

pH vrednosti mladih vin so po pričakovanjih večje od pH vrednosti moštov. V vinu prve trgatve je moč opaziti povečanje pH iz začetne vrednosti mošta 3,081, za 0,045 enote na pH 3,126. V vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve se pH vrednost poveča za 0,047 enote iz začetne vrednosti mošta 3,082, na pH 3,129, kar zadeva vin pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo pride do večjega povečanja, in sicer za 0,102 enote na pH 3,183 v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve in za 0,110 enote na pH 3,129 v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve. pH vrednosti obeh vin, ki sta bili pridelani z vodeno alkoholno fermentacijo sta večji. Ravno obratno se zgodi pri mladih vinih iz tretje trgatve. pH vina se pri spontani fermentaciji poveča iz začetne vrednosti pH mošta 3,223, za 0,085 enote na pH 3,308; v vinu, ki je pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo pa le za 0,021 enote, na pH 3,244. Vse pH vrednosti so med 3,10 in 3,32, kar pomeni, da je vino mikrobiološko stabilno. V našem primeru začetna vrednost pH vpliva tako, da pri manjših začetnih vrednostih se ta bolj poveča pri vodenih fermentacijah, pri spontanih fermentacijah pa je ravno obratno. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je vpliv fermentacije statistično značilen za vina iz vseh treh trgatev. Vpliv trgatve je med vini, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo statistično značilen le med vinom pridelanim iz mošta tretje trgatve in ostalima dvema, med katerima ni statistično značilne razlike. Med vini, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo so značilne razlike med vini pridelanimi iz grozdja vseh treh trgatev.

### **5.2.2 TITRABILNE KISLINE V MLADEM VINU SORTE REBULA**

Koncentracija titrabilnih kislin se tudi zmanjša, z ozirom na koncentracijo le-teh v grozdnem soku. Pri spontanih fermentacijah se koncentracija zmanjša iz začetne vrednosti mošta 10,02 g/L oziroma 10,22 g/L, za 0,99 g/L (pH=7,0) in 0,89 g/L (pH=8,2), v vinu pridelanem iz mošta prve trgatve. V vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve se koncentracija zmanjša iz začetne vrednosti moštov 9,05 g/L oziroma 9,24 g/L, za 0,48 g/L (pH=7,0) in 0,45 g/L (pH=8,2). V vinu pridelanem iz mošta tretje trgatve pa se koncentracija zmanjša iz začetne vrednosti mošta 8,69 g/L oziroma 8,91 g/L, za 3,60 g/L (pH=7,0) in za 3,64 g/L (pH=8,2). Pri vodenih fermentacijah se koncentracije zmanjšajo manj. V vinu pridelanem iz mošta prve trgatve za 0,05 g/L (pH=7,0) in 0,04 g/L (pH=8,2). V vinu pridelanem iz mošta druge trgatve za 0,14 g/L (pH=7,0) in 0,13 g/L (pH=8,2). V vinu pridelanem iz mošta tretje trgatve za 0,45 g/L (pH=7,0) in 0,46 g/L (pH=8,2). V vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo je kljub temu, da vsebujejo večje koncentracije alkohola, kar zmanjšuje topnost tartratov in hkrati povečuje izločanje vinskega kamna ter pogojuje manjše vrednosti titrabilnih kislin, prišlo do manjših padcev koncentracije. To je predvsem posledica tega, ker so vina pridelana s spontano alkoholno fermentacijo fermentirala okoli 7 dni več, kot vina pridelana z vodeno fermentacijo. Zaradi delovanja avtohtono prisotnih mikroorganizmov, ki potrebujejo kisline kot substrat. Zaradi daljšega časa fermentacije je prišlo do večjega izločanja vinskega kamna in posledično do nižje vrednosti titrabilnih kislin v vinih. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je opaziti, da je izločenega vinskega kamna več pri poznejših trgatvah. Predvidevamo, da je prišlo do tega zaradi večjega deleža vinske kisline v primerjavi z

jabolčno v kontekstu titrabilnih kislin. S statistično obdelavo podatkov je bil ugotovljen vpliv trgatev tako pri spontanah kot pri vodenih alkoholnih fermentacijah za vse tri trgateve. Statistična razlika je značilna pri vseh treh trgatevah v kontekstu vpliva fermentacij.

### 5.2.3 Hlapne kisline v mladem vinu sorte Rebula

Koncentracija hlapnih kislin je v vseh vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo večja od koncentracij v vinih pridelanih z vodeno fermentacijo. Pri spontanah fermentacijah se koncentracija hlapnih kislin povečuje v mladih vinih od prve proti tretji trgatevi. V mladem vinu pridelanem iz grozdja prve trgateve je koncentracija 0,37 g/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgateve je 0,39 g/L, v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgateve pa 0,40 g/L. Ravno nasprotno se dogaja pri vodenih fermentacijah. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgateve je koncentracija 0,36 g/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgateve je 0,33 g/L, vino pridelano iz grozdja tretje trgateve pa ima koncentracijo 0,29 g/L hlapnih kislin.

Razlike so zelo majhne, lahko pa predpostavljamo, da so kvasovke delovale boljše pri ugodnejši sestavi mošta. Ker je bilo v moštu tretje trgateve največ hranilnih snovi in najboljše razmere za rast, so pri spontanah fermentacijah predvsem na začetku delovale boljše kvasovke ne-*Saccharomyces* rodov, ki tvorijo večje koncentracije hlapnih kislin, zato je teh nastalo več. Pri vodenih fermentacijah se je zgodilo to, da so se kvasovke s katerimi smo inokulirali mošt, zaradi boljših pogojev rasti in večje koncentracije hranilnih snovi pri fermentaciji bolje znašle, hitro prevladale nad avtohtono mikrofloro in zato je prišlo do manjše tvorbe hlapnih kislin. Pri nobeni fermentaciji ni prišlo do tvorbe prevelike koncentracije hlapnih kislin, ki bi lahko povzročila slabo senzorično kakovost vina. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo, vpliv trgateve ni statistično značilen. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je statistično značilen vpliv trgateve med vinom pridelanim iz mošta tretje trgateve in ostalima dvema, med katerima ga ni. Vpliv fermentacije je statistično značilen med vini pridelanimi iz grozdja druge in tretje trgateve, za vino pridelano iz grozdja prve trgateve pa ni.

### 5.2.4 Sladkorja prosti ekstrakt v mladem vinu sorte Rebula

V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo so vrednosti za ta parameter naslednje; vino pridelano iz grozdja prve trgateve 21,8 g/L, vino pridelano iz grozdja druge trgateve 20,6 g/L, vino pridelano iz grozdja tretje trgateve pa 20,8 g/L. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo vsebujejo; vino pridelano iz grozdja prve trgateve 22,2 g/L, vino pridelano iz grozdja druge trgateve 21,8 g/L, vino pridelano iz grozdja tretje trgateve pa 21,7 g/L. V vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo in tistih, ki so bila pridelana z vodeno, se skupni ekstrakt manjša od prve proti tretji trgatevi predvsem zaradi večje vsebnosti titrabilnih kislin oziroma soli pri zgodnejših trgatevah. Pri obeh vrstah fermentacij na ekstrakt močno vplivajo kisline oziroma njihove soli, kajti če od skupnega ekstrakta brez reducirajočih sladkorjev v vseh vinih odštejemo le-te vidimo, da je prišlo do največje tvorbe produktov kvasovk v vinih iz poznejših trgatev. Tako je, da poznejša trgatev zaradi boljše sestave grozdnega soka omogoča kvasovkam boljše in lažje delovanje ter večjo sintezo lastnih produktov. Pri statistični obdelavi podatkov je bilo ugotovljeno, da med vini, ki so bila pridelana z enakim načinom fermentacije, med trgatevami ni statistično značilnih razlik. To velja pri vinih pridelanih s spontano in vodeno alkoholno fermentacijo. Vpliv fermentacije pa je statistično značilen le med vini pridelanimi iz grozdja druge trgateve.

### 5.2.5 VSEBNOST ALKOHOLA V MLADEM VINU SORTE REBULA

Vsebnost alkohola se po pričakovanjih povečuje z večanjem koncentracije sladkorjev in izboljšanjem razmer za rast, oziroma kemične sestave grozdnega soka. Povečuje se tako v vinih iz spontanih kot iz vodenih fermentacij. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo so vrednosti naslednje; vino pridelano iz grozdja prve trgatve 8,63 vol.%, vino pridelano iz grozdja druge trgatve 9,71 vol.%, vino pridelano iz grozdja tretje trgatve pa 10,32 vol.%. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo, zaradi boljše fermentacijske sposobnosti kvasovk so vrednosti še večje, in sicer 9,86 vol.% za vino pridelano iz grozdja prve trgatve, 10,54 vol.% za vino pridelano iz grozdja druge trgatve in 11,04 vol.% za vino pridelano iz grozdja tretje trgatve. Če primerjamo razlike v koncentracijah med vini, ki so nastale pri posamezni trgatvi med spontano in vodeno fermentacijo opazimo, da je največja razlika pri tvorbi alkohola v vinih prve trgatve, nato pa se razlike manjšajo. Opazimo, da slabša sestava grozdnega soka ima večji vpliv na rast avtohtonih kvasovk. Glede na te rezultate in tudi po pričakovanjih opazimo, da selekcionirane kvasovke bolje izkoriščajo sladkor za proizvodnjo etanola. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je vpliv trgatve značilen za vina iz vseh treh trgatav pri obeh načinih fermentacije. Tudi vpliv fermentacije je značilen za vina pridelana iz grozdja vseh treh trgatav.

### 5.2.6 REDUCIRAJOČI SLADKORJI V MLADEM VINU SORTE REBULA

Koncentracija reducirajočih sladkorjev je odvisna od pogojev za rast, oziroma od koncentracije hranilnih snovi grozdnega soka. Pri spontanih fermentacijah je to najbolj opaziti. Koncentracije reducirajočih sladkorjev v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo so naslednje; vino pridelano iz grozdja prve trgatve 20,67 g/L iz začetne koncentracije v moštu 162,00 g/L, vino pridelano iz grozdja druge trgatve 13,62 g/L iz začetne koncentracije v moštu 176,00 g/L, vino pridelano iz grozdja tretje trgatve pa 12,13 g/L iz začetne koncentracije v moštu 176,67 g/L. Kljub temu, da je bila začetna koncentracija sladkorjev najmanjša v moštu iz prve trgatve, je tu nastalo najmanj alkohola in ostalo največ reducirajočih sladkorjev. Z vsako naslednjo trgatvijo se več sladkorjev pretvori v alkohol. To je posledica slabih pogojev, ki jih nudi mošt iz nedozorelega grozdja kvasovki. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo se zaradi delovanja selekcioniranih kvasovk ne pojavljajo tako veliki ostanki. Koncentracije reducirajočih sladkorjev v vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo so manjši. V vinu, ki je bilo pridelano iz mošta prve trgatve je ostalo 0,45 g/L reducirajočih sladkorjev, v vinu, ki je bilo pridelano iz mošta druge trgatve 0,58 g/L, v vinu, ki je bilo pridelano iz mošta tretje trgatve pa je koncentracija 0,93 g/L. Tudi, če so vsa vina povrela do konca in jih lahko deklariramo kot suha, je prišlo do rahlih razlik. Mogoče je tu iskati razlago s tem, da zaradi večje sinteze pentoz proti koncu zorenja, v vinih pridelanih iz grozdja poznejših fermentacij ostane več pentoz v vinu, ker jih kvasovke niso sposobne pretvoriti v etanol. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je vpliv trgatve statistično značilen za vina pridelana iz vseh treh trgatav pri obeh načinih fermentacije. Vpliv fermentacije je tudi statistično značilen za vina vseh treh trgatav.

### 5.2.7 SKUPNI FENOLI V MLADEM VINU SORTE REBULA

Koncentracija skupnih fenolov je po pričakovanju manjša v vinu kot v moštu, zaradi vezanja le-teh na manoproteine kvasovk pri usedanju in porabe fenolov, kot vira ogljika. Pri vodenih fermentacijah; v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve ostane 165,0 mg/L od začetne



koncentracije v moštu 181,45 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgateve 162,6 mg/L od začetne koncentracije v moštu 190,64 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgateve pa 214,9 mg/L od začetne koncentracije v moštu 225,18 mg/L. Do največjega zmanjšanja koncentracije pride v vinu druge trgateve, in sicer za 28 mg/L. V vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo je prišlo do oksidacije v vinu iz prve trgateve in vinu iz tretje trgateve, zaradi majhnega parcialnega tlaka CO<sub>2</sub>, ki so ga oddajale kvasovke proti koncu fermentacije. V temu je vzrok, da je koncentracija skupnih fenolov le 131,1 mg/L v vinu iz prve trgateve in 183,2 mg/L v vinu iz tretje trgateve. Realni rezultat je edino pri spontani fermentaciji vina druge trgateve, kjer pride do zmanjšanja koncentracije za 17,8 mg/L, na vrednost 172,8 mg/L. Predvidevamo, da tudi pri ostalih dveh fermentacijah bi moralo biti zmanjšanje manjše pri spontanih fermentacijah, kot pri vodenih. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je prišlo do vpliva trgateve; pri vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo se statistično razlikuje le vino pridelano iz grozdja prve trgateve, od ostalih dveh trgatev. Pri vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo pa je prišlo do statistično značilnih razlik le pri vinu iz tretje trgateve, z razliko od ostalih dveh. Vpliv fermentacije pa je značilen za vina iz prve in tretje trgateve.

### **5.2.8 PUFRNA KAPACITETA V MLADEM VINU SORTE REBULA**

Pufrne kapacitete vin so manjše od pufernih kapacitet moštov. V vseh alkoholnih fermentacijah se je trditev izkazala kot pravilna. V vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo so pufrne kapacitete manjše od tistih katerih so bila pridelana z vodeno fermentacijo. Večja kot je bila izločena količina titrabilnih kislin, večje je bilo zmanjšanje pufrne kapacitete. V vinu iz prve trgateve se je pufrna kapaciteta zmanjšala za 11,23 mmol/L/pH pri spontani alkoholni fermentaciji in 5,06 mmol/L/pH pri vodeni alkoholni fermentaciji, iz začetne vrednosti 59,17 mmol/L/pH. V vinu iz druge trgateve je prišlo do zmanjšanja vrednosti za 12,50 mmol/L/pH pri spontani alkoholni fermentaciji in 9,85 mmol/L/pH pri vodeni alkoholni fermentaciji, iz začetne vrednosti 58,29 mmol/L/pH. Do največjega zmanjšanja pa pride pri vinu iz tretje trgateve, in sicer za 27,55 mmol/L/pH pri spontani alkoholni fermentaciji in 12,56 mmol/L/pH pri vodeni alkoholni fermentaciji, iz začetne vrednosti 59,25 mmol/L/pH. Vse pufrne kapacitete so v mejah pričakovanih vrednosti, le tista v vinu pridelanem z vodeno fermentacijo iz grozdja prve trgateve, je rahlo večja. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je prisoten vpliv trgateve za vina iz vseh treh trgatev pri spontanih alkoholnih fermentacijah, pri vodenih alkoholnih fermentacijah pa se statistično razlikuje le vino pridelano iz grozdja tretje trgateve, od prvih dveh, ki se ne. Vpliv alkoholne fermentacije je statistično značilen med vini pri vseh treh trgatvah.

### **5.2.9 INTENZIVNOST BARVE (A 420 nm) IN MOTNOST (A 600 nm) MLADEGA VINA SORTE REBULA**

Intenzivnost rumene barve pri belih vinih smo merili spektrofotometrično. Pri vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo so absorbance manjše kot pri vinih, ki so bila pridelana s spontanimi alkoholnimi fermentacijami. Absorbance naraščajo od prve proti tretji trgatevi. Absorbance vin pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo so naslednje; vino pridelano iz grozdja prve trgateve 0,068, vino pridelano iz grozdja druge trgateve 0,071, vino pridelano iz grozdja tretje trgateve pa 0,073. Intenzivnost barve se z zorenjem povečuje, ker se zmanjšuje koncentracija zelenih barvil (klorofil) in se povečuje koncentracija rumenih (flavoni...). Pri spontanih fermentacijah je prišlo do že prej omenjene oksidacije, zato so absorbance vina iz

prve in tretje trgatve večje (0,160 in 0,186). Absorbanca vina pridelanega s spontano alkoholno fermentacijo mošta druge trgatve je 0,078, kar je več kot pri vodeni fermentaciji. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je vpliv trgatav značilen za vina pridelana iz grozdja vseh treh trgatav pri spontanah alkoholnih fermentacijah, pri vodenih alkoholnih fermentacijah pa se statistično razlikuje le prva, od ostalih dveh, ki se ne. Vpliv alkoholne fermentacije je statistično značilen med vini pri vseh treh trgatvah.

Največja motnost se pojavi v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo iz prve in tretje trgatve (oksidirana) (0,017, in 0,064), vino iz druge trgatve ima absorbanco 0,011. Pri vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo so absorbance vina prve in tretje trgatve 0,012, druge pa 0,007. Vina pridelana iz grozdja druge trgatve imajo najnižje absorbance. Ni opaziti nobenih vplivov zrelosti na motnost vzorcev. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je vpliv trgatve značilen za vino iz tretje trgatve, z razliko od prvih dveh pri spontanah alkoholnih fermentacijah. Med vini pridelanimi z vodenimi alkoholnimi fermentacijami ni statistično značilnih razlik. Vpliv fermentacije je statistično značilen za vina pridelana iz grozdja tretje trgatve, medtem ko pri drugi in prvi ne.

#### **5.2.10 KONCENTRACIJA PROSTEGA AMINOKISLINSKEGA DUŠIKA MLADIH VIN SORTE REBULA**

Pri vseh fermentacijah je prišlo do zmanjšanja vsebnosti FAN. V primerih spontanah alkoholnih fermentacij je prišlo do zmanjšanja za 84,56 mg N/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, iz začetne vrednosti mošta 111,67 mg N/L, za 79,9 mg N/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve iz začetne vrednosti mošta 112,96 mg N/L in za 92,00 mg N/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve iz začetne vrednosti mošta 142,00 mg N/L. Pri vodenih alkoholnih fermentacijah je prišlo v vseh treh primerih do večjega zmanjšanja koncentracije FAN. Zmanjšanja koncentracij v vinih z vodenimi fermentacijami so naslednja; 96,76 mg N/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 96,49 mg N/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 118,71 mg N/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. Kot lahko opazimo je prišlo do večjega zmanjšanja FAN v vinih iz grozdja poznejših trgatav, zaradi boljše kemijske sestave grozdnega soka, ki je omogočila boljše delovanje kvasovk. V vinu iz druge trgatve, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo je prišlo do manjšega zmanjšanja kot v vinu iz prve trgatve, zaradi težkega začetka fermentacije. V vinu iz druge trgatve pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija manjša od na enak način pridelanega vina iz grozdja prve trgatve le za nekaj desetink miligrama, kar pričakujem, da je v okviru napake, saj je bila razlika med prvima dvema motoma v koncentraciji FAN zelo majhna. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je vpliv trgatav značilen za vina iz vseh trgatav pri spontanah alkoholnih fermentacijah, pri vodenih alkoholnih fermentacijah pa se statistično razlikuje le vino pridelano iz grozdja tretje trgatve, od prvih dveh, ki se ne. Vpliv alkoholne fermentacije je statistično značilen med vini pri vseh treh trgatvah.

#### **5.2.11 FERMENTACIJSKE KRIVULJE**

S pomočjo fermentacijskih krivulj, smo spremljali oddan CO<sub>2</sub> oziroma kinetiko alkoholne fermentacije, kar nam je omogočalo pogled na stanje fermentacije. Fermentacijske krivulje nam kažejo, kako kemična sestava grozdnega soka vpliva na rast kvasovk. Pri vodenih fermentacijah je hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> večja, fermentacije so prej zaključene in razen v vinu iz tretje trgatve, ko so bili boljši pogoji za rast v kontekstu kemične sestave, je v drugih dveh

primerih bilo tudi oddanega več CO<sub>2</sub>. Opaziti je tako kot že v nekaj primerih, da slabši pogoji za rast in delovanje kvasovk bolj vplivajo na avtohtone kvasovke, kot na selekcionirane.

Največjo hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> dosežemo pri tretji fermentaciji, kar velja tako za spontano kot za vodeno alkoholno fermentacijo. Pri vodenih fermentacijah se največja hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> manjša proti fermentaciji iz prve trgatve. Pri spontanih fermentacijah pa je najmanjša hitrost rasti dosežena pri drugi fermentaciji. Največ oddanega CO<sub>2</sub> je bilo pri spontani fermentaciji mošta tretje trgatve. Količine oddanega CO<sub>2</sub> v vinih padajo od tretje proti prvi fermentaciji, kar velja za spontane in vodene fermentacije. Pri fermentacijah moštov iz druge in prve trgatve je prišlo do večje količine oddanega CO<sub>2</sub> v vodenih paralelkah. Za najboljše delovanje kvasovk in najbolj kakovosten potek alkoholne fermentacije je najbolj optimalna sestava grozdnega soka tretje trgatve, ko je grozdje dovolj zrelo in vsebuje večjo koncentracijo hranilnih snovi.

### 5.2.12 VIŠJI ALKOHOLI V MLADIH VINIH SORTE REBULA

#### -Izoamilni alkohol

Izoamilni alkohol daje vonj po bananah. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo se njegova koncentracija, od vina pridelanega iz grozdja prve trgatve proti tretji veča. V vinu iz prve trgatve je koncentracija 228,69 mg/L, potem zanemarljivo naraste na 229,29 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve, sledilo pa je povečanje na 341,05 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. V vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo je opazen negativen trend koncentracije izoamilnega alkohola v primerjavi z dozorelostjo. Vino, ki je bilo pridelano iz grozdja prve trgatve je imelo največjo koncentracijo izoamilnega alkohola, in sicer 556,78 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je bila koncentracija 434,78 mg/L, v vinu iz grozdja tretje trgatve pa je bila koncentracija 344,02 mg/L. Literaturni povzetki kažejo, da je povezava med koncentracijo dušikovih snovi in izoamilnim alkoholom negativna. Na njegovo koncentracijo vpliva tudi vrsta oziroma sev kvasovk. Z večjo dozorelostjo grozdja, je razlika med koncentracijama med vini iste trgatve in različne predelave manjša. Tvori se ga več pri višjih temperaturah. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo ni statistično značilnih razlik v koncentraciji izoamilnega alkohola med trgatvami. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo je prišlo do statistično značilnih razlik le med vini pridelanimi iz grozdja prve in tretje trgatve. Vpliv fermentacije se kaže med vini pridelanimi iz grozdja prve in druge trgatve, medtem ko ni značilne razlike med vini iz grozdja tretje trgatve.

#### -1-propanol

1-propanol je alifatski alkohol, ki se tvori iz produktov metabolizma sladkorja, ne pa po Echerlichovi poti, vsaj v vinu ne, ker v vinu ni prisotne 2-amino butanojske kisline, ki je substrat za tvorbo tega višjega alkohola. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo se njegova koncentracija, od vina pridelanega iz grozdja prve trgatve proti tretji veča. V vinu iz prve trgatve je koncentracija 43,16 mg/L, potem naraste na 55,68 mg/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve, sledilo pa je spet povečanje koncentracije na 69,49 mg/L. Enako velja za koncentracije v vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je koncentracija 40,86 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve koncentracija zanemarljivo pade na 38,89 mg/L, v vinu iz zadnje trgatve pa spet naraste na 62,35 mg/L. To smo pričakovali, ker glede na izvor tega višjega alkohola, ki se tvori iz sladkorjev, se z dozorevanjem koncentracija teh v grozdnem soku povečuje. Pri spontanih fermentacijah ga je v vinih iz vseh treh trgatav nastalo rahlo več. S statistično

obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom iz tretje in prve trgatve. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo je prišlo do statistično značilnih razlik le med vinom pridelanim iz grozdja tretje trgatve, v primerjavi z ostalima dvema med katerima ni značilnih razlik. Vplivi fermentacije se kažejo med vini pridelanimi iz grozdja druge trgatve, medtem ko ni značilne razlike med vini pridelanimi iz grozdja prve in tretje trgatve.

#### -Izobutanol

Literaturni povzetki kažejo, da ima tudi izobutanol negativno korelacijo s povečanjem koncentracije dušikovih snovi v grozdnem soku. V našem primeru se v vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo tega ne opazi. V vinu, ki je bilo pridelano iz grozdja prve trgatve je koncentracija 57,13 mg/L, v vinu, ki je bilo pridelano iz grozdja druge trgatve pa je 56,15 mg/L. Kljub največji koncentraciji dušikovih snovi prisotnih v grozdnem soku, je v vinu, ki je bilo pridelano iz grozdja tretje trgatve koncentracija izobutanola rahlo narasla in dosegla maksimalno vrednost 58,59 mg/L. V vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo je bolj opaziti značilen trend. V vinu, ki je bilo pridelano iz grozdja prve trgatve je koncentracija 83,11 mg/L, v vinu iz druge trgatve je koncentracija manjša, in sicer 60,67 mg/L, v vinu, ki je bilo pridelano iz grozdja tretje trgatve je prišlo do rahle spremembe navzgor, vendar je skoraj zanemarljiva, koncentracija se poveča na 62,89 mg/L. S statistično obdelavo podatkov smo ugotovili, da med koncentracijami ni nobenih statistično značilnih razlik; ni opaziti ne vpliva trgatve niti vpliva kvasovk, oziroma fermentacij.

#### -2-fenil-etanol

2-fenil-etanol ima negativno korelacijo z večanjem koncentracije dušikovih snovi, kar je opaziti v vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo. Koncentracija 2-fenil-etanola v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je 52,71 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve se zmanjša na 43,11 mg/L, v vinu iz tretje trgatve pa je koncentracija najmanjša, in sicer 24,01 mg/L. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo tega ni opaziti. Koncentracija v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je 15,06 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 13,51 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja zadnje trgatve pa je koncentracija največja, in sicer 21,53 mg/L. Na verjetno močno vpliva sev oziroma vrsta kvasovk, ki je bila takrat v vinu prisotna.

Pri vseh trgavah je opaziti, da so si koncentracije v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve, ne glede na vrsto fermentacije zelo podobne, ker so boljši pogoji rasti in ti manj vplivajo na manj odporne avtohtone seve. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom iz tretje trgatve, v primerjavi z ostalima dvema, med katerima ni razlik. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo je prišlo do statistično značilnih razlik med vsemi tremi trgavami. Vplivi fermentacije se kažejo med vini pridelanimi iz grozdja prve in druge trgatve, medtem ko ni značilne razlike med vini iz grozdja tretje trgatve.

### 5.2.13 ACETALDEHID, ACETOIN, DIACETIL IN METANOL V MLADIH VINIH SORTE REBULA

#### -Acetaldehid

Po pričakovanjih je koncentracija acetaldehida v vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo večja predvsem zaradi seva kvasovk, pa tudi zaradi večje stopnje aeracije proti koncu fermentacije. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je koncentracija 134,50 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija manjša, in sicer 125,78 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja zadnje trgatve pa je koncentracija največja in znaša 168,47 mg/L. Pričakovali smo, da se bo koncentracija večala z dozorevanjem in povečanjem koncentracije sladkorjev, ki so glavni inhibitorji alkohol dehidrogenaze v začetnih fazah fermentacije. Tako se je godilo v vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo. Pri vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo se je sicer deloma zgodilo, vendar je prišlo v vinih iz prve in tretje trgatve na koncu fermentacije do dodatne aeracije, zaradi manjšega parcialnega tlaka CO<sub>2</sub>, kar je v teh dveh povečalo koncentracijo acetaldehida. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je po pričakovanjih zaradi že prej omenjenega razloga, največja koncentracija acetaldehida v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve, in sicer 143,13 mg/L. V vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je bila koncentracija 92,92 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve pa je bila koncentracija 83,97 mg/L. V vinu iz tretje trgatve je koncentracija zelo velika, kar je verjetno posledica dodatne aeracije.

S statistično obdelavo podatkov smo ugotovili, da med koncentracijami ni nobenih statistično značilnih razlik; ni opaziti ne vpliva trgatve niti vpliva kvasovk oziroma fermentacij.

#### -Metanol

V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija metanola v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve 156,43 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je 143,90 mg/L, največja koncentracija pa je prisotna v vinu iz grozdja tretje trgatve, in sicer 188,88 mg/L. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve koncentracija 161,13 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 141,40 mg/L, nato je spet dosežena največja koncentracija v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve, in sicer 169,63 mg/L. Kot se na koncu tudi izkaže, je zaradi načina nastajanja metanola, največja koncentracija v vinih pridelanih iz bolj dozorelega grozdja. Pri obeh vrstah fermentacije je prišlo v vinih druge trgatve do zmanjšanja koncentracije metanola, v primerjavi z vini iz prve trgatve. Večje koncentracije metanola se tvorijo pri spontanih fermentacijah. Tvorile so se zelo velike koncentracije metanola, saj je za bela vina značilna koncentracija od 15-130 mg/L. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom iz tretje trgatve v primerjavi z ostalima dvema, med katerima ni razlik. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo je prišlo do statistično značilnih razlik med koncentracijami metanola le med vinom pridelanim iz grozdja druge in tretje trgatve, medtem ko prve ne. Vpliva fermentacije na koncentracije metanola ni.

#### -Diacetil

Diacetila tvorijo kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* zelo malo. Glavni tvorci te snovi so mlečnokislinske bakterije. Bolj kot je fermentacija čista, manj je le-tega prisotnega. V vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo, je prišlo do tvorbe večjih koncentracij diacetila. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je koncentracija 111,49 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 45,28 mg/L, v vinu, ki pa je bilo

pridelano iz grozdja tretje trgatve je koncentracija 78,66 mg/L. Na koncentracijo je vplivala različna populacija mikroorganizmov in sestava grozdja. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo so koncentracije znatno manjše. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je koncentracija 3,45 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 12,18 mg/L, v vinu, ki je bilo pridelano iz grozdja tretje trgatve je koncentracija 12,89 mg/L. Glavni vpliv pri tem parametru ima združba mikroorganizmov, seveda vpliva tudi kemijska sestava grozdnega soka.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah med vini iz vseh treh trgatev. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo statistično značilnih razlik ni.

Vpliv fermentacije se kaže med vini iz vseh treh trgatev.

#### -Acetoin

Acetoin je stranski produkt alkoholne fermentacije ter jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. Tvori se na začetku alkoholne fermentacije predvsem iz acetaldehida. V našem poskusu ni prišlo do velikih razlik. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je prišlo do tvorbe acetoina. V vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je koncentracija 66,25 mg/l, v vinu iz grozdja druge trgatve je koncentracija 56,15 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 60,23 mg/L. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je prišlo do še manjših razlik; v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve je koncentracija 52,56 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 55,32 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 52,56 mg/l.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom pridelanim iz grozdja druge trgatve in ostalima dvema, med katerima ni statistično značilnih razlik. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo statistično značilnih razlik ni.

Vpliv fermentacije se kaže v primeru vin pridelanih iz grozdja prve in tretje trgatve, medtem ko v vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve ni opaziti statistično značilne razlike. Na ta parameter vpliva predvsem način fermentacije.

### **5.2.14 ESTRI V MLADIH VINIH SORTE REBULA**

#### -Izoamil-acetat

Izoamil acetat je ester izoamil alkohola in očetne kisline. Več kot je prisotnih obeh reagentov, več je tvorjenega. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je v vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve koncentracija 2,83 mg/L, v vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve je koncentracija 4,59 mg/L, v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 8,71 mg/L. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve koncentracija 5,06 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 4,72 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 8,06 mg/L. Razlike so zelo majhne, opazi pa se pri obeh vrstah fermentacij, da pride do povečanja tvorbe le-tega z bolj dozorelim grozdom. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom pridelanim iz grozdja tretje trgatve in ostalima dvema, med katerima ni statistično značilnih razlik. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo velja enako. Vplivi fermentacij se kažejo med vini iz grozdja prve in tretje trgatve, medtem ko pri vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve ni opaziti statistično značilne

razlike. Opazi se večji vpliv zrelosti grozdja na ta parameter, v primerjavi z načinom fermentacije.

#### -Metil-laktat

Metil-laktat je ester metanola in mlečne kisline, ki se pri sami alkoholni fermentaciji tvori v manjših koncentracijah, več se ga pri jabolčno-mlečnokislinski fermentaciji. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je v vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve koncentracija 99,69 mg/L, v vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve je koncentracija 53,44 mg/L, v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 107,48 mg/L. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve koncentracija 22,00 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 48,46 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 0,00 mg/L, kar je posledica verjetno napake pri analizi. Opaziti je, da se tvorijo večje koncentracije tega estra pri spontanah fermentacijah, zaradi manjše čistosti populacije.

S statistično obdelavo podatkov smo ugotovili, da med koncentracijami ni nobenih statistično značilnih razlik; ni opaziti ne vpliva trgatve niti vpliva kvasovk oziroma fermentacij.

#### -Etil-laktat

Etil laktat je predvsem produkt mlečnokislinske fermentacije, ki ga najdemo tudi kot stranski produkt alkoholne fermentacije. Tvorijo se v majhnih koncentracijah zaradi manjše koncentracije laktata. Bolj kot je nečista populacija mikroorganizmov, več se ga tvori. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je v vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve koncentracija 50,67 mg/L, v vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve je koncentracija 54,30 mg/L, v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 14,90 mg/L. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve koncentracija 21,48 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve je koncentracija 16,59 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 30,39 mg/L. Iz teh rezultatov je težko sklepati na kakšno tendenco.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom pridelanim iz grozdja tretje trgatve in ostalima dvema, med katerima ni statistično značilnih razlik. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo ni statistično značilnih razlik. Vpliv fermentacije se kaže le med vini pridelanih iz grozdja druge trgatve, medtem ko pri vinih pridelanih iz grozdja prve in tretje trgatve ni opaziti statistično značilnih razlik.

#### -Etil-acetat

Etil-acetat je ester etanola in očetne kisline. Vedno ga gre največ pričakovati po alkoholni fermentaciji, zaradi visoke koncentracije obeh reagentov. V manjših koncentracijah pripomore k aromi, nad 150mg/l pa škoduje kakovosti vina. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je v vinih pridelanih iz grozdja prve trgatve koncentracija 222,20 mg/L, v vinih pridelanih iz grozdja druge trgatve je koncentracija 341,26 mg/L, v vinih pridelanih iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 261,66 mg/L. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve koncentracija 99,47 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve 84,40 mg/L, v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve pa je koncentracija 119,65 mg/L. Glede na rezultate lahko sklepamo, se tvori več etil acetata z večjo dozorelostjo ter pri spontanah fermentacijah. Vzroki so predvsem sev, koncentracija sladkorja, stopnja aeracije in zdravstveno stanje grozdja.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom

pridelanim iz grozdja druge trgateve in ostalima dvema, med katerima ni statistično značilnih razlik. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo ni statistično značilnih razlik. Vplivi fermentacij se kažejo med vini pridelanimi iz grozdja vseh treh trgatev.

### **5.2.15 ORGANSKE KISLINE V MLADIH VINIH SORTE REBULA**

#### **Jabolčna kislina**

Jabolčna kislina je kislina nezrelosti. V večjih koncentracijah se pojavlja tem bolj je grozdje nezrelo. V poskusu je opaziti, da je koncentracija jabolčne kisline v vinih manjša, če je fermentacija spontana in pri fermentaciji moštov iz bolj dozorelega grozdja. Bolj zrelo grozdje ima nižjo koncentracijo jabolčne kisline, ker se ta oksidira, oziroma porabi za glukoneogenezo. Če je fermentacija spontana, je združba mikroorganizmov v moštu bolj raznolika, pojavljajo se tudi mlečnokislinske bakterije, dalj časa delujejo različne vrste kvasovk, kar pripomore k temu, da je v vinih koncentracija jabolčne kisline manjša.

V moštu iz prve trgateve je bila začetna koncentracija jabolčne kisline 5,70 g/L, ta se pri alkoholni fermentaciji zmanjša na 4,67 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 5,19 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. V moštu iz druge trgateve je bila začetna koncentracija jabolčne kisline 4,04 g/L, ta se po alkoholni fermentaciji zmanjša na 3,12 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 3,58 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Podobno se zgodi zmanjšanje koncentracije jabolčne kisline pri fermentaciji mošta tretje trgateve. Začetna koncentracija jabolčne kisline je bila 3,65 g/L, ta se po alkoholni fermentaciji zmanjša na 2,52 g/l v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 2,94 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Rezultati so pričakovani zaradi porabe jabolčne kisline kot oblike substrata več mikroorganizmom.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike med vsemi tremi vini. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo velja enako. Vpliv fermentacij se kaže med vini pridelanimi iz grozdja vseh treh trgatev.

#### **Vinska kislina**

Koncentracije vinske kisline, ki smo jih določili so nerealne, ker je zaradi zamrzovanja vzorcev prišlo do izločanja vinskega kamna in so zato dobljeni rezultati premajhni. Začetna koncentracija vinske kisline je bila: -1,75 g/L v moštu prve trgateve; se zmanjša na 1,13 g/L v vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo in na 0,84 g/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo, -3,34 g/L v moštu druge trgateve; se zmanjša na 0,67 g/L v vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo in na 0,59 g/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo in -3,82 g/L v moštu tretje trgateve, ki se zmanjša na 0,44 g/L v vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo in na 0,39 g/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacije. Pri dobljenih rezultatih se kljub temu kaže tendenca manjšanja koncentracij kisline, ki je manjša s poznejšo trgatvijo. S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom pridelanim iz grozdja prve trgateve in ostalima dvema, med katerima ni statistično značilnih razlik. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo, se statistično značilno razlikujeta koncentraciji vinske kisline v vinih pridelanih iz grozdja prve in tretje trgateve. Vpliva fermentacije ni opaziti.



### -Citronska kislina

Citronska kislina je tretja najpomembnejša kislina vinu za vinsko in jabolčno kislino, čeprav je njena koncentracija v primerjavi s prejšnjima zelo majhna. Začetne koncentracije citronske kisline so bile v moštu naslednje: 0,44 g/L v moštu prve trgatve, 0,36 g/L v moštu druge trgatve in 0,34 g/L v moštu tretje trgatve. Če primerjamo začetne vrednosti teh kislin s koncentracijo le-teh v mladih vinih opazimo, da ne pride do velikih sprememb. V vinih iz prve trgatve se koncentracija rahlo zmanjša; iz 0,44 g/L na 0,31 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 0,36 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Še manjše spremembe koncentracije se zgodijo pri alkoholni fermentaciji mošta druge trgatve; koncentracija citronske kisline se zmanjša na 0,31 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 0,34 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu iz tretje trgatve se koncentracija citronske kisline sploh ne spremeni v primeru vina, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo se koncentracija neznatno malo zmanjša, in sicer na 0,33 g/L. Mogoče je opaziti rahlo tendenco, da pride do večjega zmanjšanja koncentracije pri spontanih alkoholnih fermentacijah, zaradi večje prisotnosti kisika in drugih mikroorganizmov, ki porabljajo citrsko kislino kot substrat.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom pridelanim iz grozdja tretje trgatve in ostalima dvema, med katerima ni statistično značilnih razlik. Med vini pridelanimi z vodeno alkoholno fermentacijo je prišlo do statistično značilne razlike v koncentracijah le med vinom pridelanim iz grozdja prve trgatve in ostalima dvema, med katerima ni statistično značilnih razlik. Vpliv fermentacije se kaže med vini pridelanimi iz grozdja vseh treh trgatev.

### -Jantarna kislina

Jantarna kislina je tretji najpomembnejši metabolit v procesu alkoholne fermentacije za etanolom in glicerolom. Tvori se iz sladkorja in jabolčne kisline. V vinu je koncentracija le-te po pričakovanih večja. Začetne koncentracije v moštih so naslednje: v moštu iz prve trgatve je koncentracija 0,10 g/L, v moštu iz druge trgatve je 0,26 g/L in v moštu iz tretje trgatve je 0,46 g/L. Koncentracija naraste v vinu iz prve trgatve, in sicer na 0,21 g/L v vinu, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo in na 0,24 g/L v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo. V vinih iz druge trgatve se poveča na 0,37 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 0,39 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Največje vrednosti se pojavijo v vinih tretje trgatve, in sicer 0,56 g/L v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo in na 0,57 g/L v vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo. Opaziti je, da se večja koncentracija jantarne kisline tvori v vinih pridelanih iz zgodnejših trgatev pri vodenih fermentacijah.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo je prišlo do statistično značilnih razlik med vsemi vini. Enako velja tudi za vina pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo. Vpliva fermentacije ni opaziti.

### -Mlečna kislina

Mlečne kisline v zdravem grozdju praviloma ni prisotna, nahaja se v sledovih v izredno majhnih koncentracijah. V vinu se pojavi kot posledica delovanja mlečnokislinskih bakterij. V naših poskusih, razen v primeru vina tretje trgatve, ki je bilo pridelano s spontano alkoholno fermentacijo ni prišlo do večje tvorbe mlečne kisline. Vzrok je, da so bile razmere za delovanje mlečnokislinskih bakterij neprimerne. V prej omenjenem vinu se je tvorilo 1,30 g/L mlečne kisline. V ostalih vinih se je tvorilo od 0,22 g/L do 0,29 g/L mlečne kisline in

velikih razlik med vini ni. V vinu, ki je bilo pridelano iz grozdja tretje trgateve z vodeno alkoholno fermentacijo, kljub dobrim razmeram ni prišlo do večjega delovanja mlečnokislinskih bakterij zaradi hitrega začetka delovanja kvasovk, ki te seveda ovirajo.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilnih razlik, le med vinom pridelanim iz grozdja tretje trgateve in ostalima dvema med katerima ni prišlo do statistično značilnih razlik v koncentraciji. V vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo ni prišlo do statistično značilnih razlik v koncentracijah. Vpliv fermentacij se kaže le v primeru vin pridelanih iz grozdja tretje trgateve.

### 5.2.16 SLADKORJI IN GLICEROL V MLADIH VINIH SORTE REBULA

#### -Fruktoza

Znano je, da fruktozo kvasovke težje izkoriščajo od glukoze, zaradi encima heksokinaze, ki prevzema v razmerju (glukoza/ fruktoza) =1/3. Fruktoze, na koncu fermentacije ostane več. Začetna koncentracija fruktoze v moštu prve trgateve je bila 79,02 g/L, v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija le-te 23,80 g/L, v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija 5,76 g/L. Začetna koncentracija fruktoze v moštu druge trgateve je bila 93,29 g/L, v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija le-te 12,11 g/L, v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo pa 4,07 g/L. Začetna koncentracija fruktoze v moštu tretje trgateve je bila 94,77 g/L, v vinu pridelanem s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija le-te 12,17 g/L, v vinu, ki je bilo pridelano z vodeno alkoholno fermentacijo pa 4,04 g/L. Iz rezultatov se jasno vidi, da z boljšo sestavo grozdnega soka, hranili, pH,..., ki se izboljšujejo z zrelostjo in v primeru vodene fermentacije, kjer kvasovke bolje izkoriščajo sladkorje je preostanek manjši.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilnih razlik, le med vinom pridelanim iz grozdja prve trgateve in ostalima dvema med katerima ni prišlo do statistično značilnih razlik v koncentraciji. V vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo ni prišlo do statistično značilnih razlik v koncentracijah. Vpliv fermentacije se kaže med vini pridelanimi iz grozdja vseh treh trgatev.

#### -Glukoza

Glukoza, v nasprotju s fruktozo kvasovke najbolj izkoriščajo. Pri rezultatih opazimo, da je v vseh treh primerih vodene fermentacije preostanek sladkorja enak nič. Navkljub slabšim razmeram v primerih moštov prvih dveh trgatev izkoristijo ves sladkor na razpolago. V vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo imajo kvasovke slabše razmere za rast. Predvsem pH in nizka vsebnost dušičnih snovi, bolj vplivajo na neselekcionirano avtohtono mikrofloro. Začetna koncentracija glukoze je 90,19 g/L v moštu prve trgateve, 86,05 g/L v moštu druge trgateve in 87,35 g/L v moštu tretje trgateve. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgateve 1,40 g/L, v vinu iz druge trgateve 2,47g/L in v vinu pridelanem iz grozdja prve trgateve pa 6,38 g/L.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilnih razlik med vini pridelanimi iz grozdja vseh treh trgatev. V vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo ni prišlo do statistično značilnih razlik v koncentracijah. Vpliv fermentacije se kaže med vini pridelanimi iz grozdja vseh treh trgatev.

### -Saharoza

Koncentracija saharoze v vinu nima nobene povezave s koncentracijo saharoze v grozdnem soku, ker je ta sladkor za kvasovke dostopen. V naših vinih je koncentracija saharoze v vseh vinih pod 1g/L. Med koncentracijami ni velikih razlik. Koncentracije se gibljejo od 0,56-0,71 g/L. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve 0,64 g/L, v vinu iz druge trgatve 0,56 g/L in v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve 0,71 g/L. V vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija v vinu iz grozdja tretje trgatve 0,59 g/L, v vinu iz druge trgatve 0,59 g/L in v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve 0,58 g/L.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilnih razlik med vini pridelanimi iz grozdja vseh treh trgatav. V vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo ni prišlo do statistično značilnih razlik med koncentracijami. Vpliv fermentacije se kaže med vini pridelanimi iz grozdja prve in tretje trgatve.

### -Glicerol

Je najpomembnejši stranski produkt alkoholne fermentacije. Predvsem vpliva na senzorične lastnosti vina. V moštu ga ni. Nastaja v začetnih fazah alkoholne fermentacije, ko je koncentracija sladkorja še visoka. Alkohol dehidrogenaza je zaradi velike koncentracije sladkorjev takrat še blokirana. V poskus zajetih vinih je opaziti, da v slabših razmerah in s pomočjo avtohtone flore nastanejo večje koncentracije, zaradi podaljšanja začetne faze fermentacije in različnih avtohtonih sevov ter vrst kvasovk, ki še bolj spodbujajo sintezo glicerola. V vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo je koncentracija 6,20 g/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 5,00 g/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 4,82 g/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. V vinu pridelanem z vodeno alkoholno fermentacijo je koncentracija 5,24 g/L v vinu pridelanem iz grozdja prve trgatve, 4,96 g/L v vinu pridelanem iz grozdja druge trgatve in 4,89 g/L v vinu pridelanem iz grozdja tretje trgatve. Razlike med koncentracijami v vinih, ki so bila pridelana iz grozdja iste trgatve in s pomočjo različne fermentacije se zmanjšuje od prve proti tretji.

S statistično obdelavo podatkov je bilo ugotovljeno, da je med vini pridelanimi s spontano alkoholno fermentacijo prišlo do statistično značilnih razlik le med vinom pridelanim iz grozdja prve trgatve v primerjavi z ostalima dvema med katerima ni statistično značilnih razlik. V vinih, ki so bila pridelana z vodeno alkoholno fermentacijo ni prišlo do statistično značilnih razlik v koncentracijah. Vpliv fermentacij se kaže med vini pridelanimi iz grozdja prve trgatve.

## 6 POVZETEK IN SKLEPI

### 6.1 POVZETEK

Namen poskusa je bil ugotoviti kako kemična sestava grozdnega soka sorte Rebula vpliva na kinetiko in kakovost alkoholne fermentacije ter končnih produktov v mladem vinu. S pravilno izbiro časa trgatve smo hoteli doseči optimalno kemijsko sestavo grozdnega soka ter hiter začetek in enakomeren potek alkoholne fermentacije. S tem smo hoteli doseči optimalno kemijsko sestavo in optimalno kakovost mladega vina.

Letnik 2005 ni bil optimalen za doseg vrhunske kakovosti grozdja oziroma za pridelavo vrhunske kakovosti vin. V času dozorevanja je padla zelo velika količina padavin, tudi temperature so bile precej manjše od dolgoletnih povprečij. Grozdje je doseglo polno zrelost kasneje, o prezrelosti pa bi težko govorili, ker se je zaradi slabega vremena začela pojavljati siva gniloba, zato je bilo treba grozdje prej potrgati.

Kljub slabemu vremenu in ne najboljši kakovosti vhodne surovine, se je dalo iz poskusa povleči nekaj pomembnih zaključkov.

V poskus so bile vključene tri trgatve v razmiku treh tednov; predvidevalo se je, da bo prva trgatvev izvedena v fazi še ne polne zrelosti, druga trgatvev v fazi polne zrelosti in tretja v fazi prezrelosti. Prve dve trgatvi smo opravili po načrtih, do prezrelosti pa ni prišlo, zaradi zelo slabega vremena.

Po trgatvi je bilo grozdje predelano, dobili smo grozdni sok, dobit je bil zelo majhen, predvsem zaradi velike debeline jagodnih kožic. Letos so bile še toliko bolj debele zaradi obilne količine padavin in dobrih pogojev rasti v vegetativni fazi razvoja, ko so bile jagode še zelene. Koncentracije posameznih analiziranih kemičnih sestavin so se tekom zorenja spreminjale po pričakovanjih, vendar ne v takem obsegu, ki bi omogočal vrhunsko kemično sestavo za pridelavo vina vrhunske kakovosti.

Koncentracije reducirajočih sladkorjev v grozdnem soku so bile majhne, koncentracije titrabilnih kislin velike, posledično je tudi pH majhen in nadpovprečno velike so bile pufrne kapacitete. Koncentracija dušikovih snovi je šele v grozdnem soku tretje trgatve dosegla minimalno vsebnost za normalen potek alkoholne fermentacije (140mg/l), tudi koncentracija skupnih fenolnih snovi je dosegla povprečje za bela vina (225mg galne kisline/l) šele v grozdnem soku iz tretje trgatve.

Alkoholna fermentacija je potekala v balonih, v katere smo natočili mošt. Pri vsaki trgatvi je fermentacija potekala v treh balonih, od katerih sta dve bili vodeni ena pa spontana. V mošte z vodenimi fermentacijami je bila dodana kultura selekcioniranih, liofiliziranih kvasovk. Na kinetiko fermentacije kvasovk je po pričakovanjih vplivala predvsem kemična sestava grozdnega soka. Pri vodenih fermentacijah, tako kot pri spontanah, je bila v primerih moštov iz poznejših trgatvev hitrost oddajanja CO<sub>2</sub> večja, prav tako tudi končna masa oddanega CO<sub>2</sub>. Spontane fermentacije so potekale po pričakovanjih počasneje, zaradi prisotnosti avtohtonih sevov in vrst kvasovk ter njihove manjše odpornosti na slabše pogoje rasti. Izkaže se, da je avtohtona flora bolj občutljiva na slabše pogoje.

Prišlo je tudi do vstopa kisika v balone kjer so potekale spontane fermentacije, zaradi nizkega parcialnega tlaka CO<sub>2</sub> proti koncu fermentacije.

Spontane fermentacije so potekale v povprečju teden dlje od vodenih.

Po koncu alkoholnih fermentacij so se zgodile pričakovane spremembe. V vinih, ki so bila pridelana s spontano alkoholno fermentacijo so bili ostanki sladkorjev vse večji v vinih pridelanih iz grozdja zgodnejših trgategv, obratno-sorazmerno to velja za koncentracije alkohola. Vina pridelana z vodeno fermentacijo so vsa povrela do pod 1g/l ostanka sladkorja, koncentracije alkohola pa se povečujejo proti tretji trgatvi, zaradi večje koncentracije sladkorjev v grozdnem soku. Kljub nizkim koncentracijam dušikovih snovi, so vse fermentacije potekle do konca. V nobeni fermentaciji ni prišlo do prekoračitve zakonske meje vsebnosti hlapnih kislin, le da so bile koncentracije le-teh rahlo večje v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo. Pufna kapaciteta in koncentracija titrabilnih kislin sta v vinih po pričakovanjih manjša, najbolj se zmanjšata v vinih iz tretjih trgategv in vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo. pH se v vinih poveča, in sicer najbolj v vinih iz poznejših trgategv. Ekstrakt brez reducirajočih sladkorjev je večji v vinih iz zgodnejših trgategv in pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo. Barva vina je intenzivnejša v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo in poznejših trgategv. Pripomogli sta predvsem oksidacija in produkti drugih mikroorganizmov ter večje koncentracije flavonov, ker se njihova koncentracija povečuje z zrelostjo. Tudi motnost je večja v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo.

Glede hlapnih snovi; koncentracija estrov se povečuje z zrelostjo grozdja in je le-teh več v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo. Koncentracija višjih alkoholov se veča z zrelostjo grozdja v vinih iz spontanih fermentacij, medtem ko pri vodenih velja obratno. V vinih iz vodenih fermentacij je večja koncentracija višjih alkoholov. Koncentracija metanola se povečuje v vinih pridelanih od prve proti tretji trgatvi. Na koncentracijo acetaldehida vplivajo tudi sevi kvasovk, več ga je v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo in v vinih pridelanih iz bolj zrelega grozdja. Koncentracija diacetila se zmanjšuje v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo od prve proti tretji trgatvi, več se ga tvori v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo.

Koncentracija acetoina ne značilno narašča z zrelostjo, način fermentacije rahlo bolj vpliva na koncentracijo le-tega.

Za glukozo je značilno, da se v vinih pridelanih z vodeno fermentacijo popolnoma izkoristi, ne glede na datum trgatve. V vinih pridelanih s spontano fermentacijo pa se le-ta bolj izkoristi v vinih poznejših trgategv. Fruktoze v vinih ostane več, posebno v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo, tudi v vinih pridelanih z vodeno alkoholno fermentacijo je še prisotna; več jo ostane v vinih iz zgodnejših trgategv. Saharoze je opaziti več v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo. Koncentracija glicerola se zmanjšuje v vinih iz grozdja poznejših trgategv; več ga je v vinih pridelanih s spontano alkoholno fermentacijo.

Koncentraciji vinske in jabolčne kisline se po pričakovanjih zmanjšata, koncentraciji jantarne in mlečne kisline se povečata, koncentracija citronske kisline pa ostane skoraj nespremenjena, oziroma rahlo pade.

## 6.2 SKLEPI

Na osnovi opravljenega dela lahko zaključimo:

- kemijsko-fizikalni parametri vina so boljši pri vinih pridobljenih z vodeno fermentacijo;
- grozdni sok, ki je bil pridobljen iz grozdja z večjo stopnjo zrelosti ima primernejšo kemično sestavo;
- slabša kemijska sestava grozdnega soka manj ovira fermentacijo v primeru uporabe selekcioniranih kvasovk;
- razlika med vinom pridobljenim s spontano in vodeno fermentacijo je manjša pri moštu, ki je bil pridobljen iz grozdja z večjo stopnjo zrelosti.

## 7 PRILOGE

Priloga A3: Rezultati analize mošta sorte Rebula z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

lastnost (točke)	n	$\bar{x}$	min	max	so	KV (%)
pH	9	3,129	3,075	3,226	0,07	2,26
Titribilne kisline (pH=7,0) (g/L)	9	9,25	8,67	10,03	0,60	6,44
Titribilne kisline (pH=8,2) (g/L)	9	9,46	8,87	10,25	0,59	6,23
Spec. Gost.	9	1,07490	1,07096	1,07903	0,00	0,31
Red. sladkorji (g/L)	9	171,6	161,0	180,0	0,75	4,34
Skupni fenoli (mg galne kisline/L)	9	199,09	180,50	225,18	19,97	10,03
FAN (mg N/L)	9	122,21	101,35	142,00	16,72	13,68
Puf. kapac. (mmol/L/pH)	3	58,90	58,29	59,25	0,53	0,90
Glukoza (g/L)	3	87,86	86,05	90,19	90,19	2,12
Fruktoza (g/L)	3	89,03	79,02	94,77	94,77	8,70
Vinska kislina (g/L)	3	2,97	1,75	3,82	3,82	1,08
Jabolčna kislina (g/L)	3	4,46	3,65	5,70	5,70	1,88
Citronska kislina (g/L)	3	0,38	0,34	0,44	0,44	0,05
Jantarna kislina(g/L)	3	0,27	0,10	0,46	0,46	0,18

n - število obravnavanj;  $\bar{x}$  - povprečna vrednost; min - minimalna vrednost; max - maksimalna vrednost; so – standardni odklon deviacija; KV (%) - koeficient variabilnosti

Priloga A4: Vpliv trgatve na parametre mošta sorte Rebula

parameter	trgatev 1	trgatev 2	trgatev 3	SE	p-vrednost
pH	3,081 <sup>b</sup>	3,082 <sup>b</sup>	3,223 <sup>a</sup>	0,00	<0,0001
TK (pH=7,0) (g/L)	10,02 <sup>a</sup>	9,05 <sup>b</sup>	8,69 <sup>c</sup>	0,01	<0,0001
TK (pH=8,2) (g/L)	10,22 <sup>a</sup>	9,24 <sup>b</sup>	8,91 <sup>c</sup>	0,02	<0,0001
Spec. gost.	1,07097 <sup>c</sup>	1,07497 <sup>b</sup>	1,07877 <sup>a</sup>	0,00	<0,0001
Red. sladkorji (g/L)	162,0 <sup>b</sup>	176,0 <sup>s</sup>	176,7 <sup>s</sup>	0,13	0,0004
Skupni fenoli (mg galne kisline/L)	181,45 <sup>b</sup>	190,64 <sup>b</sup>	225,18 <sup>a</sup>	0,32	<0,0001
FAN (mg N/L)	111,67 <sup>b</sup>	112,96 <sup>b</sup>	142,00 <sup>a</sup>	5,12	0,0094
Puf. kapac. (mmol/L/pH)	59,17	58,29	59,25	-	-
Glukoza (g/L)	90,19	86,05	87,35	-	-
Fruktoza (g/L)	79,02	93,29	94,77	-	-
Vinska kislina (g/L)	1,75	3,34	3,82	-	-
Jabolčna kislina (g/L)	5,70	4,04	3,65	-	-
Citronska kislina (g/L)	0,44	0,36	0,34	-	-
Jantarna kislina (g/L)	0,10	0,26	0,46	-	-

<sup>a,b,c</sup> trgateve v isti vrstici, ki v oznaki nimajo enake nobene od črk, se statistično značilno razlikujejo (p<0,05), SE – standardna napaka ocene.

## Priloga B1: Rezultati analize vina sorte Rebula z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

lastnost (točke)	n	$\bar{x}$	min	max	so	KV (%)
pH	26	3,203	3,124	3,309	0,05	1,71
Titribilne kisline (pH=7,0) (g/L)	26	8,49	5,08	10,01	1,38	16,30
Titribilne kisline (pH=8,2) (g/L)	26	8,70	5,26	10,24	1,39	16,02
Hlapne kisline (g/L)	25	0,346	0,275	0,422	0,04	12,66
Skupni ekstr. brez red. Sladkorjev (g/L)	9	21,58	20,60	22,48	0,58	2,69
Alkohol (vol. %)	25	10,22	8,62	11,07	0,69	6,70
Reducirajoči sladkorji (g/L)	27	5,58	0,40	20,80	7,46	133,62
Skupni fenoli (mg galne kisline/L)	25	175,46	130,00	233,90	26,41	15,05
FAN (mg N/L)	23	24,99	12,59	50,00	12,22	48,91
Pufna kapaciteta (mmol/L/pH)	9	47,159	31,720	54,250	6,53	13,84
A420 nm	26	0,095	0,062	0,188	0,04	46,72
A600 nm	26	0,025	0,007	0,090	0,03	103,10
Citronska kislina(g/L)	9	0,34	0,31	0,36	0,02	5,29
Jantarna kislina (g/L)	9	0,39	0,21	0,57	0,02	12,75
Mlečna kislina (g/L)	9	0,37	0,19	1,30	0,35	96,01
Jabolčna kislina (g/L)	9	3,67	2,94	5,19	0,53	11,33
Vinska kislina (g/L)	9	0,65	0,36	1,13	0,26	39,61
Fruktoza (g/L)	9	8,42	3,94	23,80	6,67	79,14
Glukoza (g/L)	9	1,14	0,00	6,38	2,15	189,23
Saharoza (g/L)	9	0,60	0,56	0,71	0,05	7,69
Glicerol (g/L)	9	5,13	4,82	6,20	0,43	8,41
Acetaldehid (mg/L)	9	118,75	78,21	168,47	33,37	28,10
Etil-acetat (mg/L)	9	159,13	83,10	341,26	93,49	58,75
Metanol (mg/L)	9	159,28	138,21	188,88	16,37	10,28
Diacetil (mg/L)	9	32,50	3,45	111,49	38,55	118,62
1-propanol (mg/L)	9	50,28	38,04	69,49	12,33	24,52
Izobutanol (mg/L)	9	65,02	56,15	92,81	11,73	18,03
Izoamil-acetat (mg/L)	9	5,75	2,83	8,71	2,04	35,44
Izoamilni alkohol(mg/L)	9	385,57	228,69	615,92	125,46	32,54
Acetoin (mg/L)	9	55,95	52,56	66,25	4,83	8,63
Metil-laktat (mg/L)	9	44,61	0,00	107,48	47,12	105,61
Etil-laktat (mg/L)	9	28,53	12,01	54,30	15,61	54,71
2-fenil etilacetat (mg/L)	9	0	0	0	0	0
2-fenil etanol (mg/L)	9	32,19	13,51	54,04	15,71	48,80

n - število obravnavanj;  $\bar{x}$  - povprečna vrednost; min - minimalna vrednost; max - maksimalna vrednost; so - standardni odklon deviacija; KV (%) - koeficient variabilnosti



## Priloga B2: Vpliv načina fermentacije na parametre vina sorte Rebula v odvisnosti od trgatve

parameter	fermentacija	spontana	vodena	p-vrednost
pH	Trgatev 1	3,126±0,002 <sup>c</sup>	3,183±0,001 <sup>d</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	3,129±0,002 <sup>c</sup>	3,192±0,001 <sup>c</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	3,308±0,002 <sup>a</sup>	3,244±0,001 <sup>b</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
TK (pH=7,0) (g/L)	Trgatev 1	9,03±0,03 <sup>b</sup>	9,96±0,02 <sup>a</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	8,57±0,03 <sup>d</sup>	8,90±0,02 <sup>c</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	5,09±0,03 <sup>f</sup>	8,24±0,02 <sup>e</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
TK (pH=8,2) (g/L)	Trgatev 1	9,33±0,02 <sup>b</sup>	10,17±0,02 <sup>a</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	8,79±0,02 <sup>d</sup>	9,10±0,02 <sup>c</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	5,27±0,02 <sup>f</sup>	8,45±0,02 <sup>e</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
Hlapne kisline (g/L)	Trgatev 1	0,371±0,02 <sup>bc</sup>	0,354±0,01 <sup>c</sup>	p <sub>T</sub> < 0,35
	Trgatev 2	0,389±0,01 <sup>b</sup>	0,332±0,01 <sup>c</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	0,402±0,01 <sup>ab</sup>	0,291±0,01 <sup>d</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,004
Skupni ekstrakt brez red. sladkorjev(g/L)	Trgatev 1	21,75±0,27 <sup>ab</sup>	22,21±0,19 <sup>a</sup>	p <sub>T</sub> < 0,07
	Trgatev 2	20,60±0,27 <sup>b</sup>	21,72±0,19 <sup>ac</sup>	p <sub>F</sub> < 0,02
	Trgatev 3	20,77±0,27 <sup>bc</sup>	21,65±0,19 <sup>ab</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,46
Pufna kapaciteta (mmol/L/pH)	Trgatev 1	47,940±0,29 <sup>bc</sup>	54,105±0,20 <sup>a</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	45,789±0,29 <sup>d</sup>	48,435±0,20 <sup>ab</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	31,720±0,29 <sup>e</sup>	46,952±0,20 <sup>c</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0003
Alkohol	Trgatev 1	8,63±0,03 <sup>f</sup>	9,86±0,02 <sup>d</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	9,71±0,03 <sup>e</sup>	10,54±0,02 <sup>b</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	10,32±0,03 <sup>c</sup>	11,04±0,02 <sup>a</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
Reducirajoči sladkorji (g/L)	Trgatev 1	20,67±0,05 <sup>a</sup>	0,44±0,03 <sup>f</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	13,62±0,05 <sup>b</sup>	0,58±0,03 <sup>e</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	12,13±0,05 <sup>c</sup>	0,88±0,03 <sup>d</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
Skupni fenoli (mg galne kisline/L)	Trgatev 1	135,00±3,50 <sup>d</sup>	164,12±2,71 <sup>c</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	172,82±4,29 <sup>bc</sup>	162,75±2,48 <sup>c</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	183,20±3,50 <sup>b</sup>	214,87±2,48 <sup>a</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
FAN (mg N/L)	Trgatev 1	27,14±0,95 <sup>c</sup>	14,92±0,67 <sup>e</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	38,87±1,17 <sup>b</sup>	16,74±0,74 <sup>e</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	50,00±0,95 <sup>a</sup>	23,08±0,82 <sup>d</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
A420 nm	Trgatev 1	0,160±0,002 <sup>b</sup>	0,067±0,001 <sup>e</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	0,078±0,002 <sup>d</sup>	0,070±0,001 <sup>c</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	0,186±0,002 <sup>a</sup>	0,073±0,001 <sup>c</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
A600 nm	Trgatev 1	0,017±0,009 <sup>b</sup>	0,012±0,007 <sup>b</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	0,012±0,009 <sup>b</sup>	0,007±0,006 <sup>b</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	0,064±0,009 <sup>a</sup>	0,012±0,006 <sup>b</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001
Citron. Kisl. (g/L)	Trgatev 1	0,31±0,00 <sup>d</sup>	0,36±0,00 <sup>a</sup>	p <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	0,31±0,00 <sup>d</sup>	0,34±0,00 <sup>b</sup>	p <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	0,33±0,00 <sup>c</sup>	0,34±0,00 <sup>b</sup>	p <sub>T*F</sub> < 0,0001

## Priloga B2: Vpliv načina fermentacije na parametre vina sorte Rebula v odvisnosti od trgateve

Jant. Kisl. (g/L)	Trgatev 1	0,21±0,00 <sup>a</sup>	0,24±0,00 <sup>a</sup>	P <sub>T</sub> =0,0160
				P <sub>F</sub> =0,0163
				P <sub>T*F</sub> =0,1643
	Trgatev 2	0,37±0,00 <sup>b</sup>	0,39±0,00 <sup>b</sup>	
	Trgatev 3	0,56±0,00 <sup>c</sup>	0,57±0,00 <sup>c</sup>	
Mlečna kisl. (g/L)	Trgatev 1	0,24±0,05 <sup>b</sup>	0,29±0,03 <sup>b</sup>	P <sub>T</sub> =0,0016
	Trgatev 2	0,24±0,05 <sup>b</sup>	0,21±0,03 <sup>b</sup>	P <sub>F</sub> =0,0222
	Trgatev 3	1,30±0,05 <sup>a</sup>	0,26±0,03 <sup>b</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0017
Jabolč. Kisl (g/L)	Trgatev 1	4,67±0,12 <sup>b</sup>	5,19±0,09 <sup>a</sup>	P <sub>T</sub> =0,0097
	Trgatev 2	3,12±0,12 <sup>c</sup>	3,58±0,09 <sup>f</sup>	P <sub>F</sub> =0,0030
	Trgatev 3	2,52±0,12 <sup>d</sup>	2,94±0,09 <sup>e</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,1846
Vinska kisl. (g/L)	Trgatev 1	1,13±0,12 <sup>a</sup>	0,84±0,08 <sup>ab</sup>	P <sub>T</sub> =0,0254
	Trgatev 2	0,67±0,12 <sup>bc</sup>	0,59±0,08 <sup>bc</sup>	P <sub>F</sub> =0,1852
	Trgatev 3	0,44±0,12 <sup>bc</sup>	0,39±0,08 <sup>c</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,5202
Fruktoza (g/L)	Trgatev 1	23,80±0,50 <sup>a</sup>	5,76±0,35 <sup>c</sup>	P <sub>T</sub> =0,0009
	Trgatev 2	12,11±0,50 <sup>b</sup>	4,07±0,35 <sup>c</sup>	P <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	12,17±0,50 <sup>b</sup>	4,04±0,35 <sup>c</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0022
Glukoza (g/L)	Trgatev 1	6,38±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	P <sub>T</sub> < 0,0001
	Trgatev 2	2,47±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	P <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	1,39±0,00 <sup>c</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	P <sub>T*F</sub> < 0,0001
Saharoza (g/L)	Trgatev 1	0,71±0,01 <sup>a</sup>	0,57±0,01 <sup>c</sup>	P <sub>T</sub> =0,0144
	Trgatev 2	0,56±0,01 <sup>c</sup>	0,59±0,01 <sup>c</sup>	P <sub>F</sub> =0,0067
	Trgatev 3	0,64±0,01 <sup>b</sup>	0,59±0,01 <sup>c</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0086
Glicerol (g/L)	Trgatev 1	6,20±0,12 <sup>a</sup>	5,23±0,08 <sup>b</sup>	P <sub>T</sub> =0,0067
	Trgatev 2	5,00±0,12 <sup>b</sup>	4,96±0,08 <sup>b</sup>	P <sub>F</sub> =0,0332
	Trgatev 3	4,82±0,12 <sup>b</sup>	4,89±0,08 <sup>b</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0269
Acetaldehid (mg/L)	Trgatev 1	134,50±19,98 <sup>ab</sup>	83,97±14,13 <sup>b</sup>	P <sub>T</sub> =0,0057
	Trgatev 2	125,78±19,98 <sup>ab</sup>	92,92±14,13 <sup>ab</sup>	P <sub>F</sub> =0,0828
	Trgatev 3	168,47±19,98 <sup>a</sup>	143,13±14,13 <sup>ab</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,7741
Etil-acetat (mg/L)	Trgatev 1	222,20±16,90 <sup>b</sup>	99,47±11,95 <sup>c</sup>	P <sub>T</sub> =0,0834
	Trgatev 2	341,26±16,90 <sup>a</sup>	84,40±11,95 <sup>c</sup>	P <sub>F</sub> =0,0007
	Trgatev 3	261,66±16,90 <sup>b</sup>	119,65±11,95 <sup>c</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0359
Metanol (mg/L)	Trgatev 1	156,43±7,33 <sup>bc</sup>	161,13±5,18 <sup>abc</sup>	P <sub>T</sub> =0,0237
	Trgatev 2	143,90±7,33 <sup>bc</sup>	141,40±5,18 <sup>c</sup>	P <sub>F</sub> =0,3528
	Trgatev 3	188,88±7,33 <sup>a</sup>	169,63±5,18 <sup>ab</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,2967
Diacetil (mg/L)	Trgatev 1	111,49±4,85 <sup>a</sup>	3,45±3,43 <sup>d</sup>	P <sub>T</sub> =0,0146
	Trgatev 2	45,28±4,85 <sup>c</sup>	12,18±3,43 <sup>d</sup>	P <sub>F</sub> =0,0003
	Trgatev 3	78,66±4,85 <sup>b</sup>	12,89±3,43 <sup>d</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0069
1-propanol (mg/L)	Trgatev 1	43,16±3,57 <sup>bc</sup>	40,86±2,53 <sup>c</sup>	P <sub>T</sub> =0,0091
	Trgatev 2	55,68±3,57 <sup>ab</sup>	38,89±2,53 <sup>c</sup>	P <sub>F</sub> =0,0406
	Trgatev 3	69,49±3,57 <sup>a</sup>	62,35±2,53 <sup>a</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,2032
Izobutanol (mg/L)	Trgatev 1	57,13±8,49 <sup>a</sup>	83,11±6,00 <sup>a</sup>	P <sub>T</sub> =0,3678
	Trgatev 2	56,15±8,49 <sup>a</sup>	60,67±6,00 <sup>a</sup>	P <sub>F</sub> =0,1489
	Trgatev 3	58,59±8,49 <sup>a</sup>	62,89±6,00 <sup>a</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,3654
Izoamil-acetat (mg/L)	Trgatev 1	2,83±0,55 <sup>c</sup>	5,06±0,39 <sup>b</sup>	P <sub>T</sub> =0,0050
	Trgatev 2	4,59±0,55 <sup>bc</sup>	4,72±0,39 <sup>bc</sup>	P <sub>F</sub> =0,2426
	Trgatev 3	8,71±0,55 <sup>a</sup>	8,06±0,39 <sup>a</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,1143

## Priloga B2: Vpliv načina fermentacije na parametre vina sorte Rebula v odvisnosti od trgatev

Izoamilni Alkohol (mg/L)	Trgatev 1	228,69±51,61 <sup>c</sup>	556,78±36,49 <sup>a</sup>	P <sub>T</sub> =0,4502
	Trgatev 2	229,29±51,61 <sup>c</sup>	434,78±36,49 <sup>ab</sup>	P <sub>F</sub> =0,0163
	Trgatev 3	341,05±51,61 <sup>bc</sup>	344,02±36,49 <sup>bc</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0776
Acetoin (mg/L)	Trgatev 1	66,25±2,25 <sup>a</sup>	52,56±1,59 <sup>b</sup>	P <sub>T</sub> =0,2794
	Trgatev 2	56,15±2,25 <sup>b</sup>	55,32±1,59 <sup>b</sup>	P <sub>F</sub> =0,0188
	Trgatev 3	60,23±2,25 <sup>a</sup>	52,56±1,59 <sup>b</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,1006
Metil-laktat (mg/L)	Trgatev 1	99,69±43,45 <sup>a</sup>	22,00±30,73 <sup>a</sup>	P <sub>T</sub> =0,9643
	Trgatev 2	53,44±43,45 <sup>a</sup>	48,46±30,73 <sup>a</sup>	P <sub>F</sub> =0,1311
	Trgatev 3	107,48±43,45 <sup>a</sup>	0,00±30,73 <sup>a</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,4700
Etil-laktat (mg/L)	Trgatev 1	50,67±8,51 <sup>a</sup>	21,48±6,02 <sup>ab</sup>	P <sub>T</sub> =0,2674
	Trgatev 2	54,30±8,51 <sup>a</sup>	16,59±6,02 <sup>b</sup>	P <sub>F</sub> =0,0652
	Trgatev 3	14,90±8,51 <sup>b</sup>	30,39±6,02 <sup>ab</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0679
2-fenil-etanol(mg/L)	Trgatev 1	15,06±1,16 <sup>d</sup>	52,71±0,82 <sup>a</sup>	P <sub>T</sub> =0,0037
	Trgatev 2	13,51±1,16 <sup>d</sup>	43,11±0,82 <sup>b</sup>	P <sub>F</sub> < 0,0001
	Trgatev 3	21,53±1,16 <sup>c</sup>	24,01±0,82 <sup>c</sup>	P <sub>T*F</sub> =0,0008

<sup>a,b,c,d,e,f</sup> fermentacije v istem stolpcu, ki v oznaki nimajo enake nobene od črk, se statistično značilno razlikujejo (p < 0,05), SE – standardna napaka ocene.

## 8 VIRI

- Adamič Š. 1989. Temelji biostatistike. 2. izd. Ljubljana, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani: 27-89.
- Anasanay-Galeote V., Blondin B., Dequin S., Sablayrolles J.-M. 2001. Stress affect of ethanol on fermentation kinetics by stationary-phase cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology Letters*, 23: 677-681.
- Arbeiter L. 1999. Vpliv tehnoloških lastnosti sevov *Saccharomyces cerevisiae* na kakovost vina. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 9-13.
- Batič K. 2005. Novejši tehnološki postopki pri predelavi grozdja sorte Rebula. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1-3.
- Belitz H.D., Grosch W. 1999. Food chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. Berlin, Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 237-243, 764-777.
- Bisson L. F., Block D.E. 2002. Ethanol tolerance in *Saccharomyces*. V: Biodiversity and biotechnology of wine yeast. Ciani M. (ed.). Kerala, Research Singpost: 85-98.
- Bizaj E. 2004. Potica. Seminarska naloga pri predmetu Biotehnologija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 7-9.
- Blaškovič Z. 1978. Kemična analiza vina sorte Rebula s posebnim poudarkom na sestavo organskih kislin. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Živilsko-tehnološki oddelek: 5-16, 18-19.
- 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: 35-52, 123-146, 178-181.
- Bubič V. 2000. Populacijska dinamika kvasovk v spontanah fermentacijah mošta Malvazije. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije: 3-6, 9-13.
- Cabras P., Angioni A., Garau V. L., Melis M., Pirisi F. M., Minelli E. V., Cabitza F., Cubeddu M. 1997. Fate of some new fungicides (cyprodinil, fludixomil, pyrimethanil and tebuconazole) from vine to wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2708-2710.
- Carlson M. 1999. Glucose repression in yeast. *Current Opinion in Microbiology*, 2: 202-207.
- D'Amore T., Russell I., Stewart G. G. 1989. Sugar utilization by yeast during fermentation. *Journal of Industrial Microbiology*, 4: 315-323.
- Garcia –Cozorla J., Xirau-Vayreda M. 1994. Persistence of dicarboximic fungicide residues in grapes, must and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 3: 338-340

Garoglio P. G. 1981. Nuova enologia enciclopedia vitivinicola mondiale. Brescia, AEB S.p.A.: 629 str.

Gojkovič A. 1996. Vpliv tehnološke zrelosti in predelave belega grozdja na kakovost vina. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 7, 17.

Jonson H., Robinson J. 2003. Atlante mondiale dei vini. 2<sup>a</sup> ed. Milano, Mondadori editore S.p.A.: 352 str.

Košmerl T. 2004. Zapiski s predavanj pri predmetu Tehnologija vina.

Košmerl T. 2005. Zapiski s predavanj pri predmetu Enologija.

Košmerl T., Kač M. 2003. Osnovne kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 17-35, 44-45, 71-87.

Kastelec B. 2001. Spremljanje populacije kvasovk med fermentacijo mošta Kraljevine. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije: 6-10.

Lisjak K. 1997. Kakovost vin sorte Malvazija v odvisnosti od fermentacijskih pogojev. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 4-5, 9-19, 57-58.

Mavc N. 2000. Raznolikost kvasovk med fermentacijo mošta Modre frankinje. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije: 2, 3.

Milek M. 2001. Vpliv kemijske sestave grozdnega soka kultivarja Beli pinot in Sauvignon na kakovost vina. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 3-14, 18-20, 33-34, 43-44.

Mortimer R., Polsinelli M. 1999. On the origins of wine yeast. Research in Microbiology, 150: 199-204.

Pečjak M. 1997. Dinamika rasti kvasovk med spontano in vzpodbujeno fermentacijo mošta sorte Refošk. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 5-8.

Peršolja M. 2003. Primerjava treh gojitvenih oblik pri sorti Rebula (*Vitis vinifera* L. cv. »Rebula«) v Goriških brdih. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 24-26.

Polanc J. 2001. Določitev mikroflore površine grozja vinskih sort Kraljevina in Žametna črnina. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije: 6-9.

Povhe-Jemec K. 1997. Spremljanje kinetike rasti populacije kvasovk v moštu Terana s pulzno elektroforezo. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 7-8, 10-16.

- Povhe-Jemec K. 2003. Mikrobna združba v moštu malvazije in njen vpliv na potek alkoholne fermentacije. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Interdisciplinarni podiplomski študij biotehnologije: 5-25.
- Pretorius I. S. 2002. Vinske kvasovke za tretje tisočletje: sodobni pristopi k starodavni umetnosti vinarstva. V: Pomen mikrobiologije in biotehnologije v proizvodnji vina. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 2-4.
- Prinčič A. 2002. Zbiranje in vrednotenje tipov sorte Rebula (*Vitis vinifera* L. cv. »Rebula«) v vinorodni deželi Primorska. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 3-11.
- Prinčič M. 1999. Raznolikost populacije kvasovk moštov Refošk in Teran ob začetku fermentacije. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije: 2-4.
- Raap A., Versini G. 1996. Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. *Viticulture and Enological Sciences*, 51, 3: 193-203.
- Raspor P. 1996. Kvasovke. V: Biotehnologija. Raspor P. (ur.) Ljubljana, BIA, d.o.o.: 69-89.
- Raspor P., Smole-Možina S. 1993. Praktikum iz biotehnologije. Ljubljana, BIA, d.o.o.: 40-47.
- Ribéreau-Gayon J. 1971. Trattato di enologia. Vol.1. Bologna, Edagricole: 47-72, 87-122, 332-339, 349-366, 395-398, 426-433.
- Sala C., Fort F., Busto O., Zamora F., Anola L., Gausch J. 1996. Fate of some common pesticides during vinification process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 3668-3671.
- Salati V. 1999. Atomi, molecole e vino. Asti, Gimar Tecno: 296 str.
- Šikovec S. 1964. Vpliv nekaterih fenolov na vrelni fiziologijo kvasnic pri proizvodnji penečih vin. Disertacijsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 60-62.
- Šikovec S. 1993. Vinarstvo-od grozdja do vina. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 22-54, 68-91, 100, 119-120, 125-126, 193, 197.
- Taks M. 2000. Spremljanje dozorevanja grozdja kultivarja Laški rizling v vinorodni deželi podravje. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 3-11.
- Tamas M. J., Rep M., Thevelein J. M., Hohmann S. 2000. Stimulation of yeast high osmolarity glycerol (HOG) pathway: evidence for a signal generated by a change in turgor rather than by water stress. *FEBS Letters*, 472: 159-165.
- Tupajić P., Herjavec S., Alpeza I., Marič J. 1996. Višji alkoholi in njihov delež v nekaterih vinih kontroliranega porekla kontinentalne Hrvatske. V: 1. Slovenski vinogradniško-vinarski kongres, Portorož 4.-6. december. Zbornik referatov. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas: 215-218.

Vatta M. 2001. Tehnološka in senzorična kakovost vin Chardonnay in Renski rizling posebnih kakovosti. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23, 26-29.

Wondra M. 2004. Zapiski s predavanj pri predmetu Tehnologija vina.

Wondra M. 2005. Zapiski s predavanj pri predmetu Enologija.

Zadnik Š. 1997. Kemijske spremembe kultivarja Refošk v fazi dozorevanja grozdja. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 6-16, 18-20.