

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Matej SKOLIBER

**VPLIV SEVOV KVASOVK VRSTE *Saccharomyces cerevisiae* NA
SESTAVO IN SENZORIČNO KAKOVOST VIN RENSKI IN LAŠKI
RIZLING**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE INFLUENCE OF *Saccharomyces cerevisiae* YEAST STRAINS ON
COMPOSITION AND SENSORY QUALITY OF WINES RHINE AND
WELSH RIESLING**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v laboratoriju Katedre za tehnologije, prehrano in vino, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana prof. dr. Tatjana Košmerl, za somentorico prof. dr. Helena Prosen, za recenzentko pa doc. dr. Polona Jamnik.

Mentorica: prof. dr. Tatjana Košmerl

Somentorica: prof. dr. Helena Prosen

Recenzent: doc. dr. Polona Jamnik

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Diplomska naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Podpisani se strinjam z objavo svoje naloge v popolnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddal v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Matej Skoliber

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	663.221:663.252/.253:582.282.3:543.61:543.92(043)=163.6
KG	belo vino/ renski rizling/ laški rizling/ starterske kulture/ vinske kvasovke/ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> / alkoholna fermentacija/ jabolčno-mlečnokislinska fermentacija/ kakovost vina/ fizikalno-kemijske lastnosti/ senzorične lastnosti
AV	SKOLIBER, Matej
SA	KOŠMERL, Tatjana (mentorica)/PROSEN, Helena (somentorica)/ JAMNIK, Polona (recenzentka)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2011
IN	VPLIV SEVOV KVASOVK VRSTE <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NA SESTAVO IN SENZORIČNO KAKOVOST VIN RENSKI IN LAŠKI RIZLING
TD	Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP	XII, 87 str., 4 pregl., 40 sl., 19 pril., 33 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Namen diplomskega dela je bil raziskati, kako različne starterske kulture vinskih kvasovk vplivajo na končno kakovost pridelanega vina sort renski in laški rizling, letnika 2010, iz vinorodne dežele Podravje, Ljutomersko-Ormoškega vinorodnega okoliša. S fermentacijskim poskusom smo preverili vpliv štirih različnih sevov kvasovk in ene vrste bakterij na potek in dokončanje alkoholne fermentacije, fizikalno-kemijske parametre in na končno izoblikovanje senzoričnih lastnosti mladega vina. Alkoholno fermentacijo smo vodili pri 18 °C. Med samo fermentacijo smo spremljali pH, skupne (titrabilne) kisline, organske kisline, glicerol, vsebnost reducirajočih sladkorjev ter kisle soli. Po končani alkoholni fermentaciji pa smo v mladem vinu izmerili pH, kisline (skupne, titrabilne, in hlapne kisline), relativno gostoto, skupni ekstrakt, sladkorja prosti ekstrakt, alkohol, reducirajoče sladkorje, prosti, skupni in vezani žveplov dioksid. Spektrofotometrično smo določili barvo, turbidimetrično pa motnost vina. Z metodo HPLC smo določili koncentracije glukoze in fruktoze, glicerola ter organskih kislin. Aromatične spojine smo kvalitativno določili s pomočjo SPME in GC-MS metode. Po opravljenih laboratorijskih analizah smo vzorce vin še senzorično ocenili. Dodane starterske kulture kvasovk v mošt so se po vseh opravljenih analizah najbolj razlikovale v tvorbi hlapnih aromatičnih snovi, s tem pa tudi v senzoričnih lastnostih posameznih vzorcev mladega vina. Značilne so bile tudi razlike v fizikalno-kemijskih parametrih. Jabolčno-mlečnokislinska fermentacija pri sorti renski rizling (RR 3) ni potekla v celoti. Pri sorti laški rizling (LR 3) je bilo sicer med fermentacijo in po njej v okusu zaznati mlečne in rahlo maslene note, vendar jabolčno-mlečnokislinska fermentacija kljub temu ni potekla do konca.

KEY WORDS DOCUMENTATION

Nd Dn
 DC 663.221:663.252/.253:582.282.3:543.61:543.92(043)=163.6
 CX white wines/ Rhine Riesling/ Welsh Riesling/ starter cultures/ wine yeasts/
Saccharomyces cerevisiae/ alcoholic fermentation/ malolactic fermentation/ wine
 quality/ physicochemical properties/ sensory properties
 AU SKOLIBER, Matej
 AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/ PROSEN, Helena (co-advisor)/ JAMNIK,
 Polona (reviewer)
 PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and
 Technology
 PY 2011
 TI THE INFLUENCE OF *Saccharomyces cerevisiae* YEAST STRAINS ON
 COMPOSITION AND SENSORY QUALITY OF WINES RHINE AND WELSH
 RIESLING
 DT Graduation Thesis (University studies)
 NO XII, 87 p., 4 tab., 40 fig., 19 ann., 33 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB The aim of graduation thesis was to investigate how different wine yeast starter
 cultures affect the final quality of wine varieties Rhine and Welsh Riesling of
 vintage 2010, from winegrowing region Podravje, Ljutomer-Ormož winegrowing
 district. The fermentation experiment was set to examine the impact of four
 different yeast strains and one strain of lactic bacteria on the course and completion
 of alcoholic fermentation, physico-chemical parameters and the final
 accomplishment of the young wine sensory properties. Alcoholic fermentation was
 conducted at 18 °C. During the fermentation pH, total (titratable) acids, organic
 acids, glycerol, reducing sugar content and acid salts were monitored. After the
 alcoholic fermentation of new wine, the pH, acids (total, titratable and volatile
 acidity), relative density, the total dry and sugar free extract, alcohol, reducing
 sugars, free, total and bound sulfur dioxide were measured. Wine color was
 determined by spectrophotometer and wine turbidity by turbidimeter. The HPLC
 method was used for the determination of glucose, fructose, glycerol and individual
 organic acids concentrations. Aromatic compounds were identified by SPME and
 GC-MS method. After completion of laboratory analysis wine samples were
 sensory evaluated. According to the analyses results, the added yeast starter
 cultures have shown the highest differences in the formation of volatile aromatic
 substances and hence the sensory properties of the individual samples of young
 wines. Significant differences were seen in the physico-chemical parameters.
 Malolactic fermentation of Rhine Riesling varieties (RR 3) was not brought to
 completion. For the variety Welsh Riesling (LR 3), significant sensory detection of
 milk taste and butterfat slight note was present during the fermentation, however
 the malolactic fermentation, was not completed.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	IX
KAZALO PRILOG	XI
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XII
1 UVOD.....	1
1.1 CILJI NALOGE:.....	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE:	2
2 PREGLED OBJAV.....	3
2.1 AMPELOGRAFSKI OPIS VINSKIH SORT.....	3
2.1.1 Laški rizling.....	3
2.1.1.1 Sinonimi (Nemanič, 1999):.....	3
2.1.1.2 Poreklo in razširjenost.....	3
2.1.1.3 Agrobiološke značilnosti.....	3
2.1.2 Renski rizling.....	4
2.1.2.1 Sinonimi (Nemanič, 1999):.....	4
2.1.2.2 Poreklo in razširjenost.....	4
2.1.2.3 Agrobiološke značilnosti.....	4
2.2 GROZDJE.....	4
2.2.1 Grozdni pecelj	5
2.2.2 Grozdna jagoda.....	5
2.2.2.1 Kožica	5
2.2.2.2 Pečke	6
2.2.2.3 Jagodno meso	6
2.2.2.4 Kisline	7
2.3 SESTAVINE MOŠTA IN VINA	8
2.3.1 Voda	8
2.3.2 Kisline	8
2.3.2.1 Vinska kislina.....	9
2.3.2.2 Jabolčna kislina	9
2.3.2.3 Citronska kislina.....	10
2.3.2.4 Ocetna kislina.....	10
2.3.3 Etanol	11
2.3.4 Sladkorji (ogljikovi hidrati)	11
2.3.4.1 Monosaharidi.....	11
2.3.4.2 Disaharidi	12
2.3.5 Dušikove spojine	12
2.3.6 Minerali.....	12
2.4 ALKOHOLNA FERMENTACIJA	13
2.4.1 Ostali produkti alkoholne fermentacije.....	14
2.5 VLOGA VINSKIH KVASOVK MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO.....	15
2.5.1 Splošne značilnosti kvasovk	15
2.5.1.1 Vegetativno razmnoževanje	15
2.5.1.2 Spolno razmnoževanje	15

2.5.2 Vinske kvasovke vrste <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16
2.5.3 Dodatek starterske kulture vinskih kvasovk	16
2.6 STARTERSKE KULTURE VINSKIH KVASOVK.....	17
2.6.1 Osnovne lastnosti starterskih kultur vinskih kvasovk	17
2.6.2 Zahteve za industrijsko produkcijo starterskih kultur	18
2.6.2.1 Osnovne zahteve	18
2.6.2.2 Dodatne zahteve	18
2.6.2.3 Sestava rodov ali vrst kvasovk v starterski kulturi.....	18
2.6.2.4 Priprava vitalne starterske kulture.....	18
2.6.2.5 Faza rehidracije	18
2.7 AROMATIČNE SNOVI V VINU.....	19
2.7.1 Primarna aroma vina	20
2.7.2 Fermentacijska aroma	20
2.7.2.1 Aldehidi.....	21
2.7.2.2 Višji alkoholi.....	22
2.7.2.3 Hlapne kisline.....	22
2.7.2.4 Estri	23
2.7.2.5 Žveplove spojine	23
2.7.2.6 Terpenske spojine.....	24
2.7.2.7 Fenolne spojine	24
2.7.2.8 Dušikove spojine	24
2.8 URAVNAVANJE KISLOSTI VINA	25
2.8.1 Biološki razkis	25
2.8.1.1 Mlečnokislinske bakterije	25
2.8.1.2 Spremembe vonja in okusa	26
2.8.2 Kemijski razkis	27
2.8.2.1 Kalcijev karbonat	27
2.8.2.2 Kalijev hidrogenkarbonat.....	27
2.9 BARVA VINA	28
3 MATERIAL IN METODE DELA	29
3.1 MATERIAL.....	29
3.1.1 Mošt	29
3.1.2 Starterske kulture	29
3.1.2.1 Kvasovke.....	29
3.1.2.2 Kvasovke in bakterije.....	30
3.1.2.3 Hranila za kvasovke	31
3.1.3 Bistrila in čistila vina	31
3.1.3.1 Bentonit.....	31
3.1.3.2 Kazein	31
3.1.3.3 Polivinilpolipirrolidon	32
3.1.4 Kemikalije in reagenti	32
3.1.5 Pribor in oprema	33
3.2 METODE DELA	35
3.2.1 Nastavitev fermentacijskega poskusa	35
3.2.2 Fizikalno kemijske analize mošta in vina	35
3.2.2.1 Določanje pH mošta in vina	35
3.2.2.2 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v moštu in vinu	35

3.2.2.3	Določanje kislodelujočih soli	36
3.2.2.4	Določanje sladkorne stopnje mošta	36
3.2.2.5	Določanje reducirajočih sladkorjev	36
3.2.2.6	Določanje hlapnih kislin	37
3.2.2.7	Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu	37
3.2.2.8	Določanje barve vina	37
3.2.2.9	Določanje žveplovega dioksida v vinu po Ripperju (1971)	38
3.2.2.10	Motnost vina	38
3.2.2.11	Določanje koncentracije organskih kislin	38
3.3.2.12	Določanje hlapnih spojin in višjih alkoholov	39
3.2.3	Senzorične analize vina	40
3.2.3.1	Organoleptično ocenjevanje vina	40
4	REZULTATI Z RAZPRAVO	42
4.1	REZULTATI ANALIZ MOŠTA	42
4.2	REZULTATI ANALIZ MOŠTA MED FERMENTACIJO	43
4.2.1	pH	43
4.2.1.1	Renski rizling	43
4.2.1.2	Laški rizling	44
4.2.2	Skupne kisline	44
4.2.2.1	Renski rizling	45
4.2.2.2	Laški rizling	46
4.2.3	Kisle soli	46
4.2.3.1	Renski rizling	47
4.2.3.2	Laški rizling	47
4.2.4	Glicerol	48
4.2.4.1	Renski rizling	48
4.2.4.2	Laški rizling	49
4.2.5	Sladkorna stopnja	49
4.2.5.1	Renski rizling	50
4.2.5.2	Laški rizling	51
4.2.6	Glukoza in fruktoza	51
4.2.6.1	Renski rizling	52
4.2.6.2	Laški rizling	52
4.2.7	Temperatura	53
4.2.7.1	Renski rizling	53
4.2.7.2	Laški rizling	54
4.3	REZULTATI ANALIZ MLADEGA VINA	55
4.3.1	pH	55
4.3.2	Skupne kisline	55
4.3.3	Hlapne kisline	56
4.3.4	Relativna gostota	57
4.3.5	Skupni ekstrakt	58
4.3.6	Sladkorja prosti ekstrakt	59
4.3.7	Koncentracija alkohola	59
4.3.8	Sladkorji	60
4.3.9	Žveplov dioksid	61
4.3.10	Glicerol	62

4.3.11 Organske kisline.....	63
4.3.11.1 Renski rizling	63
4.3.11.2 Laški rizling	64
4.3.12 Hlapne aromatične snovi.....	64
4.3.12.1 Koncentracija višjih alkoholov	64
4.3.12.2 Estri	65
4.3.12.3 Druge aromatične snovi	68
4.4 BARVA IN MOTNOST MLADEGA VINA.....	69
4.4.1 Barva vina.....	69
4.4.2 Motnost vina.....	70
4.5 REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE.....	71
4.5.1 Buxbaumova metoda ocenjevanja.....	71
4.5.1.1 Renski rizling	72
4.5.1.2 Laški rizling	75
4.5.2 Hedonska metoda ocenjevanja	77
5 SKLEPI.....	78
5.1 RENSKI RIZLING	78
5.2 LAŠKI RIZLING.....	79
6 POVZETEK	81
7 VIRI.....	83
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz poteka poskusa.....	35
Slika 2: Vrednost pH sorte renski rizling v začetku in med fermentacijo.....	43
Slika 3: Vrednost pH sorte laški rizling v začetku in med fermentacijo.....	44
Slika 4: Spreminjanje vsebnosti skupnih – SK in titrabilnih kislin – TK (g/L) sorte renski rizling med fermentacijo.....	45
Slika 5: Spreminjanje vsebnosti skupnih – SK in titrabilnih – TK kislin (g/L) sorte laški rizling med fermentacijo.....	46
Slika 6: Spreminjanje vsebnosti kislih soli (mg/L) sorte renski rizling med fermentacijo.....	47
Slika 7: Spreminjanje vsebnosti kislih soli (mg/L) sorte laški rizling med fermentacijo....	47
Slika 8: Vsebnost glicerola (g/L) sorte renski rizling med fermentacijo.....	48
Slika 9: Vsebnost glicerola (g/L) sorte laški rizling med fermentacijo.....	49
Slika 10: Spreminjanje sladkorne stopnje (°Oe) sorte renski rizling v odvisnosti od trajanja fermentacije.....	50
Slika 11: Spreminjanje sladkorne stopnje (°Oe) sorte laški rizling v odvisnosti od trajanja fermentacije.....	51
Slika 12: Koncentracija fruktoze in glukoze med alkoholno fermentacijo ter po njej pri sorti renski rizling.....	52
Slika 13: Koncentracija fruktoze in glukoze med alkoholno fermentacijo ter po njej pri sorti laški rizling.....	52
Slika 14: Nihanje temperature fermentacije sorte renski rizling v odvisnosti od trajanja fermentacije.....	53
Slika 15: Nihanje temperature fermentacije sorte laški rizling v odvisnosti od trajanja fermentacije.....	54
Slika 16: Vrednost pH mladega vina sort renski in laški rizling.....	55
Slika 17: Koncentracija (g/L) skupnih kislin mladega vina sort renski in laški rizling.....	56
Slika 18: Koncentracija hlapnih kislin (g/L očetne kisline) mladega vina sort renski in laški rizling.....	57
Slika 19: Relativna gostota mladega vina sort renski in laški rizling.....	58
Slika 20: Skupni ekstrakt (g/L) mladega vina sort renski in laški rizling.....	58
Slika 21: Sladkorja prosti ekstrakt (g/L) mladega vina sort renski in laški rizling.....	59
Slika 22: Koncentracija alkohola (vol.%) mladega vina sort renski in laški rizling.....	60
Slika 23: Koncentracija reducirajočih sladkorjev (g/L) mladega vina sort renski in laški rizling.....	61
Slika 24: Vsebnosti prostega, skupnega in vezanega SO ₂ (mg/L) pri sortah renski in laški rizling.....	62
Slika 25: Koncentracija glicerola (g/L) mladega vina sort renski in laški rizling.....	62
Slika 27: Primerjava organskih kislin (g/L) pred koncem fermentacije in po koncu fermentacije sorte laški rizling.....	64
Slika 28: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) višjih alkoholov mladega vina sort renski in laški rizling.....	65
Slika 29: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) estrov očetne kisline in etanola mladega vina sort renski in laški rizling.....	66
Slika 30: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) estrov acikličnih karboksilnih kislin in maščobnih kislin ter etanola mladega vina sort renski in laški rizling.....	66

Slika 31: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) estrov očetne kisline in izoamil alkohola (izoamil acetat) ter maščobnih kislin in etanola mladega vina sort renski in laški rizling.	67
Slika 32: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) aromatičnih spojin: linalool (monoterpen), benzaldehid (aldehid) in beta- damascenon (norizoprenoid) sort renski in laški rizling.	68
Slika 33: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) maščobnih kislin (heksanojska kislina in oktanojska kislina) sort renski in laški rizling.	69
Slika 34: Absorbanca pri 420 nm v mladih vinih sorte renski in laški rizling.	70
Slika 35: Motnost (NTU) vina pred filtracijo pri sortah renski in laški rizling.	71
Slika 36: Senzorična ocena vin sorte renski rizling po Buxbaumovi metodi (lastnosti posameznih parametrov - povprečje).	72
Slika 37: Senzorična ocena vin sorte renski rizling po Buxbaumovi metodi (skupna ocena - povprečje).	74
Slika 38: Senzorična ocena vin sorte laški rizling po Buxbaumovi metodi (lastnosti posameznih parametrov - povprečje).	75
Slika 39: Senzorična ocena vin sorte laški rizling po Buxbaumovi metodi (skupna ocena - povprečje).	76
Slika 40: Senzorična ocena vin sort renski in laški rizling po hedonski ocenjevalni metodi.	77

KAZALO PRILOG

- Priloga A: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mošta sorte renski in laški rizling med fermentacijo
- Priloga B: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte renski rizling
- Priloga C: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte laški rizling
- Priloga D: Rezultati senzorične ocene vin sorte renski rizling po Buxbaumovi metodi ocenjevanja
- Priloga E: Rezultati senzorične ocene vin sorte renski rizling po Buxbaumovi metodi ocenjevanja (končna ocena)
- Priloga F: Rezultati senzorične ocene vin sorte laški rizling po Buxbaumovi metodi ocenjevanja
- Priloga G: Rezultati senzorične ocene vin sorte laški rizling po Buxbaumovi metodi ocenjevanja (končna ocena)
- Priloga H: Rezultati senzorične ocene vin sorte renski in laški rizling po hedonski ocenjevalni metodi
- Priloga I: Rezultati analiz organskih kislin mošta in mladega vina sorte renski in laški rizling
- Priloga J: Rezultati analiz reducirajočih sladkorjev mošta in mladega vina sorte renski in laški rizling
- Priloga K: Rezultati analiz glicerola mošta in mladega vina sorte renski in laški rizling
- Priloga L: Primerjalni rezultati aromatičnih snovi v mladem vinu sorte renski in laški rizling, ki so bile kvalitativno določene v vzorcih vina (ploščina kromatografskega vrha/10⁶)
- Priloga M: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu RR 1
- Priloga N: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu RR 2
- Priloga O: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu RR 3
- Priloga P: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu LR 1
- Priloga R: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu LR 2
- Priloga S: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu LR 3
- Priloga T: Absorpcijski spekter vzorcev mladega vina sorte renski in laški rizling v območju valovne dolžine 400 nm in 440 nm

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

A ₄₂₀	absorbanca pri 420 nm
CFU	za rast sposobne celice kvasovk in bakterij, kolonijska enota (ang. <i>colony forming unit</i>)
CIVC	Comité Interprofessionnel du Vin de Champagne
GC-MS	plinska kromatografija z masno spektrometrično detekcijo (ang. <i>gas chromatography–mass spectrometry</i>)
LR	laški rizling
MKB	mlečnokislinske bakterije
NTU	nefelometrična turbidimetrična enota (ang. <i>nephelometric turbidity unit</i>)
PVPP	polivinilpolipirrolidon
RR	renski rizling
SE	skupni ekstrakt
SPE	sladkorja prosti ekstrakt
SPME	mikroekstrakcija na trdnem nosilcu (ang. <i>solid phase microextraction</i>)
T	temperatura
TCA	ciklus trikarboksilnih kislin (ang. <i>tricarboxylic acid cycle</i>)

1 UVOD

Fermentacija grozdnega soka v vino je kompleksen mikrobiološki proces, ki obsega postopen razvoj in interakcije med različnimi mikroorganizmi, kot so kvasovke, bakterije in nitaste glive. Med omenjenimi mikroorganizmi imajo kvasovke zdaleč največji pomen, saj imajo sposobnost pretvorbe sladkorjev grozdja v etanol, ogljikov dioksid, ter v ostale pomembne metabolite v manjših koncentracijah. V tradicionalni tehnologiji je fermentacija prepuščena kvasovkam, ki se nahajajo pretežno na grozdnih jagodah ter na kletarski opremi. Kvasovke rodov *Hanseniaspora* in *Klockera* prevladujejo na površini grozdnih jagod in predstavljajo 50 do 70 % skupne populacije kvasovk. Skupaj z rodom *Candida* prevladujejo v zgornjih obdobjih spontane alkoholne fermentacije. Pozneje, v srednjem obdobju alkoholne fermentacije, ko se vsebnost etanola poveča na 3-4 % se jim pridružijo posamezne vrste rodov *Cryptococcus*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia* in *Pichia*. Zadnja faza spontane alkoholne fermentacije je zaznamovana z močno prevlado kvasovk vrste *S. cerevisiae*, ki je zelo odporna na povečano koncentracijo etanola. Tako imenovana vinska kvasovka – *S. cerevisiae* nedvomno največ doprinese k alkoholni fermentaciji.

V modernih vinskih kletah z velikimi kapacitetami večinoma uporabljajo selekcionirane seve kvasovk vrste *S. cerevisiae*, ki so jamstvo za hitro, učinkovito in predvidljivo alkoholno fermentacijo ter dajejo skladnost okusa in vonja vina po zaključeni fermentaciji. Čista kultura kvasovk (inokulum) skrajša fazo prilagajanja kvasovk na mošt in omogoči popolno pretvorbo sladkorjev v etanol v veliko krajšem času, kot v spontanih alkoholnih fermentacijah. Opaziti je manj razlik med vini v zaporednih letnikih in večjo skladnost v senzoričnih lastnostih določenega vina v okviru geografskega področja. Vendar je potrebno poudariti, da uporaba vcepka kvasovk vrste *S. cerevisiae* ni vedno porok za preprečitev rasti in metabolne aktivnosti endogeno prisotnih ne-*Saccharomyces* kvasovk in sevov *S. cerevisiae*, ki so vezani na vinsko klet, v kateri poteka alkoholna fermentacija. Po splošnem prepričanju velja, da naravno prisotna mikrobna združba vinograda in vinske kleti vpliva tako na spontano, kot tudi na spodbujeno alkoholno fermentacijo (Pretorius, 2002).

Pomemben del vinske arome se oblikuje med alkoholno fermentacijo. Poleg etanola, glicerola, diolov in višjih alkoholov, se pod vplivom kvasovk tvorijo še druge spojine, predvsem kisline, estri, aldehidi, ketoni in žveplove spojine (Košmerl, 2007a).

Predvsem zaradi pomembnosti izbire kvasovk glede na želen končni produkt z ozirom na sam potek fermentacije in aromatiko smo opravili raziskavo na alkoholni fermentaciji belih vinskih sort laški in renski rizling, ki veljata za eni od najbolj zastopanih vin vinorodne dežele Podravje.

Poznavanje vpliva posameznega seva kvasovk na potek fermentacije in na izoblikovanje specifičnih lastnosti vina je ključnega pomena pri pridelavi kakovostnega vina (Košmerl, 2007a).

1.1 CILJI NALOGE:

S primerjalno analizo šestih vzorcev belih vin, dveh različnih sort, želimo ugotoviti značilne razlike v kakovostnih parametrih in vpliv različnih kvasovk na fermentacijo, fizikalno-kemijske parametre, tvorbo aromatičnih spojin ter senzorično kakovost vin.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE:

- pričakujemo razlike v vsebnosti aromatičnih snovi med vzorci; razliko pričakujemo tudi med sortami,
- pričakovane so razlike v fizikalno-kemijskih parametrih, stabilnosti in senzorični kakovosti vin.

2 PREGLED OBJAV

2.1 AMPELOGRAFSKI OPIS VINSKIH SORT

2.1.1 Laški rizling

2.1.1.1 Sinonimi (Nemanič, 1999):

- Welschriesling (Nemčija)
- Olasz Rizling (Madžarska)
- Graševina (Hrvaška)
- Riesling Italico (Italija)

2.1.1.2 Poreklo in razširjenost

Po Goetheju je laški rizling francoska sorta, po vsej verjetnosti izvira iz Šampanje. Od tam so ga zanesli v Heidelberg, kjer so ga zaradi podobnosti z renskim rizlingom imenovali Welschriesling. Širil se je od Rena proti Avstriji in Madžarski (Nemanič, 1996).

Sorta nima z renskim rizlingom nič skupnega. Pri nas je ta sorta najbolj razširjena v vinorodnih okoliših dežele Štajerska Slovenija. Najdemo jo tudi v vinorodni deželi Posavje in Primorska. Velja mnenje, da je to najpomembnejša sorta balkanskih dežel, Avstrije in severne Italije (Šikovec, 1996).

2.1.1.3 Agrobiološke značilnosti

Zrel grozd je majhen, valjaste oblike, zelo zbit in ima navadno stranski grozd. Jagode so majhne, okroglo podolgovate in zlato rumene barve na sončni strani, na senčni pa povsem zelene.

Je pozno dozorevajoča sorta, ki obilno rodi, ne prenese vlažnih tal niti suše. Mošt ima odvisno od rodnosti oziroma obremenitve trte in letnika od 16 do 22 % reducirajočih sladkorjev in 6 do 12 g/L skupnih kislin.

Zaradi velike rodnosti in poznega dozorevanja v slabih letnikih v severnih predelovalnih območjih daje sorta mošte s prenizkimi sladkorji in previsokimi kislinami.

Vina so prijetno pitna, s poudarjeno cvetico in aromo. Na najboljših legah pri rezi na manjšo rodnost daje ta sorta prav v severnih pridelovalnih območjih prečudovita, srednje težka vina, polna po okusu, z izredno lepo vkomponirano kislino in svojevrstno elegantno cvetico (Šikovec, 1996).

Pri mladih kakovostnih vinih so barve od rumenkasto-zelenkaste do zlato rumene in zlate pri vinih posebne kakovosti, pridelanih iz prezrelega grozdja (Nemanič, 1999).

2.1.2 Renski rizling

2.1.2.1 Sinonimi (Nemanič, 1999):

- Riesling (Nemčija)
- Rheinriesling (Avstrija)
- Riesling Renano (Italija)

2.1.2.2 Poreklo in razširjenost

Po poreklu je iz renske divje trte. Ime naj bi izhajalo iz »rieseln« - osipati, saj je bila ena izmed lastnosti sorte, da se je rada osipala med cvetenjem. Poreklo je še vedno sporno, ker mnogi vinogradniki v Wachauu menijo, da je zibelka te plemenite sorte njihovo območje. Menijo, da daje rizling najboljšo kakovost v t.i. nemško govorečih deželah – ob Renu, v Alzaciji in Wachauu. Rizling je sorta, ki se je močno uveljavila tudi v državah nekdanje SZ. To je sorta, ki je razširjena tudi v severni Italiji, Avstriji, Novi Zelandiji, Kaliforniji in v državah zahodne Evrope razen v Franciji (izjema je Alzacija) (Šikovec, 1996).

2.1.2.3 Agrobiološke značilnosti

Grozdi so majhen do srednje velik, zbit, valjaste oblike in včasih tudi vejnat. Jagoda je majhna do srednje velika, okrogla. Jagodna kožica je zeleno rumena, prozorna in pretkana z drobnimi žilicami. Sok je brezbarven, sladek in aromatičen (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

Velika prednost renskega rizlinga kot pozno dozorevajoče sorte je v tem, da proti koncu dolge faze dozorevanja akumulira veliko sladkorjev in pri tem ne izgubi veliko kislin. Normalno dozorelo grozdje renskega rizlinga daje vina svetle do slamnato rumene barve z zelenim odtenkom. Mlado vino renskega rizlinga ima svežo – sadno aromo, ki spominja na cvet akacije, breskve, češnje in pri višjih kakovostnih stopnjah na cimet, med ali marelico (Šikovec, 1996). Razvrstitev po alkoholni stopnji lahko pomeni zelo okusno nizkoalkoholno vino s 6,5 vol.% v Nemčiji do močnih vin z okrog 13 vol.% v Alzaciji, Avstraliji itn (Nemanič, 1999).

2.2 GROZDJE

Posamezni sestavni deli grozda vplivajo bolj ali manj–odvisno od kakovosti trgatve, prevoza in prevzema grozdja–ne le na tehnološki postopek, ampak tudi na kakovost vina. Zato je pomembno, da se seznanimo s kemijsko sestavo posameznih delov grozda in ugotovimo tudi, kakšen vpliv imajo na končno kakovost vina (Šikovec, 1993).

2.2.1 Grozdni pecelj

Količina pecljev je različna in odvisna od 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 razmerje peclja v grozdju tako, da v polni zrelosti grozda pride na peclje le 2 do 7 %. Sorte ki se rade osipajo med cvetenjem imajo precej več pecljevine. Razmerje ni odvisno le od načina gnojenja, ampak tudi od zdravstvenega stanja grozdja.

Kemijska sestava pecljevine lahko precej prizadene kakovost vina in pri slabi predelavi grozdja vpliva bolj negativno kot sama količinska sestava. Po kemijski sestavi je pecljevina podobna listju vinske trte.

Pecelj vsebuje največ mineralnih snovi, in sicer 5 do 6 % suhe snovi, od tega je dobra polovica kalija, kar povečuje neobstoynost vina na vinski kamen.

Kislost pecljevine je relativno nizka, saj je vrednost pH večinoma večja od 4. Ta podatek nam pove, da povzroča prisotnost pecljevine, zlasti če ni povsem dozorela in se poškoduje med predelavo, znižanje kislosti.

Pri predelavi grozdja je zato potrebno paziti in skrbno izbirati opremo, ki pecljev mehanično ne poškoduje (lomi, drobi ali stiska), ter peclje na začetku predelave ločiti od jagod (Šikovec, 1993).

2.2.2 Grozdna jagoda

Masa jagod v grozdu se med vegetacijo povečuje in doseže največjo vrednost v fazi polne zrelosti ter znaša 92 do 98 % od skupne mase grozda. Vse do pojava soka v mesu je v jagodi v fenofazi rasti klorofil. Jagode so zelene, v njih poteka enako kot v trtnem listu vse do mehčanja jagod tudi neznatna fotosinteza. To je faza intenzivne rasti grozdne jagode. S pojavom soka se klorofil izgubi, v jagodi preneha fotosinteza in s tem tudi rast. Površino jagode obdaja voščena prevleka zrnate strukture, ki jo imenujemo oprh. Ta ima izredno zapleteno kemijsko sestavo in ga zaradi tega imenujemo tudi pepel. Jagodo sestavljajo kožica, meso in pečke (Šikovec, 1993).

2.2.2.1 Kožica

Kožica jagodo varuje pred zunanji vplivi. Njena masa je odvisna od sorte in se giblje od 2,1 do 24,1 % celotne mase.

Barvne snovi imajo kot osnovo benzopirilijev obroč, na katerem je bočno vezan fenilni obroč.

Pri žlahtnih evropskih sortah so antocianini samo v kožici razporejeni v treh do štirih plasteh celic pod povrhnjico kožice v t.i. plastidih. Jagodna kožica se začne barvati ob začetku zorenja in doseže največjo intenzivnost barve ob polni zrelosti.

Rumene barvne snovi pa so v nasprotju z antocianini tudi v jagodnem mesu, zato pri predelavi belih vinskih sort ni potreben noben poseben postopek (Šikovec, 1993).

Kar se tiče ne-antocianinov kožice in pečk imajo bele sorte zelo podobno kvalitativno in kvantitativno sestavo kot rdeče grozdje (Rodríguez Montealegre in sod., 2006).

Aromatične snovi, ki se nahajajo v jagodni kožici, so t.i. primarne aromatične snovi, ki dajejo grozdju nekaterih sort zelo izrazit in značilen vonj, drugim sortam pa samo diskreten, skoraj nezaznaven vonj. Pri mnogih sortah primarne aromatične snovi nimajo

izraženega vonja, ampak se za posamezno sorto značilen vonj razvije šele pod vplivom biokemijskih procesov pri pretvorbi mošta v vino (Radovanović, 1986).

Količina aromatičnih snovi pa ni samo sortna lastnost, ampak je odvisna od stopnje zrelosti in zdravstvenega stanja grozdja. Z dozorevanjem se povečuje njihova vsebnost in doseže vrhunec ob polni zrelosti.

Primarne aromatične snovi so najbolj koncentrirane v zunanjih celičnih plasteh jagodne kožice in manj v celicah jagodnega mesa, zato je njihov prehod v mošt hiter, vendar so te spojine zelo neobstoje in se hitro oksidirajo.

Jagodna kožica je zelo bogata tudi z encimi, vsebuje jih 6,2-krat več kot sok grozdne jagode. Poleg invertaze ter pektolitičnih encimov, vsebuje kožica še mnogo škodljivih oksidacijskih encimov.

Pri predelavi grozdja moramo zavarovati jagodno kožico pred močnejšimi mehaničnimi poškodbami. Tako poskrbimo za prevzem celega, nepoškodovanega grozdja, uporabo ustreznih pecljalnikov, drozgalnikov, črpalk, ki ne raztrgajo in ne zdrobijo kožic (Šikovec, 1993).

2.2.2.2 Pečke

V jagodi so običajno ena do štiri pečke, obstajajo pa tudi sorte, ki so brez pečk, zlasti so to namizne sorte. Jagode vsebujejo od 2 do 5 % pečk, ki pomenijo za kakovost mošta in vina balast. Pri stiskanju zadržujejo sok, če pa jih pri drozganju poškodujemo, preide iz njih v mošt veliko taninskih snovi, ki dajejo vinu grenek, neprijeten okus in povzročajo zaznavo trpkosti. Največ taninskih snovi vsebuje osrednji oleseneli ovoj pečk z zelo debelimi celičnimi stenami, ki dajejo pečkam trdnost in barvo. Endosperm vsebuje od 10 do 22 % olja, tako da pri poškodbah pečk lahko pride na 100 L tudi do 0,5 L olja, kar daje vinu okus po milu. Zaradi naštetega je pomembno, da se prepreči poškodbo pečk pri pecljanju, drozganju, transportu in stiskanju (Šikovec, 1993).

2.2.2.3 Jagodno meso

Največji del jagode zavzema jagodno meso, v dozoreli jagodi celo 75 do 85 %. Sestavljeno je iz enajstih do petnajstih plasti celic z zelo tankimi celulozno-pektinskimi mrenicami, katerih notranjost je napolnjena z grozdnim sokom. V celicah mesa sta jedro in citoplazma potisnjena ob celično steno, preostali del celic napolnjujejo velike vakuole, polne soka.

V jagodnem mesu razlikujemo tri cone, ki se razlikujejo po strukturi in kemijski sestavi, to so:

- notranja cona ob pečkah,
- zunanja cona pod jagodno kožico,
- osrednja cona.

Vakuolni sok sestavljajo voda, sladkorji, proste ter vezane kisline. Znotraj jagode se razmerja med temi snovmi razlikujejo. V zreli jagodi vsebuje notranja cona ob pečkah do 2 % manj sladkorjev in precej več kislin kot osrednja. Zunanja cona, ki meji na jagodno kožico, je v primerjavi z osrednjo siromašnejša s sladkorji in kislinami, vendar bogatejša s taninskimi snovmi (Šikovec, 1993).

2.2.2.4 Kisline

Zrelo grozdje ima širok razpon skupnih kislin; in sicer od 5 do 16 g/L glede na sorto, podnebje, letnik, zdravstveno stanje in stopnjo zrelosti. Najpomembnejše kisline v zreli grozdni jagodi so:

- vinska,
- jabolčna,
- citronska.

Ostale organske kisline, ki so lahko zastopane v majhnih količinah ali celo sledovih, so askorbinska, ketoglutarna, fumarna, galakturonska, glukolna, glukuronska, oksalna, oksalocetna in druge (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Anorganske kisline (fosforjeva, solna in žveplova) so prisotne v majhnih količinah, in to skoraj vse v obliki nevtralnih soli, ki sestavljajo mineralne snovi. Kar zadeva kislost grozdne jagode, je njena sestava zelo raznovrstna.

Podobno kot sladkorji tudi organske kisline niso enakomerno porazdeljene v notranjosti grozdne jagode. Kislost se povečuje od kožice proti pečkam, kjer je kislost največja. V posameznih plasteh pa nastaja tudi razlika med vinsko in jabolčno kislino. Zato pri predelavi grozdja upoštevamo, da je samotok bogatejši z vinsko kislino in zadnji iztisnjen grozdni sok z jabolčno (Šikovec, 1993).

Oksidacija do vinske kisline v grozdnih jagodah poteka samo pri višjih temperaturah, tj. nad 30 °C, drugače pa se oksidacijski procesi v jagodi pri nižjih temperaturah ali dnevih s padavinami preusmerijo bolj na jabolčno kislino.

V jagodnem mesu je koncentracija vinske kisline največja v srednji coni, narašča v notranji in upada v zunanji.

V treh conah jagodnega mesa je bila ugotovljena:

- 13,47 g/L v notranji coni ob pečkah,
- 8,72 g/L v osrednji,
- 4,59 g/L v zunanji coni ob jagodni kožici.

Jabolčna kislina kot proizvod nepopolne oksidacije sladkorja v listju prehaja v jagodo, kjer tudi sama delno oksidira naprej do vode in ogljikovega dioksida. To organsko kislino v grozdnih jagodah celice najpogosteje porabljajo za respiracijske procese. V primerjavi z vinsko kislino, za katere oksidacija je najbolj optimalna temperatura 37 °C, je za razgradnjo jabolčne kisline najustreznejša temperatura od 28 do 30 °C. V Sloveniji moramo upoštevati, da so v fazi barvanja grozdnih jagod in tudi pozneje med dozorevanjem pogostejše temperature pod 30 °C. Zato je razumljivo, da je znižanje jabolčne kisline pri nas izrazitejše kot vinske.

Glede porabe jabolčne kisline za dihanje jagode so razlike odvisne od sorte. Do močnejše oksidacije jabolčne kisline pride v renskem rizlingu. V grozdju je ta kislina kot *L*-jabolčna kislina; pri jabolčno-mlečnokislinski fermentaciji lahko iz nje tvorijo mlečnokislinske bakterije samo *L*-mlečno kislino (Šikovec, 1993).

Nihanja koncentracije kislin so zelo velika, koncentracija proste kisline lahko variira od ena- do trikrat, prav tako razmerja med posameznimi kislinami, to pa je odvisno zlasti od stopnje zrelosti jagod (Šikovec, 1993).

Sestava kislin je odvisna od klimatskih razmer, ki lahko močno vplivajo na potek fermentacije in fizikalno-kemijske parametre, kot tudi na senzorične lastnosti vina. Če ima mošt npr. visoko sladkorno stopnjo, lahko to izzove stresne razmere pri kvasovkah. To lahko vodi v tvorbo stranskih produktov fermentacije, kot je naprimer očetna kislina, ki ima negativne senzorične lastnosti. (Mira de Orduña, 2010)

2.3 SESTAVINE MOŠTA IN VINA

2.3.1 Voda

Voda je najbolj zastopana spojina v vinu, saj jo vsebuje 75 do 85 %. Zaradi vode se vino obnaša kot tekočina, deluje kot topilo in kot reagent v kemijskih reakcijah v celotnem procesu pridelave od grozdja do zorenja vina.

2.3.2 Kisline

Prisotnost glavnih organskih kislin v vinu in njihova stopnja disociacije oziroma prisotnost oksonijevih ionov dajejo vinu kisel okus in jih spoznamo v vrednosti pH vina (Šikovec, 1996).

V moštu in vinu najdemo predvsem organske kisline. Organske kisline v vinu so različnega izvora. Vinska in jabolčna kislina sta rezultat nepopolne oksidacije sladkorjev in iz grozdne jagode prehajata v mošt. Njuna koncentracija je odvisna od sorte, klime, vzgoje in nege trte ter dozorelosti grozdja (Bavčar, 2006).

Na kislost mošta vpliva torej več dejavnikov, čeprav je odvisna predvsem od sorte in ravnega okolja. Glede na kislost mošta posameznih sort, ki jih gojimo pri nas, obstajajo sorazmerno velike razlike. V Sloveniji denimo, odvisno od sorte in pridelovalnega območja, titracijske kisline izražene kot vinska kislina dosežejo od 6 do 18g/L. Sorte z relativno visoko kislostjo so šipon, laški rizling, renski rizling, rumeni plavec, refošk, žametovka. V okviru iste sorte na kislinsko stanje močno vplivajo podnebni in geomorfološki dejavniki, zato se lahko kislost spreminja navzgor in navzdol. Denimo v laškem rizlingu v primorskem ali podravskem rajonu so lahko velike razlike glede količine titracijskih kislin, ker je oksidacija organskih kislin odvisna od srednjih dnevnik temperatur, zlasti v fenofazi dozorevanja (Šikovec, 1993).

Kot posledica delovanja plesni vste *Botrytis cinerea* se lahko izrazito povečata koncentraciji citronske in glukonske kisline. Med alkoholno fermentacijo nastajajo še druge organske kisline. To so mlečna, očetna in jantarna kislina ter v zelo majhnih količinah še ostale kisline iz cikla trikarboksilnih kislin. Bakterije tvorijo znatne količine mlečne in očetne kisline. V vinu so količinsko najbolj zastopane vinska, jabolčna, mlečna in citronska kislina. Skupna koncentracija kislin v vinu je običajno v intervalu od 5,5 do 8,5 g/L. Bela vina jih vsebujejo več kot rdeča, izjemi sta seveda teran PTP in refošk. Koncentracija kislin je pomembna za stabilnost, barvo, kislost in obstojnost vina. Imajo velik vpliv na senzorično ravnotežje vina.

Kisline v vinu izražamo kot skupne kisline, hlapne in nehlapne kisline. Hlapne kisline so vse tiste, ki jih lahko predestiliramo s parno destilacijo. Med njimi je najpomembnejša očetna kislina, pa tudi mravljična in propionska. Nehlapne kisline so preostale minimalno hlapne, torej vinska, jabolčna, citronska, mlečna itd. Skupne kisline so seštevček hlapnih in

nehlapnih kislin (Bavčar, 2006).

Kislone mošta skupaj s kislinami, ki nastajajo med alkoholno fermentacijo, imajo izredno pomembno vlogo pri oblikovanju okusa vina, soudeležene so v celi vrsti fizikalno-kemijskih in biokemijskih procesov. V primerjavi z moštom se kislinsko stanje vina precej razlikuje. Praviloma je kislost vina vedno nižja od kislosti mošta, vzrok za to moramo iskati v fizikalno-kemijskih in biokemijskih procesih, ki se začnejo z drozganjem grozdja in zlasti z alkoholno fermentacijo. Tedaj zaradi nastalega alkohola preide velik del topnega kalijevega hidrogentartrata v netopno obliko in se med vrenjem izloči v drožeh kot vinski kamen ali odloži na stene vinske posode.

Kislinsko stanje mošta je večinoma odvisno od organskih kislin, ki odločajo tudi o času, ko moramo opraviti trgatev.

Organske kisline veljajo za produkte nepopolne oksidacije sladkorjev in jim pripada osrednja vloga v procesih dihanja rastlinskih celic nasploh. Na eni strani nastajajo iz sladkorja nove količine kislin, na drugi strani pa te kisline v nadaljnjem procesu dihanja tudi same bolj ali manj oksidirajo do ogljikovega dioksida in vode (Šikovec, 1993).

2.3.2.1 Vinska kislina

Vinske kisline je v grozdju od 5 do 10 g/L mošta in je običajno najbolj zastopana kislina, tako v moštu kot v vinu. Skupaj z jabolčno kislino pogosto dosežeta 90 % vseh nehlapnih kislin. Njena koncentracija je odvisna od sorte in od končnega volumna grozdne jagode ob trgatvi, splošno pa koncentracija ne upada med dozorevanjem grozdja (Bavčar, 2006).

Med razvojem in dozorevanjem jagod prehaja prvotno prosta vinska kislina z dotokom v vodi raztopljenih alkalij iz tal prek koreninskega sistema v grozdno jagodo že v obliki njenih soli: kot primarni kalijev hidrogentartrat (kisli), sekundarni kalijev tartrat (nevtralni), primarni in sekundarni kalcijev tartrat. Od vseh navedenih soli je najbolj zastopan primarni kalijev tartrat, ki se pojavlja že v grozdju. Ta sol vinske kisline je slabo topna v vodi in še bolj v alkoholu. Tako se v vinu redno bolj ali manj izloča.

Slabo topne so tudi kalcijeve soli vinske kisline, zlasti sekundarni kalcijev tartrat. Skupaj s primarnim kalijevim tartratom se ta sol izloča delno že v moštu, zlasti med alkoholnim vrenjem, in se stopnjuje, če to poteka pri nižjih temperaturah. Izločanje se nadaljuje v vinu kot vinski kamen na dnu ali steni posode.

Mikroorganizmi v vinu kisline ne uporabljajo kot substrat, zato jo uporabljamo za dokisanje. Ker je slabo topna, se izloča kot sol tartrat, ki jo pogovorno imenujemo kot vinski kamen (Bavčar, 2006).

2.3.2.2 Jabolčna kislina

Jabolčne kisline je v grozdju od 1 do 4 g/L mošta, v majhnih jagodah v hladnih območjih pa tudi 6 g/L. Koncentracija je odvisna od sorte, od temperature v času dozorevanja in končnega volumna jagode. Splošno se njena koncentracija med dozorevanjem grozdja znižuje, če je zunanja temperatura višja. Mikrobiološko je nestabilna, mlečnokislinske bakterije jo spremenijo v mlečno kislino v procesu biološkega razkisa.

Delno se izloča tudi kot kalcijeva sol oziroma malat. Mlečne kisline je v vinu od 0 do 2,5 g/L, izjemoma pa tudi več, če je potekel biološki razkis. Nastane predvsem z dekarboksilacijo jabolčne kisline pod vplivom mlečnokislinskih bakterij (Bavčar, 2006).

2.3.2.3 Citronska kislina

Citronska kislina prehaja iz grozdne jagode v mošt. Tvori se tudi pod vplivom plesni vrste *Botrytis cinerea*. Ker je v grozdni jagodi vezana na celične opne, je mnogo zaostane v tropinah. V vinu je stabilna, neobstoja je le v primeru aktivnosti mlečnokislinskih bakterij. Včasih jo uporabljamo tudi za dokisanje (Bavčar, 2006). Njena povprečna koncentracija v vinu je okrog 0,7 g/L, izjemoma jo najdemo več v moštih iz gnilega grozdja (Šikovec, 1993).

2.3.2.4 Ocetna kislina

Ocetna kislina je najpomembnejša hlapna kislina. V normalnih koncentracijah ima v vinu pomembno vlogo kot aromatična spojina in pri tvorbi estrov. Pojavi se že med alkoholno fermentacijo pod vplivom kvasovk. Njene povečane koncentracije, to je nad 0,8 g/L, so posledica delovanja škodljivih mikroorganizmov, predvsem oetnokislinskih bakterij. Lahko se tvori tudi s kemijsko hidrolizo hemiceluloze med zorenjem v lesenih posodah. V novih sodih tako nastane do 0,2 g/L več oetne kisline (Bavčar, 2006).

Ostale organske kisline, fumarna, piruvična in α -ketoglutarina, se v vini nahajajo v koncentracijah od nekaj 10 do nekaj 100 mg/L. Nastajajo iz sladkorjev, aminokislin ali maščobnih kislin med alkoholno fermentacijo. Njihov vpliv na titracijsko kislost in pH je relativno majhen (Bavčar, 2006).

Kisline v vinu so izredno pomembne (Bavčar, 2006):

- imajo velik vpliv na senzorično vina, ni pa samo koncentracija kislin odločilna za kisel okus vina. Kisel okus vina je namreč odvisen od titracijskih kislin, vrednosti pH, razmerja med vinsko in jabolčno kislino ter količine mineralnih snovi,
- imajo odločilen vpliv na pH vina in s tem na veliko število reakcij, ki potečejo med pridelavo vina,
- nižji pH onemogoča rast nezaželenim mikroorganizmom,
- sodelujejo pri stabilizaciji, saj pospešujejo usedanje pektinov in beljakovin,
- prispevajo k boljši aromatici vin, saj kislinska hidroliza v glikozide vezanih aromatičnih spojin sprošča proste terpene, fenole, norizoprenoide,
- med zorenjem vina sodelujejo pri tvorbi estrov in razvoju tako imenovane ležalne arome.

Kisel okus vseh naštetih kislin v vinu je prekrit zaradi vsebnosti alkohola, reducirajočih sladkorjev in različnih kationov. Kislost vin povezujemo z vsebnostjo skupnih (titrabilnih) kislin, s pH, z relativno vsebnostjo disociiranih in nedisociiranih kislin, pufrno kapaciteto in relativno vsebnostjo vsake posamezne kisline. Vse kisline so bolj ali manj kisle in dajejo vinu značilne senzorične poudarke (zlasti maščobne kisline so zaradi vonja nezaželene). Za določitev optimalnega časa trgatve je bistveno sprotno določanje kislosti in vrednosti pH grozdnega soka. Po končani alkoholni fermentaciji in med zorenjem ali staranjem vina pa je pomembno spremljati razlike v vsebnosti tako nehlapnih (fiksni) kot tudi hlapnih kislin. Prav tako je med jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo potrebno vsakodnevno

spremljanje koncentracije jabolčne in mlečne kisline (Košmerl in Kač, 2007).

2.3.3 Etanol

Etanol je nedvomno najpomembnejši alkohol v vinu. Nastane kot posledica delovanja kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* v času alkoholne fermentacije. Vinu daje stabilnost, deluje kot topilo in zagotavlja posebne senzorične lastnosti.

Nastanek etanola je povezan s kvasovkami vrste *Saccharomyces cerevisiae* (Bavčar, 2006):

- glavni vir etanola je alkoholna fermentacija ogljikovih hidratov mošta,
- količinsko je skupaj z ogljikovim dioksidom glavni produkt alkoholne fermentacije,
- vpliva na metabolizem kvasovk in posledično na vrsto ter količino nastalih spojin v vinu,
- na koncu omeji rast in razmnoževanje kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*,
- omeji rast tudi drugih mikroorganizmov (inhibitorno delovanje).

Etanol kot spojina raztaplja hlapne snovi, ki se kopičijo med fermentacijo, in tiste, ki se oblikujejo med staranjem v leseni posodi. Ravno tako sodeluje pri tvorbi hlapnih snovi kot reaktant, pri staranju vina pa počasi reagira z organskimi kislinami in tvori estre, z aldehidi pa tvori acetale (Bavčar, 2006).

Etanol ima svoj specifičen vonj ter okus in ima pomemben vpliv pri zaznavanju aromatičnih komponent ter senzoričnih lastnostih vina (Knoll in sod., 2010).

2.3.4 Sladkorji (ogljikovi hidrati)

Količinsko najbolj zastopano hranilo kvasovk je sladkor, ki služi kot vir energije in ogljika kvasnim celicam (Košmerl, 2007a).

Pod vplivom sončne svetlobe in ogljikovega dioksida, katerega celice s kloroplasti absorbirajo iz atmosfere, in vode, nastane organska snov, pri čemer se sprošča kisik (Radovanović, 1986).

Reakcija fotosinteze: $6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$

V grozdju, moštu in vinu se nahajajo (Bavčar, 2006):

- monosaharidi: heksoze (glukoza, fruktoza) in pentoze (arabinoza, ksiloza in ramnoza),
- disaharidi (saharoza),
- polisaharidi (pektini, glukan, škrob, dekstrani).

2.3.4.1 Monosaharidi

Heksoze so najpomembnejši in tudi količinsko najbolj zastopani ogljikovi hidrati, tako v moštu kot pozneje v vinu. Pomembni heksozi sta glukoza in fruktoza. Skupna koncentracija glukoze in fruktoze v zrelem grozdju je med 150 in 300 g/L, večinoma pa

med 180 in 220 g/L. Na njuno koncentracijo vpliva večje število dejavnikov.

Razmerje med glukozo in fruktozo se spreminja glede na dozorevanje grozdja. Na začetku prevladuje glukoza in le četrtina je fruktoze; v polni zrelosti grozdja doseže razmerje 1:1. Po polni zrelosti pa prevladuje fruktoza.

Kvasovke so sposobne fermentirati oba sladkorja, vendar enostavneje izkoriščajo glukozo. Njun ostanek skupaj s pentozami v vinu po alkoholni fermentaciji imenujemo reducirajoče sladkorje.

Pentoz je v vinu mnogo manj. Kvasovke jih ne morejo porabiti kot substrat. Glavne pentoze v vinu so arabinoza, ksiloza in ramnoza. Največjo koncentracijo v vinih dosega arabinoza (v belih vinih od 0,2 do 0,8 g/L) (Bavčar, 2006).

2.3.4.2 Disaharidi

Od disaharidov ima v tehnologiji vina pomen edino saharoza (Radovanović, 1986). Saharoz je optično aktiven glikozid, sestavljen iz glukoze in fruktoze. Čeprav saharoze same po sebi kvasovke ne uporabljajo direktno, pa privzemajo produkte njene hidrolize, glukozo in fruktozo, ki jih kvasovke pridobijo s pomočjo encima invertaze. V primeru vinske trte se pri transportu saharoza invertira v glukozo in fruktozo in kot takšna preide v grozdje (Bavčar, 2006).

2.3.5 Dušikove spojine

V času dozorevanja grozdja se povečuje koncentracija dušikovitih spojin v grozdnem soku. Dušik sprejemajo korenine vinske trte v obliki nitrata, ki se preko nitratske reduktaze pretvori v amoniak in se prenaša ter kopiči v obliki aminokislin in aminokislinskih amidov. Koncentracija skupnega dušika v moštu znaša od 1,0 do 2,0 g/L. Anorganske dušikove spojine (amonijak in amonijeve spojine) dosežajo do 300 mg/L (Bavčar, 2006). Organske dušikove spojine pa v 60-80 % zastopajo beljakovine, ki jih delimo na termolabilne albumine in termostabilne globuline. Kvasovke jih lahko uporabijo kot vir dušika le, če te razpadejo na aminokislino. V moštu so zastopane bolj ali manj vse aminokislino. 75-85 % aminokislin v moštu predstavljajo glutamin, arginin, prolin, serin, glutaminska kislina, treonin in alanin (Taks, 2000). V fazi polne zrelosti grozdja je arginin pogosto prevladujoča aminokislina in predstavlja 6-44 % skupnega dušika grozdnega soka (Košmerl, 2007a). V hladnejših območjih je koncentracija prostih aminokislin večja, saj je zaradi nizkih temperatur zmanjšana sinteza beljakovin. Koncentracija posameznih aminokislin (aminokislinska sestava mošta) je odvisna od sorte, klime, stopnje dozorelosti grozdja, gnojenja, tehnologije predelave in okuženosti s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*. Aminokislinska sestava mošta pa vpliva na rast kvasovk, potek fermentacije in tvorbo aromatičnih snovi vina (Taks, 2000).

2.3.6 Minerali

Mineralne snovi izvirajo iz zemlje in so tiste sestavine mošta ali vina, ki ostanejo poizparevanju in žarenju v obliki pepela. V pepelu vina in mošta prevladujejo kationi nad anioni. Prevladujoči kation, je kalij (0,5-2 g/L). Njegova koncentracija se poveča pri sušenem grozdju in grozdju, okuženem s plesnijo vrste *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 bromid, jodid, fluorid, silikati in borati (Batič, 2005). Koncentracija mineralov mošta je odvisna od vremenskih razmer, sorte, stopnje dozorelosti, sestave tal, gnojenja tal in načina predelave. V moštu je koncentracija mineralov 3-4 g/L, v vinu pa 1,8-2,5 g/L (Radovanović, 1986).

2.4 ALKOHOLNA FERMENTACIJA

Fermentacija grozdnega soka v vino je kompleksen mikrobiološki proces, ki obsega postopen razvoj in interakcije med različnimi mikroorganizmi, kot so kvasovke, bakterije in nitaste glive (Pretorius, 2002).

Za številne mikroorganizme je že začetna količina sladkorja (glukoze in fruktoze) v grozdju nad njihovo optimalno koncentracijo. Neugodne osmotske razmere, združene s kislostjo mošta in koncentracijo vodikovih ionov (pH), omejujejo tako število kot raznolikost mikroorganizmov: določajo, katere vrste oziroma sevi bodo rasli, njihovo hitrost rasti in fermentacijsko sposobnost ter nenazadnje tudi koncentracijo senzorično pomembnih vzporednih produktov (Košmerl, 2007a).

Med omenjenimi mikroorganizmi imajo kvasovke zdaleč največji pomen, saj imajo sposobnost pretvorbe sladkorjev grozdja v etanol, ogljikov dioksid, ter v ostale pomembne metabolite v manjših koncentracijah. V tradicionalni tehnologiji je fermentacija prepuščena kvasovkam, ki se nahajajo pretežno na grozdnih jagodah ter na kletarski opremi. Kvasovke rodov *Hanseniopsis* in *Kloekera* prevladujejo na površini grozdnih jagod in predstavljajo 50 do 70 % skupne populacije kvasovk. Skupaj z rodom *Candida* prevladujejo v zgornjih obdobjih spontane alkoholne fermentacije. Pozneje, v srednjem obdobju alkoholne fermentacije, ko se vsebnost etanola poveča na 3-4 % se jim pridružijo posamezne vrste rodov *Cryptococcus*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia* in *Pichia*. Zadnja faza spontane alkoholne fermentacije je zaznamovana z močno prevlado vrste *S. cerevisiae*, ki je zelo odporna na povečano koncentracijo etanola. Tako imenovana vinska kvasovka – *S. cerevisiae* nedvomno največ doprinese k alkoholni fermentaciji.

V modernih vinskih kletah z velikimi kapacitetami večinoma uporabljajo selekcionirane seve *S. cerevisiae*, ki so jamstvo za hitro, učinkovito in predvidljivo alkoholno fermentacijo in dajejo skladnost okusa in vonja vina po zaključeni fermentaciji (Pretorius, 2002).

Najpomembnejši izvor energije pri kvasovkah vrste *Saccharomyces cerevisiae* je glukoza. Glavna metabolna pot za pretvorbo glukoze do piruvata je glikoliza, pri kateri vzporedno nastaja energija v obliki ATP in se tvorijo intermediati. Ločimo dva osnovna metabolna modela nadaljnje razgradnje piruvata za tvorbo energije:

1. aerobni proces – dihanje ali respiracija: nastajanje biomase; pri tem procesu gre za popolno oksidacijo;
reakcija: $\text{glukoza} + 6 \text{O}_2 \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 6 \text{H}_2\text{O} + 36 \text{ATP} + \text{toplota}$,
2. anaerobni proces – vrenje ali fermentacija: nastajanje etanola; pri tem procesu je acetaldehid končni akceptor elektronov;
reakcija: $\text{glukoza} \rightarrow 2 \text{etanol} + 2 \text{CO}_2 + 2 \text{ATP} + \text{toplota}$.

Razgradnja glukoze do piruvata poteka po enaki poti v anaerobnih in aerobnih razmerah, preko fruktoza-1,6-difosfata in 3-fosfoglicerata. Med alkoholno fermentacijo grozdnega mošta se sladkor (točneje reducirajoči sladkorji) presnavlja v bioprocesu glikolize. Končni produkt glikolize je piruvat oziroma piruvična kislina, ki predstavlja pomembno stopnjo v procesu alkoholne fermentacije. V nadaljnjih reakcijah sledi dekarboksilacija piruvične kisline in to je trenutek, ko se v procesu alkoholne fermentacije pojavi ogljikov dioksid, pri tem pa se tvori acetaldehid, ki se v zadnji encimski stopnji reducira do etanola (Košmerl, 2007a).

Volumen ogljikovega dioksida je 40 do 50-krat večji od volumna fermentirajočega mošta; 1 mol CO₂ je 22,4 L plina (180 g/L sladkorja (1 mol) → 44,8 L plina).

Količina nastalega etanola, proizvedenega na enoto porabljenega sladkorja med fermentacijo, predstavlja po teoretičnih izračunih 51,1 %. Teoretično se 180 g sladkorja pretvori v 88 g CO₂ in 92 g etanola, praktični izkoristek pa je 47 %. To pa zato, ker se 95 % sladkorja pretvori v etanol, 1 % sladkorja se porabi za izgradnjo celičnega materiala, 4 % sladkorja se pretvori v druge končne produkte (metabolite), nekaj alkohola pa se izgubi v atmosfero (izhlapevanje) (Košmerl, 2007a).

Na začetku procesa je razpoložljivost hranil največja in upada proti koncu, ko se jih večina porabi. Kvasovke pri takšni obliki fermentacije rastejo po krivulji, ki jo razdelimo na 4 dele (faze) rasti, to so (Bavčar, 2006):

- »lag« (faza prilagajanja),
- »log« (eksponentna faza rasti),
- stacionarna faza (razpoložljivost hranil upada istočasno pa narašča koncentracija toksičnih snovi),
- faza odmrtja (na koncu se količina hranilnih snovi še zmanjša, toksičnost snovi pa zveča; tako je število odmrlih celic večje kot število novih celic).

2.4.1 Ostali produkti alkoholne fermentacije

Poleg glavnih produktov fermentacije, kot sta etanol in ogljikov dioksid, kvasovke izločajo tudi druge stranske produkte. Med njimi so najbolj pomembni (Bavčar, 2006):

- glicerol, ki nastane z redukcijo dihidroksiaceton fosfata (vmesni člen glikolize), ki se spremeni v glicerol fosfat, ta se pod vplivom glicerolfosfataze spremeni v glicerol,
- očetna kislina: med 100 in 200 mg/L jo tvorijo tudi kvasovke, glavčina jo nastane pod vplivom očetnokislinskih bakterij,
- višji alkoholi so predvsem 3-metil-butanol (izoamil alkohol), 2-metil butanol (amil alkohol), 2-metil-propanol (izobutil alkohol), 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol. Nastajajo lahko anabolno iz sladkorjev ali s transaminacijo iz ustreznih aminokislin,
- estri imajo velik vpliv na vonj vina; izrazito sadno aromo predvsem mladih vin, ki so fermentirala pri nižjih temperaturah, povežujemo z acetatnimi estri etanola in višjih alkoholov.

2.5 VLOGA VINSKIH KVASOVK MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO

2.5.1 Splošne značilnosti kvasovk

Kvasovke so evkariontski mikroorganizmi, netaksonomska kategorija gliv, definirana z ozirom na morfološke in fiziološke značilnosti. So filogenetsko različna skupina organizmov in pripadajo dvema glavnima taksonoma, in sicer *Ascomycotina* in *Basidiomycotina*.

Kvasovke se nesporno praviloma množijo z brstenjem oziroma nekatere s cepljenjem. V aerobnih razmerah metabolizirajo številne sladkorje, medtem ko imajo v anaerobnih razmerah sposobnost fermentacije samo nekatere vrste (Raspor, 1996).

2.5.1.1 Vegetativno razmnoževanje

- Brstenje

Brstenje je najpogostejši način vegetativnega razmnoževanja kvasovk. Nastopi, ko celica doseže kritično velikost in ko je končana sinteza DNK. Na nekem mestu celične stene nastane majhna izboklina zaradi notranjega pritiska na citoplazmo. Na omenjenem mestu se začne tudi sinteza sestavin celične stene. Med brstenjem sta celici povezani, raste pa le hčerinska.

Ko se mitozna konča in se na novo nastali organeli preselijo v brst, se začne tvorba septuma, ki dokončno loči materinsko in hčerinsko celico. Poznamo različne vrste brstenja in sicer multilateralno, bipolarno, monopolarno in unipolarno brstenje ter brstenje na pecljih (Polanc, 2001).

- Celična delitev

Celična delitev je značilna za rod *Schyzosaccharomyces*. Do delitve pride zaradi septuma, ki razdeli materinsko celico na dve hčerinski celici (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, kjer kvasovke tvorijo psevdohife in prave hife. Filamentozna rast pri kvasovkah soupada 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).

2.5.1.2 Spolno razmnoževanje

Številne kvasovke imajo preučeno spolno reprodukcijo ter razmnoževalni cikel in so tako razvrščene med askomicete ali bazidiomicete. V splošnem se s kopulacijo dveh kvasnih celic oziroma spor začne spolni krog, ki vodi v oblikovanje askospor oziroma bazidospor (Raspor, 1996). Dokazana je samo pri askomicetnih in bazidiomicetnih kvasovkah,

medtem ko pri devteromicetnih ni poznana (Polanc, 2001).

2.5.2 Vinske kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae*

Kvasovka vrste *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. Spolno se razmnožuje s sporami (askosporami), ki so v askusih (1-4, ovalne oblike), vendar je ta način razmnoževanja industrijsko nezanimiv. Pomembnejše so vegetativne vrste razmnoževanja. Največ se razmnožujejo z brstenjem, za vrsto *Saccharomyces cerevisiae* je značilno multipolarno. V idealnih pogojih ciklus traja dve uri. *Saccharomyces cerevisiae* so ovalne oblike, na trdih gojiščih so kolonije krem barve s hrapavo površino in narezljanim robom. Asimilirajo dušikove spojine v obliki amoniaka. Rastni pogoji niso zahtevni, saj rastejo do vrednosti a_w 0,90, optimalni pH za rast je med 6 in 7, optimalna temperatura za rast pa je 28 °C oziroma za fermentacijo med 32 in 35 °C. Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* so Crabtree pozitivne (Bizaj, 2004).

Vrsta *Saccharomyces cerevisiae* je znana kot »vinska kvasovka«. Znano je tudi, da z različnimi sevi kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* pridelamo po kakovosti zelo različna vina. Čeprav je ta vrsta prevladujoča na koncu sleherne alkoholne fermentacije, pa je na površini grozdne jagode in v moštu prisotna le v zelo majhnem številu. Prevladujejo namreč avtohtoni ali endogeni rodovi ne-*Saccharomyces* nesporogenih kvasovk, zlasti vrste *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora uvarum*, *Candida stellata*, *Torulaspota delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima* in *Saccharomycodes ludwigii*, ki so prisotne v začetnih fazah fermentacije in dosežejo končno koncentracijo celo 10^6 - 10^8 CFU/mL (prve tri vrste), preden odmrejo. Delež kvasovk rodov *Kloeckera* in *Torulopsis* je lahko relativno velik v primerjavi s kvasovkami vrste *Saccharomyces cerevisiae* tudi v mladem vinu po končani fermentaciji (Košmerl, 2007a).

2.5.3 Dodatek starterske kulture vinskih kvasovk

Začetki uporabe inokuluma v procesu alkoholne fermentacije segajo v leto 1980, ko je uspelo Müller-Thurgau prepričati nemške vinarje o prednostih, ki jih ponuja hitra spodbujena fermentacija. Po približno 75 letih je stekla prva komercialna priprava dveh sevov vinskih kvasovk za kalifornijsko vinsko klet, ki sta pozneje stopila v uporabo širom po svetu kot seva kvasovk z večnamensko uporabo. Vendar je bil njun uspeh omejen, saj se je izkazala potreba po selekcioniranih sevih *S. cerevisiae*, primernih za posebna vina. Začetni zahtevi t.j. hitri in učinkoviti presnovi sladkorjev mošta brez sočasne tvorbe neželenih komponent, se je v zadnjem času pridružilo več novih, popolnoma specifičnih zahtev vinarjev. Te se predvsem navezujejo na ohranitev tipičnih sortnih značilnosti določenega tipa in stila vina. Pomembna je dobra prilagojenost sevov *S. cerevisiae* na posamezne sorte ter različne vinogradniške in vinarske tehnologije (Pretorius v Raspor, 2002).

Preparati suhih aktivnih kvasovk vsebujejo veliko število živih celic od $1,2$ do $2,7 \cdot 10^{10}$ CFU/g, medtem ko je njihova preživelost med 40-64 %. Ni zanemarljivo dejstvo, da so prisotne tudi mlečnokislinske bakterije od $9 \cdot 10^3$ - $7,6 \cdot 10^6$ CFU/g in kvasovke rodov ne-

Saccharomyces do $0,1 \cdot 10^6$ CFU/g. Med rehidracijo se preživelost kvasovk rodu *Saccharomyces* ne spremeni, zmanjša pa se število kvasovk rodov ne-*Saccharomyces* in bakterij; zlasti slednje nimajo nobene možnosti preživetja med fermentacijo in običajno odmrejo po štirih dneh, medtem ko kvasovke odmrejo po šestih dneh (Košmerl, 2007a). Izbira primernega seva kvasovk je torej lahko odločilnega pomena pri razvoju zelenega karakterja vina (Molina in sod., 2009).

Nesporno je dejstvo, da je najznačilnejša tehnološka prednost s stališča alkoholne fermentacije mošta tržna dostopnost selekcioniranih kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*. S to prednostjo pa je za prenekatero ljubitelje in poznavalce vin povezana tudi slabost oziroma izguba variabilnosti med vini, ki jih označujejo kot »preveč podobna« ali »preveč uniformirana« (Košmerl, 2007a).

2.6 STARTERSKE KULTURE VINSKIH KVASOVK

2.6.1 Osnovne lastnosti starterskih kultur vinskih kvasovk

Velika večina vinarjev uporablja za fermentacijo belih in rdečih moštov komercialne starterske kulture, ki so selekcionirane glede na štiri osnovne kriterije: fermentacijske lastnosti, tehnološke lastnosti, metabolne lastnosti ter senzorične oziroma aromatične značilnosti, kot so majhna tvorba sulfidov/dimetilsulfidov/tiolov, majhna tvorba hlapnih kislin, majhna tvorba višjih alkoholov, sprostitvev prekurzorjev aromatičnih snovi, velika tvorba glicerola, hidrolitska aktivnost, povečana avtoliza, prilagojena esterazna aktivnost, idr. V okviru teh kriterijev se v praksi, odvisno predvsem od fizikalno-kemijske sestave mošta, srečamo vsaj z enim od naštetih (fenomenov) (Košmerl, 2007a).

- nezadostna pretvorba sladkorjev v etanol (slabši izkoristek substrata) in tvorba večjih količin sekundarnih metabolitov;
- ovirana asimilacija dušikovih spojin ali njihovo pomanjkanje;
- slabša odpornost na etanol;
- slabša odpornost na protimikrobne komponente (poleg očetne kisline in maščobnih kislin): »killer« toksin, SO_2 , ostanki sredstev za zaščito vinske trte-zlasti baker;
- tvorba pene v začetni fazi fermentacije.

Vemo, da je alkoholna fermentacija dinamičen proces, v katerem se dogajajo številne spremembe zaradi zunanjih fizikalnih dejavnikov in biološke aktivnosti fermentirajočih organizmov. Med spreminjanjem zunanjega okolja morajo organizmi s številnimi mehanizmi vzdrževati intracelularne fizikalno-kemijske parametre znotraj določenih meja, z namenom doseči optimalne razmere za svojo metabolno aktivnost in ohranjeno integriteto celic. V nasprotnem primeru (ekstremne razmere ali neuspešna adaptacija) se to odraža v upočasneni rasti ali smrti celic.

Za zagotovitev celotne pretvorbe sladkorja, brez vzporedne tvorbe neželenih aromatičnih spojin (defekt), moramo zagotoviti rast in prevlado kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* (Košmerl, 2007a).

2.6.2 Zahteve za industrijsko produkcijo starterskih kultur

2.6.2.1 Osnovne zahteve

Osnovne zahteve, ki jih morajo izpolnjevati industrijske starterske kulture, so dokončanje fermentacije (odpornost na alkohol), odpornost na visoke sladkorne stopnje mošta, na SO₂, na visoke in nizke temperature ter na visok tlak (pri penečih vinih), tvorba majhnih količin očetne kisline, acetaldehida, H₂S, merkaptanov, diacetila, SO₂ in omejena tvorba višjih alkoholov, majhno penjenje, flokulativnost po končani alkoholni fermentaciji (izboljšanje bistenja) in sposobnost sušenja (Košmerl, 2007a).

2.6.2.2 Dodatne zahteve

Dodatne zahteve pa so tvorba zelenih sortnih arom, razgradnja jabolčne kisline, tvorba glicerola, β-glukozidazna aktivnost, zimocidna (»killer«) aktivnost, majhno izločanje sečnine, aglomeracija, tvorba estrov, proteazna aktivnost in tvorba inhibitornih snovi za druge kvarljive mikroorganizme (Košmerl, 2007a).

2.6.2.3 Sestava rodov ali vrst kvasovk v starterski kulturi

Trenutno vsebuje starterska kultura en sam sev vrste *Saccharomyces cerevisiae*, v bližnji prihodnosti pa jo bo sestavljala kombinacija različnih sevov iste vrste *Saccharomyces cerevisiae* ali kombinacija vrst *Saccharomyces cerevisiae* in rodov ne-*Saccharomyces* (Košmerl, 2007a).

2.6.2.4 Priprava vitalne starterske kulture

Pri pripravi vitalne starterske kulture moramo slediti navodilom proizvajalca za rehidracijo kvasovk. V inokulumu mora biti vsaj 2-5 milijonov aktivnih kvasnih celic v 1 mL, kar odgovarja 1-3 vol.% inokuluma. V odvisnosti od mošta je potreben dodatek 15-40 g/hL suhih kvasovk. V primeru slabšega stanja grozdja (gniloba) potrebujemo večji inokulum med 20-40 g/hL. V belih moštih iz zdravega grozdja in opravljenem bistenju je običajni dodatek inokuluma med 15-25 g/hL (Košmerl, 2007a).

2.6.2.5 Faza rehidracije

Voda, v kateri rehidriramo startersko kulturo kvasovk, mora imeti temperaturo med 35 in 40 °C in ne sme biti klorirana. V prvi fazi rehidracije ne dodajamo v vodo niti sladkorja niti mošta, saj osmotski stres povzroči le majhno živost kvasne populacije. Zmes previdno premešamo in pustimo nabrekati 20-30 min (Košmerl, 2007a).

2.7 AROMATIČNE SNOVI V VINU

Aromatične snovi zaradi svojega vpliva na naše čutilne organe igrajo pomembno vlogo v kakovosti živil. Kot pri večini živil je tudi za aromo vina odgovornih več kot 800 različnih hlapnih snovi, ki vplivajo na naše senzorične organe. Koncentracija vseh aromatičnih snovi v vinu je približno 0,8-1,2 g/L, kar je enako približno 1 % koncentracije etanola. Višji alkoholi, ki nastajajo med alkoholno fermentacijo, predstavljajo 50 % te vrednosti. Ostale aromatične komponente so zastopane v koncentracijah med 10^{-4} in 10^{-9} g/L. Prag zaznave določene aromatične spojine je tista najmanjša koncentracija, pri kateri je prišlo do odziva čutilnega organa. Le-ta se zelo razlikuje med posameznimi spojinami in niha med 10^{-4} in 10^{-12} g/L.

Med alkoholno fermentacijo nastajajo poleg zelenih tudi neželene aromatične snovi: aldehidi, hlapne organske žveplove spojine, vodikov disulfid, tioalkoholi, tioetri in tiolani, vendar v izredno majhnih koncentracijah, manj kot 1 mg/L (Košmerl, 2005).

Pri klasifikaciji aromatičnih snovi vina razlikujemo med (Košmerl, 2005):

- **primarno** ali **grozdno aromo**: spojine, kot jih najdemo v nepoškodovani grozdni jagodi;
- **sekundarno aromo**: aromatične spojine, ki se oblikujejo med predelavo grozdja (pecljanje, drozganje, maceracija, stiskanje), kjer potekajo kemijske in encimske reakcije;
- **fermentacijsko aromo**: aromatične spojine, ki se oblikujejo med alkoholno fermentacijo;
- **zorilno aromo**: nastane zaradi kemijskih reakcij med zorenjem vina v steklenici.

Koncentracija aromatičnih snovi v vinu je odvisna od več dejavnikov, ki so: okolje (klima in zemlja), sorta grozdja, stopnja zrelosti, fermentacijske razmere (pH, temperatura, raznovrstnost kvasovk), postopki predelave grozdja (enološke metode) in zorenje ter staranje vina (zorenje v steklenici) (Košmerl, 2005).

Aromatične snovi vina zaznamo na dva načina (Košmerl, 2007a):

- **neposredno** - z vohanjem, kar imenujemo vinsko cvetico ali »buket«;
- **posredno** - z okušanjem, ko se zaradi višje temperature in mehničnega učinka v ustih sprostijo manj hlapne snovi vina in prehajajo retronazalno v nos do rumene pege v možganih, receptorja z veliko občutljivostjo na vonj. Skupek obeh vtisov imenujemo aromo vina.

2.7.1 Primarna aroma vina

Primarna aroma izvira iz grozdja. To so predvsem sadne arome, značilne za sorto, ki po svoji intenzivnosti ali kakovosti nihajo glede na letnik, rastišče, obremenitev trte, dozorelost grozdja, tehnološke postopke in so navsezadnje, čeprav po pomenu ne na zadnjem mestu, odvisne od znanja kletarja in razmer, v katerih dela.

Sorta da vinu del okusa glede na sladkorno stopnjo grozdja, vsebnost kislin in drugih sestavin, vendar tudi snovi, ki vsebujejo in oddajajo bolj ali manj prijetne vonjave. Nekatere sorte ohranjajo sortno aromatičnost ne glede na pridelovalno območje, denimo chardonnay in cabernet sauvignon.

Umetnost kletarjenja je prenesti in ohraniti v vinu primarne sadne arome grozdja, ki so bile v njem skrite. V vinu lahko zaznamo več sadnih arom kot v grozdju. To je sicer fenomen, ki ga lahko pojasnimo na več načinov. Med maceracijo rdečih vinskih sort preidejo vonjalne snovi iz jagodne kožice v mošt. Alkoholna fermentacija v svoji vsestranski spremembi sladkega mošta sprošča arome, ki so sicer skrite v jagodni kožici.

Muškatne sorte (tudi sauvignon) so najlepši primer za učenje zaznavanja primarnih arom. Te snovi so tudi najboljše proučene; geraniol in nerol dišita po cvetu vrtnice, linalool po olesenelih vejah vrtnic, terpineol pa vonja po kafri. Jagodni sok muškatnih sort oziroma vina teh sort vsebuje od pol do tri miligrame terpenov v litru. Prag zaznave se začne že pri desetinki miligrama. Tudi nekatere druge bele sorte vsebujejo terpenske snovi (renski rizling, traminec, rizvanec, zeleni silvanec), toda v bistveno manjši količini. Kljub temu smo včasih prijetno presenečeni nad nežnim muškatnim primarnim vonjem v nemuškatnih sortah (Nemanič, 1999).

2.7.2 Fermentacijska aroma

Pomemben del vinske arome se oblikuje med alkoholno fermentacijo. Poleg etanola, glicerola, diolov in višjih alkoholov, se pod vplivom kvasovk tvorijo še druge spojine, predvsem kisline, estri, aldehidi, ketoni in žveplove spojine.

Na aromo, ki nastaja med alkoholno fermentacijo, vpliva več dejavnikov. Ob vrsti kvasovk, ki je sicer zelo pomembna pri nastanku spojin med fermentacijo, so pomembne tudi fermentacijske razmere: temperatura, koncentracija kisika oziroma vrednost rH, koncentracija ogljikovega dioksida ter sestava mošta (pH, koncentracija skupnega dušika in sestava aminokislin). Selekcijo kvasovk so razvijali v smeri nastanka čim manjših koncentracij hlapnih kislin, predvsem očetne kisline, aldehidov in vodikovega sulfida, torej za kakovost vina čim manj negativnih snovi ter hlapnih kislinskih estrov, ki zmanjšujejo kakovost vina. Sevi kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* na splošno dajejo boljšo kakovost vina kot kvasovke vrst *S. uvarum*, *S. bayanus* in *S. chevalieri*. Pomemben vpliv na fermentacijo ima tudi aminokislinska sestava mošta. Aminokislina imajo pomemben delež pri direktni asimilaciji dušika, so pa tudi prekursorji pri sintezi nekaterih hlapnih snovi, predvsem višjih alkoholov pri alkoholni fermentaciji. Aminokislina predstavljajo od 60 do 90 % vsega dušika v grozdnem soku. Najbolj zastopane aminokislina v grozdnem soku so: prolin, arginin, glutamin, alanin, glutaminska kislina, treonin, serin in α -aminobutanojska kislina, ki predstavljajo okrog 80-90 % vseh aminokislin v grozdju. Različnost sestave aminokislin je odvisna od sorte (kultivarja), letnika, intenzivnosti pridelka (obremenitve trte), načina gnojenja, sestave in obdelave tal, dozorelosti in zdravstvenega stanja grozdja ter mikroklimatskih razmer. Koncentracija aminokislin narašča z dozorevanjem (Košmerl,

2007a).

V začetni fazi fermentacije nastane večina aldehydov, zlasti acetaldehyd in drugi acetali, kot posledica predolge faze prilagajanja (»lag« faze) kvasovk (zaradi neodpornosti na previsoke koncentracije sladkorja in/ali žveplovega dioksida v moštu). V večjih koncentracijah nastanejo aldehydi tudi pri slabi tehnologiji zaradi dostopa kisika, kot posledica delovanja oksidativnih kvasovk ali oksidacije alkohola.

V večjih koncentracijah nastanejo v začetni fazi fermentacije tudi višje maščobne kisline in njihovi estri. Na srečo je malo organskih kislin v vinu hlapnih, da bi bistveno lahko prispevale k vonju vina. Prav tako drugotnega pomena za cvetico so tudi hlapne organske žveplovsebujoče spojine, ki nastanejo med alkoholnim vrenjem v ekstremno majhnih koncentracijah.

Vidimo, da nastaja esencialni del vinske arome med fermentacijo. Poleg etanola, glicerola in višjih alkoholov nastajajo še mnogi drugi produkti metabolizma kvasovk (hlapne in višje maščobne kisline, estri, aldehydi, ketoni in žveplovsebujoče spojine), ki skupaj prispevajo k pestrosti in bogastvu vinske arome. Prav ta velika razlikost v sestavi aromatičnih snovi, odvisna od številnih dejavnikov, daje sortno značilnost in pri potrošnikih vse bolj iskan sadni značaj vina (Košmerl in Kordiš-Krapež, 1996).

2.7.2.1 Aldehydi

Večina aldehydov nastane v začetni fazi alkoholne fermentacije, verjetno z oksidacijo alkoholov, zaradi neugodnih razmer, dolgega čakanja na začetek fermentacije oziroma pri slabi tehnologiji zaradi dostopa zraka ali kot posledica delovanja oksidativnih kvasovk (Košmerl, 2007a).

Acetaldehyd je glavni aldehyd v vinu. V celici kvasovke se tvori iz piruvata, ki nastaja v glikolizi in se izloči v vino, če v začetni fazi alkoholne fermentacije kvasovke še nimajo na voljo dovolj encima alkohol dehidrogenaze, ki reducira acetaldehyd do etanola in jim ta uide skozi celično steno. Nastaja pa lahko tudi po končani fermentaciji s kemijsko in mikrobiološko oksidacijo etanola v acetaldehyd, med zorenjem in skladiščenjem vina. Večje koncentracije acetaldehyda so lahko posledica slabše kakovosti grozdja, slabše zaščite vina pred oksidacijo med postopkom predelave grozdja, pridelave vina in med zorenjem vina. Čim krajša je predfermentacijska faza in pravočasno prvo pretakanje vina, manjši je nastanek stranskih produktov alkoholne fermentacije, zlasti acetaldehyda, saj s tem preprečimo oksidacijo etanola v acetaldehyd. Na tvorbo acetaldehyda vpliva tudi temperatura fermentacije, višja je, burnejša je fermentacija in s tem več molekul acetaldehyda uide skozi celično steno kvasovk, preden se uspejo reducirati v etanol. Pri sekundarni fermentaciji se koncentracija acetaldehyda še poveča (Košmerl, 2007a).

V mladih vinih znaša njegova koncentracija do 75 mg/L, v koncentracijah nad 100 do 125 mg/L pa ima že negativen vpliv na kakovost vina (Bavčar, 2006).

Večje koncentracije acetaldehyda kažejo na večje potrebe po žveplovem dioksidu, da lahko vino ohrani sortno značilnost. Za nevtralizacijo 1 mg acetaldehyda v vinu je potrebno 1,45 mg žveplovega dioksida (Košmerl, 2007a).

2.7.2.2 Višji alkoholi

Višji alkoholi predstavljajo približno 50 % vseh aromatičnih snovi v vinu, če ne upoštevamo etanola (Bavčar, 2006).

Višji alkoholi, maščobne kisline in estri so najpomembnejše spojine, ki nastanejo z delovanjem kvasovk med alkoholno fermentacijo in zato predstavljajo fermentacijsko aromo.

Količinsko prevladujejo višji alkoholi, številčno pa estri. Tvorba *n*-propanola, 2-metil-1-propanola, 3-metil-1-butanola in 2-metil-1-butanola je podobna tvorbi etanola. Nastanek višjih alkoholov je rezultat dekarboksilacije in redukcije ustreznih keto kislin, ki so produkt preoblikovanja aminokislin po Ehrlichovi poti ali razgradnje ogljikovih hidratov. Manj jih nastane po Ehrlichovi poti kot iz ogljikovih hidratov. Količina nastalega metanola v vinu je konstantna med celotno alkoholno fermentacijo, saj je vsebnost metanola odvisna od aktivnosti encima pektinmetilesteraze, ki odcepi zaestrene metilne skupine na poligalakturonskih verigah pektina in tako doseže maksimalno količino že pred začetkom alkoholne fermentacije. Encimska aktivnost je največja med zorenjem grozdja in se nadaljuje pri podaljšani maceraciji (Košmerl, 2007a).

Preglednica 1: Tvorba nekaterih višjih alkoholov iz aminokislin in njihove koncentracije v vinu (Ribéreau-Gayon in sod., 2000)

višji alkohol	aminokislina	koncentracija (mg/L)
3-metil-1-butanol (izoamil alkohol)	levcin	80-300
2-metil-1-butanol (<i>n</i> -amil alkohol)	izolevcin	30-100
2-metil-1-propanol (izobutanol)	valin	50-150
2-feniletanol	fenilalanin	10-100
tirozol	tirozin	20-50
triptofol	triptofan	0-1
γ -butirolakton	glutaminska kislina	0-5
metionol	metionin	0-5

Splošno velja, da izoamilalkohol predstavlja več kot 50 % vseh višjih alkoholov. Zaradi razlik v tehnoloških postopkih imajo bela vina običajno manjšo skupno koncentracijo višjih alkoholov kot rdeča vina (Bavčar, 2006). Skupna koncentracija višjih alkoholov v vinu se giblje v povprečju v mejah 140-420 mg/L (Košmerl, 2007a). V vinih splošno višji alkoholi do skupne koncentracije 350 mg/L še pripomorejo k boljši senzorični kakovosti vina, v večjih koncentracijah pa so lahko sporni ali pa je njihova prisotnost moteča. Lahko so tudi posledica delovanja nezaželenih kvasovk in bakterij (Bavčar, 2006).

2.7.2.3 Hlapne kisline

Hlapne kisline so predvsem očetna, propanojska, butanojska. V vinu jih je relativno malo, da bi prispevale k vonju vina. Z izjemo očetne kisline dosežejo druge hlapne kisline navadno komaj prag zaznave. Po pravilniku o kakovosti vina (Pravilnik o pogojih..., 2004) sme grozdni mošt vsebovati do 1 g/L hlapnih kislin, izraženih kot očetna kislina. Višje maščobne kisline so heksanojska, oktanojska in dekanoska kislina, njihova koncentracija med alkoholno fermentacijo narašča, medtem ko se koncentracija heksadekanojske in oktadekanojske kisline med fermentacijo zmanjšuje (Košmerl in Kač, 2007).

2.7.2.4 Estri

Estri so izrednega pomena za aromatiko vina. V vinu jih najdemo več kot 160, vendar se jih velika večina nahaja v za zaznavo premajhnih koncentracijah ali pa so manj hlapni. Estri nastajajo z reakcijami med karboksilno skupino organskih kislin in hidroksilno skupino alkoholov (alifatski estri) ali fenolov (fenolni estri). Pomembnejši so alifatski, saj je fenolnih estrov manj in so večinoma manj hlapni.

Enako pomembni so tisti, ki so posledica reakcije med očetno kislino in etanolom ali višjimi alkoholi. Pomembnejši je etil acetat, ki je najbolj zastopan ester v koncentracijah med 50 in 100 mg/L (Bavčar, 2006).

Kvasovke tvorijo acetate na enak način kot maščobne kisline. Maščobne kisline se v večjih količinah tvorijo med alkoholno fermentacijo, pred tvorbo ustreznih etilnih estrov. Etilni estri maščobnih kislin narastejo šele pri dovolj veliki koncentraciji etanola. Končna količina maščobnih kislin je dosežena pred koncem tvorbe etanola. Tvorba acetatov prav tako narašča med fermentacijo (Košmerl, 2007a).

Etilni in acetatni estri prispevajo k sadnim in cvetnim aromam vina, z vonjem po banani, zelenih jabolkih, rožah in parfumu (Swiegers in sod., 2005). Na senzorično kakovost vin pomembno vpliva tudi razmerje med estri in višjimi alkoholi (Mateo in sod., 2001).

S primerno tehnologijo in vodenjem alkoholne fermentacije lahko vplivamo na tvorbo večjih koncentracij sadnih estrov v mladih vinih. Nižje koncentracije žveplovega dioksida, bistrenje mošta in odsotnost kisika med fermentacijo pozitivno vplivajo na tvorbo in akumulacijo estrov. Nižje temperature alkoholne fermentacije pospešujejo tvorbo sadnih estrov, predvsem izoamil acetata, izobutil acetata in heksil acetata. Temperature višje kot 15 °C pospešujejo tvorbo več estrov z daljšimi verigami, kot sta etil oktanoat in etil dekanat (Bavčar, 2006).

2.7.2.5 Žveplove spojine

Hlapne organske žveplove spojine, ki nastajajo med alkoholno fermentacijo, so drugotnega pomena za cvetico vina, ker nastajajo v majhnih koncentracijah. Imele bi negativen vpliv na kakovost (Košmerl, 2007a). Ena najbolj znanih hlapnih spojin z žveplom je vodikov sulfid ali žveplovodik (bekser). V koncentracijah nad zaznavo, ki je relativno nizka, 50-80 µg/L, je njegov vonj neprijeten in spominja na gnilo jajce (Bavčar, 2006). Zraven tioetrov, kot sta dimetil sulfid in dietil sulfid, so v nekaterih vinih našli tudi manj hlapne žveplove spojine. Največjo koncentracijo teh komponent je imel tioeter-alkohol 3-(metiltio)-1-propanol (metionol). Glavno vlogo pri tvorbi teh spojin ima prav tako metabolizem kvasovk. Nastanek številnih drugih žveplovih spojin med alkoholno fermentacijo je podoben nastanku etanola. Med drugimi so te spojine poleg metionola še *N*-[3-(metiltio)-propil]-acetamid in 2-metil-tiolan-3-ol (Košmerl, 2007a).

2.7.2.6 Terpenske spojine

Terpenske spojine pripadajo sekundarni rastlinski sestavi, imajo pomembno vlogo pri tvorbi sortne ali primarne arome, njihova biosinteza se začne z acetyl-CoA. Nekateri mikroorganizmi so prav tako sposobni tvorbe terpenskih snovi, vendar nastanka le-teh pri kvasovkah vrste *Saccharomyces cerevisiae* še niso opazili. Monoterpenske spojine sestavljajo primarno aromo vina in so zato primerne pri sortni karakterizaciji vin. Terpenske snovi oblikujejo sortno aromo, zato lahko govorimo o terpenskih vzorcih, ki so značilni za posamezno sorto grozdja in so odvisni od področja rasti. Vsebnost teh spojin se med alkoholno fermentacijo ne spreminja (Košmerl, 2007a).

V moštu ali vinu se nahajajo predvsem kot monoterpenski alkoholi, na primer geraniol, linalool, nerol, citronelol ali kot terpenski oksidi. V takšni obliki so tudi hlapni in prispevajo k vonju vina. Najdemo jih tudi v obliki nehlapnih glikozidov, torej vezanih s sladkorji (Bavčar, 2006).

Preglednica 2: Senzorične lastnosti monoterpenov in njihov senzorični prag zaznave

monoterpen	aroma	senzorični prag ($\mu\text{g/L}$)
geraniol	cvetlična, po vrtnici, po citrusih	132
citronelol	prijetno dišeča, po vrtnicah, po citrusih	100
linalool	cvetlična, sveža, po koriandru	100
nerol	cvetlična, sveža, po zelenem	400
α -terpineol	po španskem bezgu	460

2.7.2.7 Fenolne spojine

Fenolne spojine, kot hlapne spojine v vinu, niso prisotne v grozdju, razen acetovanilina. Tvorijo jih kvasovke, bakterije ali pa nastajajo s hidrolizo višjih fenolov. Npr. hlapna fenola: 4-vinilgvajakol in 4-vinilfenol nastajata iz dveh hidroksicimetnih kislin, *p*-kumarne ali ferulne kisline z encimsko ali termično dekarboksilacijo. Hlapni fenoli zelo vplivajo na aromo vina (Košmerl, 2007a).

2.7.2.8 Dušikove spojine

Hlapne dušikove spojine so tudi proizvod metabolizma kvasovk. V rdečih muškatnih vinih so jih določili v naslednjih mejah: 1-23 mg/L *N*-2-feniletetil-acetamida in 15-72 mg/L *N*-3-metil-butyl-acetamida (Košmerl, 2007a).

2.8 URAVNAVANJE KISLOSTI VINA

2.8.1 Biološki razkis

Biološki ali mlečnokislinski razkis ali jabolčno-mlečnokislinska fermentacija je za alkoholno fermentacijo drugi najbolj znan mikrobiološki proces v vinu. Gre v osnovi za pretvorbo jabolčne kisline v mlečno kislino in ogljikov dioksid pod vplivom mlečnokislinskih bakterij (Bavčar, 2006).

2.8.1.1 Mlečnokislinske bakterije

Mlečnokislinske bakterije (MKB) so grampozitivne bakterije. Njihov primarni produkt metabolizma glukoze je mlečna kislina (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

Na grozdju, v moštu in vinu se nahajajo MKB, ki pripadajo rodovom *Lactobacillus*, *Oenococcus* (do leta 1995 *Leuconostoc*) in *Pediococcus*. Poleg morfologije in razlike med koki ali palčkami jih delimo tudi na homofermentativne in heterofermentativne.

Homofermentativne bakterije tvorijo več kot 85 % mlečne kisline pri metabolizmu glukoze. Heterofermentativne pa proizvedejo ogljikov dioksid, etanol, očetno ter dodatno tudi mlečno kislino (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a). Pomembnejše so slednje, med katere spada tudi najpomembnejša vrsta *Oenococcus oeni* (*Leuconostoc oenos*) (Bavčar, 2006).

Pred alkoholnim vrenjem in med njim večinoma mirujejo. Šele ko je vrenje končano, nekatere izmed njih v zanje ugodnih razmerah začno svoje delovanje (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Nekatere pomembnejše lastnosti MKB so (Bavčar, 2006):

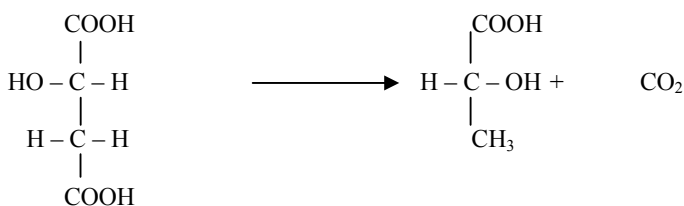
- prisotne so tako na grozdju kot na vinarski opremi,
- njihovo število upade med alkoholno fermentacijo iz 10^3 na 1 celico/mL zaradi občutljivosti na žveplov dioksid, kislost vina in etanola ter zopet naraste po koncu fermentacije na celo 10^8 celic/mL,
- časovno poteka biološki razkis od nekaj dni do nekaj mesecev zaradi pomladanskega segrevanja kleti,
- uspešno rastejo tudi v kislih medijih, na primer *Oenococcus oeni* raste, če je pH vina nad 3,
- glavna reakcija v vinu je sprememba jabolčne kisline (dikarboksilna) z dekarboksilacijo v piruvično, le-te pa z redukcijo v mlečno (monokarboksilna) kislino,

- stehiometrično iz 1 g jabolčne kisline nastane 0,67 g mlečne kisline in 0,33 g ogljikovega dioksida, v praksi je izkoristek le približno 80 %,
- posledično manjša kislost in višji pH izboljšata razmere za rast drugih bakterij,
- kot vir energije minimalno uporabljajo tudi sladkorje, kot sta glukoza in fruktoza, kar vodi v nastanek manitola in oetne kisline,
- kot vir energije je pomembnejša citronska kislina, kar vodi v nastanek acetoina in diacetila,
- etanol omeji rast MKB, toksični vpliv etanola se povezuje s spremembami na celični membrani bakterij. Med MKB je vrsta *Oenococcus oeni* najbolj tolerantna in raste tudi pri 15 vol.% etanola,
- za uspešno rast potrebujejo kompleksno mešanico spojin (vitamini, aminokisline, purin, pirimidin...),
- rastejo v prisotnosti ali odsotnosti kisika.

Za mlečnokislinski razkis se priporočajo temperature med 16 in 20 °C. Višje temperature ga pospešijo. Pri temperaturah nad 20 °C se pospeši, pod 15 °C se jabolčna kislina porablja zelo počasi in pod 10 °C se dekarboksilacija prekine (Bavčar, 2006).

V vinu, ki vsebuje več kot 4 g nepovretega sladkorja na liter, slednjega razgradijo, tako nastane mlečna kislina in cela vrsta večinoma neželenih stranskih produktov, npr. oetna kislina in diacetil. Če v vinu ni ostanka nepovretega sladkorja (pod 4 g/L), bakterije spreminjajo jabolčno kislino v mlečno kislino in CO₂. Tako se skupna kislina v vinu znižuje po biološki poti (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999). MKB pretvorijo *L*-jabolčno kislino izključno v *L*-mlečno kislino (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

Enačba reakcije:



L-jabolčna kislina

L-mlečna kislina

2.8.1.2 Spremembe vonja in okusa

MKB tvorijo aromatične snovi, ki vinu opazno spremenijo karakter. V kolikor je ta sprememba zaželena, smo vinu dodali kompleksnost in dvignili kakovost. Zaradi razlik med delovanjem različnih MKB, vpliva temperature in pH, pa so končne spremembe včasih nepredvidljive. To še posebej velja, če mlečnokislinska fermentacija poteka spontano, torej brez dodatka selekcioniranih bakterij. Predvsem bakterije rodu *Lactobacillus* lahko tvorijo hlapne fenole, kot sta 4-etil-gvajakol in 4-etil-fenol, ki negativno vplivata na vonj. MKB vrste *Oenococcus oeni* se uporabljajo kot najbolj zanesljiv mikroorganizem v smislu minimalne tvorbe nezaželenih spojin.

Najbolj znan vpliv MKB na vonj je tvorba diacetila z vonjem po maslu, ki je v koncentracijah od 1 do 4 mg/L zaželen, v koncentracijah nad 7 mg/L pa moteč in prevlada nad ostalimi vonji. Diacetil nastaja pretežno iz citronske kisline, po trditvah raziskovalcev šele po končani pretvorbi jabolčne v mlečno kislino.

Ostale spojine, ki lahko vplivajo na vonj, so acetaldehid, očetna kislina, acetoin, dietil sukcinat, etilacetat, etil laktat in heksanol (Bavčar, 2006).

2.8.2 Kemijski razkis

Za kemijski razkis uporabimo karbonate, s katerimi posežemo v kemijsko sestavo mošta ali vina. Poseg se odraža v porušenju ravnotežja, ne samo v zmanjšanju kislin sorazmerno s količino dodanega karbonata, temveč v spremembi kompleksnega pojma kislosti, ki poleg vsebnosti skupnih kislin obsega tudi pufno kapaciteto (ki se zmanjša) in vrednost pH ali aktualno kislost (ki se poveča). Glede na to se tudi priporoča uporaba kalcijevega karbonata (CaCO_3) v nekoliko večji količini dodatka v mošt oziroma uporaba kalijevega hidrogenkarbonata (KHCO_3) v vinu za zmanjšanje kislin v manjšem obsegu.

2.8.2.1 Kalcijev karbonat

Najpogosteje uporabljen karbonat je kalcijev karbonat (CaCO_3), katerega uporaba je priporočljiva v kislinsko zelo bogatih moštih ali vinih, z vsebnostjo kislin več kot 9-11 g/L. Ob dodatku CaCO_3 se hitro tvori ogljikova kislina ali CO_2 , kalcijeve soli vinske kisline – tartrati in jabolčne kisline – malati pa kristalizirajo. Glede na topnost nastalih kristalov je jasno, da s o tartrati bistveno manj topni in se zato hitreje izločajo v primerjavi z malati. Kot rezultat tega dejstva je bistveno več izločenih soli vinske kisline, medtem ko preostanejo v vinu soli jabolčne kisline, ki lahko povzročajo nestabilnost vina zaradi preveč kalcija, zlasti v primeru majhne vsebnosti vinske kisline. Pri preobsežnem enojnem kemijskem razkisu s CaCO_3 se lahko poleg nestabilnosti srečamo tudi s slanim okusom ali priokusom po kredi.

2.8.2.2 Kalijev hidrogenkarbonat

Za zmanjšanje kislin v manjšem obsegu se priporoča uporaba kalijevega hidrogenkarbonata (KHCO_3). Iz tega sledi, da ga običajno uporabljamo v mladih vinih, po končani alkoholni fermentaciji, medtem ko le redkokdaj v moštih. Najpogosteje je njegova uporaba povezana z nadaljnjimi tehnološkimi postopki, z ozirom na spremembo pH (npr. zelen biološki razkis vina) ali tik pred stekleničenjem za harmonizacijo ali uravnoteženje. Vsebnost kislin v vinih, ki jih razkisuje s KHCO_3 naj bo med 8 in 10 g/L, vrednost pH pa med 3,0 in 3,1. Značilno je, da KHCO_3 reagira le z vinsko kislino, ob čemer se tvori samo vinski kamen, sestavljen iz kalijevega hidrogentartrata. S KHCO_3 v kleti vedno izvajamo »enojni kemijski razkis«, kar pomeni, da odtehtamo določeno količino karbonata, ga raztopimo v manjši (5–10-kratni) količini mošta in dodamo k celotni količini, ki jo želimo razkisati. Zaradi dobrega premešanja se priporoča, da vino prelijemo preko raztopljenega sredstva. Čas reakcije pri tem razkisu je krajši v primerjavi s CaCO_3 . S hlajenjem vina znatno pospešimo kristalizacijo, v popolnosti pa jo dosežemo le s hladno stabilizacijo, ki traja dva do tri dni pri temperaturi tik nad lediščem vina. Ta podatek nam običajno manjka, tako da se z ozirom na to razlikujejo potrebne količine KHCO_3 za zmanjšanje skupnih kislin za 1 g/L. V kolikor vina hladno ne stabiliziramo, je potrebna

količina od 133 do 135 g/hL (Ribéreau-Gayon in sod., 2000), v primeru popolne hladne stabilizacije pa le 67 g/hL (Košmerl, 2007a).

2.9 BARVA VINA

Za laike je barva vina rdeča, rdečkasta (rosé), rumena (svetlejša ali temnejša). Za poznavalca pa je barva bistveno bolj kompleksna zaznava. Glavni problem pri merjenju barve je izbira objektivno merljivih parametrov. Včasih so uporabljali t.i. »tintometre«, s katerimi so določali in primerjali le en parameter: bodisi intenzivnost barve ali barvni odtenek (nianso). Z razvojem spektroskopije (po letu 1931) je postalo možno bolj natančno definirati barvo tekočin, tudi takih kot je vino.

Poleg antocianinov v rdečih vinih vsebujejo tudi bela vina sledove nekaterih barvil: klorofila, karotena in ksantofila. V hladnih klimatskih razmerah vsebuje grozdje bistveno več klorofila, ki obarva vino zaznavno zelenkasto v primerjavi s svetlo rumeno do rumenkastorjavo (jantarno) barvo vina, ki pomeni, da sledovi klorofila niso opazni.

Barvo opisujemo različno glede na spekter absorbirane in prepuščene svetlobe, pri čemer vse subjektivne zaznave ne pomenijo jasno definirane fizikalne veličine (intenziteta barve, odtenek barve, spekter svetlobe). Človeško oko ni sposobno razlikovati posameznih komponent barve ločeno po valovnih dolžinah, ampak jih zaznamo samo kot celoto. Številna barvila in pigmente v vinu zaznamo običajno kot odtenek barve ali intenziteto barve (Košmerl, 2005).

Na barvo v belih vinih vplivajo ne flavonoidni fenoli. To so predvsem hidroksicimetne kisline, torej kaftarna, *p*-kumarna in fertarna kislina. Po stiskanju te spojine oksidirajo in se vežejo z glutationom. Tako nastane dokaj stabilen kompleks. Počasneje se izločajo flavonoli, zato je njihova prisotnost večja v primeru maceracije bele drozge. Prisotni so tudi katehini, predvsem pa rumeno obarvanost mladih vin dajeta flavonola kvercetin in kamferol. Iz lesenih posod se lahko izločajo tudi drugi ne flavonoidi in skupaj z ligninom vplivajo na barvo belih vin. Zlato rumeni odtenki v zrelih belih vinih so posledica oksidacije fenolnih spojin (Bavčar, 2006).

3 MATERIAL IN METODE DE LA

3.1 MATERIAL

3.1.1 Mošt

Uporabili smo mošt sorte renski rizling (RR) in laški rizling (LR) letnika 2010, Ljutomersko-Ormoškega vinorodnega okoliša. Mošt renskega rizlinga smo razdelili v tri 720 L fermentorje iz nerjavnega jekla, laški rizling pa v dva 720 L in en 540 L fermentor.

3.1.2 Starterske kulture

3.1.2.1 Kvasovke

Uporabili smo naslednje starterske kulture kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*:

LALVIN EC-1118 (Lallemand, 2006a),

- selekcionirana je v pokrajini Champagne v Franciji in validirana s strani CIVC-a (Comité Interprofessionnel du Vin de Champagne),
- dobra odpornost na alkohol (do 18 vol.%),
- zelo dobra flokulacija in sposobnost fermentacije pri nizkih temperaturah,
- uporabna za širše namene (sadna, peneča vina, jabolčnike).

UVAFERM GHM (Lallemand, 2007a)

- izolirana je v pokrajini Rheingau v Nemčiji,
- selekcionirana iz preko 800 naravnih izolatov kvasovk s strani ekipe dr. Manfred Grossmann-a (raziskovalni center Geisenheim),
- številni poskusi fermentacij z GHM v rizlingih in drugih belih aromatičnih sortah v hladnejših pokrajinah so pokazali, da daje harmonična in uravnotežena vina,
- ne proizvaja veliko estrov, niti pri nizkih temperaturah fermentacije,
- vonju da harmonijo in prijetne sadne arome,
- odpornost na alkohol do 14 vol.%,
- ne proizvaja veliko pene,
- je primerna za staranje belih vin in zorenje na drožeh.

UVAFERM CEG (Uvaferm, 2011)

- Selekcionirana na inštitutu Geisenheim, Nemčija,
- primerna za elegantna, sadna, bela vina,
- zelo priporočljiva za mošte z visokim odstotkom sladkorja,
- zanjo je značilna počasna, nežna fermentacija z malo pene in malo nezaželenih stranskih produktov,
- zelo dobre rezultate dosega pri rizlingih,
- majhna produkcija H₂S

- produkcija alkohola do 14 vol.%.

3.1.2.2 Kvasovke in bakterije

Uporabili smo tudi kombinacijo kvasovk in bakterij DUO RIESLING (Lallemand, 2007b), ki vsebuje:

Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae*

Selekcionirana pri Lallemand-u; predvsem za zvečanje cvetlične in sortne arome (limona, grenivka) v aromatičnih belih sortah. Po alkoholni fermentaciji hitro avtolizira (Lallemand, 2007b).

Bakterije vrste *Oenococcus oeni*

Selekcionirana pri Lallemand-u. Ima odlične lastnosti tudi pri težkih razmerah in nizek potencial produkcije maslenih komponent (etil acetat, diacetil), ko jo uporabimo v kombinaciji s kvasovko. Je zelo kompatibilna s kvasovkami in inducira hitro in varno jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo, po-tem ko je alkoholna zaključena (Lallemand, 2007b).

Kombinacija obeh mikroorganizmov v ko-inokulaciji omogoča hitro in zanesljivo jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo po alkoholni fermentaciji. Zagotovljeni morajo biti pogoji fermentacije: temperatura fermentacije nad 14 °C, pH večji od 3,1, vsebnost alkohola pa manj kot 14,5 vol.% (Lallemand, 2007b).

Preglednica 3 prikazuje oznake vzorcev, v katere smo inokulirali posamezne starterske kulture kvasovk in kombinacij kvasovk in bakterij, njihova komercialna imena ter količine dodatka.

Preglednica 3: Oznaka vzorcev, komercialno ime starterske kulture in količina inokuluma.

oznaka vzorca	komercialno ime	količina inokuluma (g/hL)
renski rizling (RR 1)	LALVIN EC-1118	25
renski rizling (RR 2)	UVAFERM GHM	25
renski rizling (RR 3)	DUO RIESLING	25 (kvasovke)+ 1 (mlečnokislinske bakterije)
laški rizling (LR 1)	LALVIN EC-1118	25
laški rizling (LR 2)	UVAFERM CEG	25
laški rizling (LR 3)	DUO RIESLING	25 (kvasovke) + 1 (mlečnokislinske bakterije)

3.1.2.3 Hranila za kvasovke

Preden smo opravili inokulacijo, smo v rehidracijsko vodo dodali Oenostim (30 g/hL), da kvasovkam zagotovimo čim bolj optimalno asimilacijo in pogoje za razmnoževanje in delovanje.

Oenostim (Lamothe-Abiet, 2009):

- aktivator, ki ponuja visoko vsebnost faktorjev za rast in preživetje (oligoelementi, minerali, soli, steroli, lipidi),
- uporabimo ga na začetku pred rehidracijo kvasovk,
- z uporabo teh hranil na začetku omogočimo kvasovkam, da najbolje izkoristijo svoj potencial in potencial grozdja.

V času same fermentacije morajo imeti kvasovke na razpolago potrebne hranilne snovi, ki so potrebne za njihovo rast in metabolno aktivnost (Lallemand, 2007).

V poskusu smo uporabili ThermPhos. To je diamonijev hidrogenfosfat ((NH₄)₂HPO₄). Je vir dušika in hranil, deluje kot uravnalec pH (pufer). Hranila smo uporabili v času fermentacije, ko je bilo v vonju zaznati nepravilnosti. Pri sorti renski rizling smo jih dodali trikrat (20 g/hL, 10 g/hL in 5 g/hL) pri vseh vzorcih. Pri sorti laški rizling pa dvakrat (20 g/hL, 10 g/hL) pri vseh vzorcih in nato še enkrat pri tretjem vzorcu LR 3 (10 g/hL).

3.1.3 Bistrila in čistila vina

3.1.3.1 Bentonit

Bentonit je negativno naelektreno čistilo, namenjeno odstranjevanju termolabilnih ali toplotno nestabilnih beljakovin. Običajno se uporablja v količini 20-150 g/hL. Značilno je, da je bistveno učinkovitejši pri nižjem pH vina, dodatno pa so natrijevi bentoniti najbolj učinkovita oblika. V praksi se pogosto uporablja v kombinaciji z beljakovinskimi čistili, predvsem z želatino in silicijevim dioksidom. Čeprav je priporočljiva temperatura čiščenja med 10-25 °C, je značilno bolj učinkovit pri višjih temperaturah. Velja opozoriti, da pretirana uporaba bentonita v moštu lahko zaradi odstranitve beljakovin vodi v upočasnitev alkoholne fermentacije, njeno predčasno zaustavitev ali tvorbo bekserja (H₂S) (Košmerl, 2007b).

3.1.3.2 Kazein

Kazein je glavna beljakovina mleka s pozitivnim električnim nabojem in veliko molekularno maso. En liter mleka vsebuje približno 30 g kazeina in 10-15 g albumina. Najpogosteje se kazein uporablja za izboljšanje barve oksidiranih belih vin, dodatno pa poleg barve odstrani tudi oksidativni ton. Vpliva na izboljšanje bistrosti, porjavenje in zmanjšanje grenkobe (zlasti dalj časa maceriranih ali starejših vin). Je nežno čistilno sredstvo, bistveno manj učinkovito kot oglje. Ima vpliv tudi na zmanjšanje kovinskih ionov in sicer bakrovih do 45 % ter železovih do 60 %. Značilno je, da je mlečni kazein slabo topen v kislem (za dehidracijo je potrebna voda s pH nad 8), medtem ko kalijev kazeinat

lahko uporabimo direktno v vodi. V obeh primerih je potrebno počasno temeljito mešanje, saj le tako lahko preprečimo prečiščenje (da preostane nezreagirano sredstvo v vinu) (Košmerl, 2007b).

3.1.3.3 Polivinilpolipirolidon

PVPP (polivinilpolipirolidon) je sintetični polimer, ki predstavlja najbolj specifično čistilno sredstvo, ki veže nase nizkomolekularne fenole, kot so monomerne in dimerne molekule (katehini, antocianini). Značilno je da ima PVPP zelo veliko površino in zato veliko adsorptivnost, sama sedimentacija pa je hitra. PVPP je netopen v vinu, zato se fenolne molekule adsorbirajo na njegovo površino in v obliki oborine usedejo. Vezava poteka preko karbonilne skupine PVPP s hidroksilno skupino fenolov (električni naboj PVPP ne prispeva k vezavi).

PVPP je nežno čistilno sredstvo, ki bistveno manj osiromaši aromo vina v primerjavi z drugimi čistilnimi sredstvi. Uporablja se za odstranjevanje barvnih snovi (pri porjavitvi in rožnatem obarvanju belih vin), za zmanjšanje grenkobe v belih in rdečih vinih ter za odstranjevanje določenih tujih vonjev (npr. oksidativnega tona).

Običajno se ga dodaja v količini 10-70 g/hL za bela vina oziroma 10-20 g/hL za rdeča vina (Košmerl, 2007b).

3.1.4 Kemikalije in reagenti

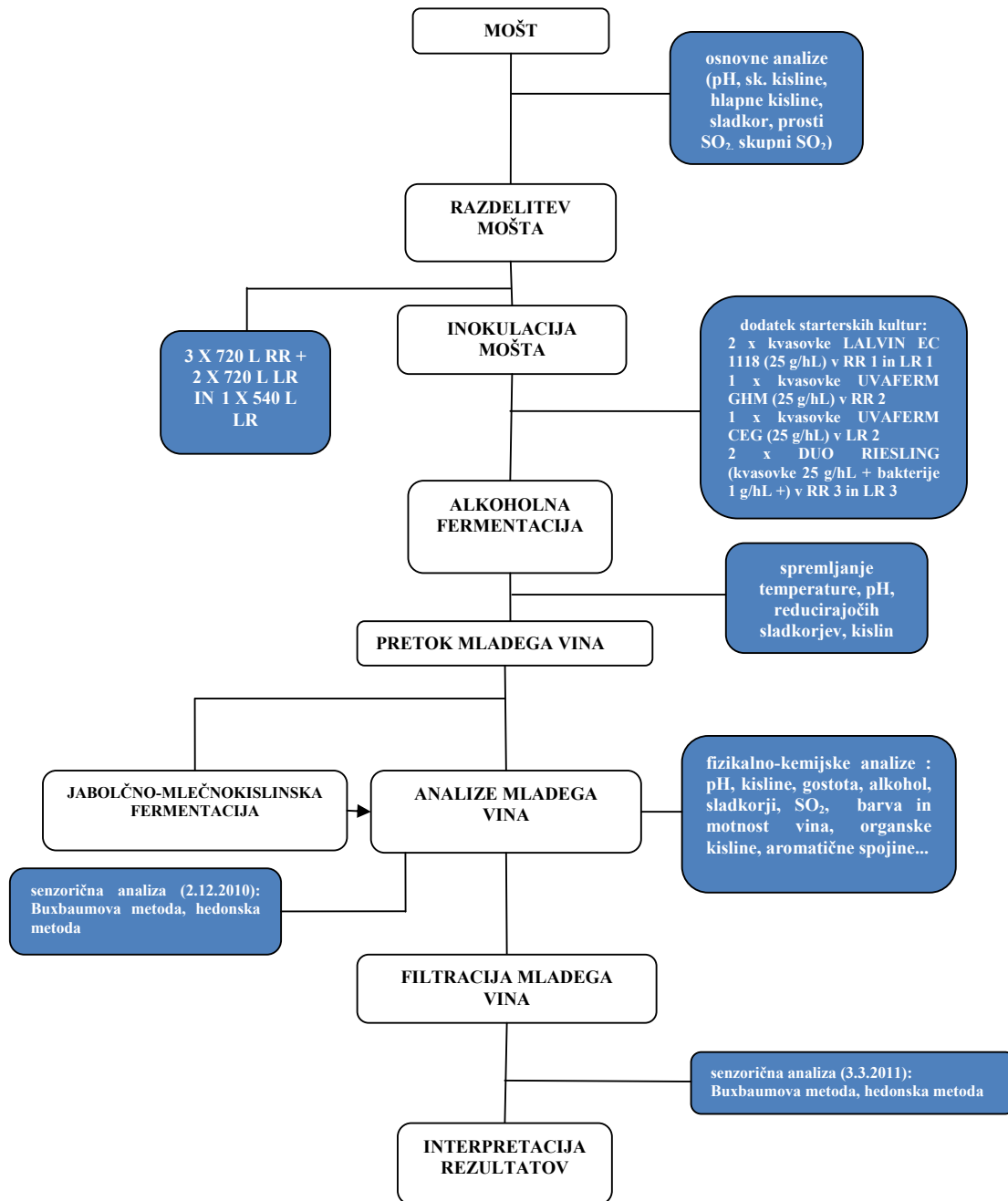
V moštu in kasneje mlademu vinu smo uporabili naslednje kemikalije in reagente:

- citronska kislina ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) (Jungbunzlauer, Avstija) za pripravo 1 % raztopine citronske kisline,
- NaOH (Merck) za pripravo 2 % raztopine,
- očetna kislina (Merck),
- bakrov sulfat (Carlo Erba),
- jabolčna kislina (Merck),
- jantarna kislina (Merck),
- vinska kislina (Caviro Distillerie) in vinska kislina (Merck),
- škrobovica (Merck),
- raztopina joda (Merck),
- Oenostim (Lamothe-Abiet, Francija),
- diamonijev hidrogenfosfat (ThermPhos, Nemčija),
- benton extra (Pall filtration & separation, Verona, Italija),
- žveplova(VI) kislina (Merck),
- kazein (Everintec kazein, Italija),
- PVPP (AEB group Sežana, Slovenija)

3.1.5 Pribor in oprema

Pri analizah mošta in kasneje pri analizah mladega vina smo uporabljali naslednji pribor in opremo:

- pH meter₁ v laboratoriju za vinarstvo v Ljubljani (znamke Mettler Toledo DL 50 Graphix, s skalo v pH enotah), kombinirana steklena elektroda (znamke METTLER TOLEDO, DG 114-SC, 0-14 pH, 0-70 °C, 3M KCl (AgCl sat.)),
- pH meter₂ v laboratoriju v Ormožu (TITRINO 716 DMS),
- Refraktometer (znamke REF 520, 4 skale (0-35 % Brix, AP 0-22, °Oe 0-150, *KMW 0-25), proizvajalca Silverado Trading Company, Kitajska
- Denzimeter (znamke METTLER TOLEDO, DE 45),
- Nefelometer (znamke HACH 2100AN TURBIDIMETER),
- Ionsko izmenjevalna kolona (znamke AMINEX HPX-87 H),
- Plinski kromatograf z masno-spektrometričnim detektorjem (znamke HP 589 Series z masno-spektrometričnim detektorjem 6890, Hewlett-Packard),
- Destilacijska naprava (znamke GIBERTINI VADE 3),
- Celulozno acetatni filter 0,45 µm (znamke Sartorius),
- plinski kromatograf z masno-spektrometričnim detektorjem (HP 5890 Series z masno-spektrometričnim detektorjem (MSD) 6890, Hewlett-Packard)



Slika 1: Shematski prikaz poteka poskusa

3.2 METODE DELA

3.2.1 Nastavitev fermentacijskega poskusa

Cisterne smo najprej očistili s citronsko kislino (2 kg), kalijevim metabisulfitom (2 dag), ostalo do konca 720 L pa dolili z vodo.

Vse ventile smo namočili v lug (NaOH) za 1 h, splaknili z vodo, ter nevralizirali s citronsko kislino in metabisulfitom ter splaknili z vodo.

Mošt renskega in laškega rizlinga smo po razsluzu v vakuum filtru pretočili v fermentorje; in sicer:

- renski rizling, 3 x 720 L,
- laški rizling, 2 x 720 L in 1 x 540 L.

Mošt smo nato segreli na 18 °C. Dodali smo jim starterske kulture kvasovk s hrano (Oenostim), ki smo jih pripravili po navodilih proizvajalca. Čez eno uro smo v RR 3 in LR 3 dodali tudi starterske kulture bakterij.

3.2.2 Fizikalno kemijske analize mošta in vina

Dnevne analize (merjenje sladkorja, skupnih kislin, temperature) in analize mošta sem opravil v laboratoriju kleti v Ormožu, ostale analize pa v laboratoriju za vinarstvo Katedre za tehnologije, prehrano in vino na Biotehniški fakulteti v Ljubljani.

3.2.2.1 Določanje pH mošta in vina

Merili smo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini (Košmerl in Kač, 2007).

3.2.2.2 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v moštu in vinu

Za določanje skupnih (titrabilnih) kislin v moštu in vinu smo uporabili potenciometrično metodo (Košmerl in Kač, 2007). Pri kislinsko-bazni potenciometrični titraciji smo merili razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Za merjenje smo uporabili kombinirano stekleno elektrodo (združeni merilna in referenčna elektroda).

Na avtomatskem titratorju je potekla titracija z 0,10110 M raztopino NaOH do končne točke titracije pH = 7,0 oziroma pH = 8,2. Pri dodajanju baze je potekla reakcija:



Masno koncentracijo skupnih (titrabilnih) kislin (g vinske kisline/L) izračunamo po naslednjih formulah:

$$\text{TK}_1 (\text{g/L}) = \frac{a_1 (\text{mL}) \cdot c \cdot M (\text{g/mol})}{v (\text{mL}) \cdot n} \approx a_1 (\text{mL}) \cdot 0,9 \quad \dots(2)$$

oziroma

$$\text{TK}_2 (\text{g/L}) = \frac{a_2 (\text{mL}) \cdot c \cdot M (\text{g/mol})}{v (\text{mL}) \cdot n} \approx a_2 (\text{mL}) \cdot 0,9 \quad \dots(3)$$

$$a_3 = a_1 + a_2 \quad \dots(4)$$

3.2.2.3 Določanje kislodelujočih soli

Koncentracijo kislodelujočih soli smo izračunali po formuli:

$$\text{Kislodelujoče soli (mg/L): } (\text{SK (g/L)} - \text{TK (g/L)}) \cdot 1000 \quad \dots(5)$$

Legenda:

a_1 - volumen porabljene razt. baze pri titraciji do pH 7,00 (mL)

a_2 - volumen porabljene razt. baze od pH 7,00 do pH 8,20 (mL)

a_3 - celokupna poraba razt. baze pri titraciji do pH 8,20 (mL)

c - koncentracija razt. baze (0,10110 M)

M - molska masa vinske kisline (150,09 g/mol)

v - volumen vzorca (25 mL)

n - molsko razmerje kemijske reakcije med NaOH in vinsko kislino ($n = 2$)

3.2.2.4 Določanje sladkorne stopnje mošta

Sladkorno stopnjo mošta smo določili z digitalnim refraktometrom. Točnost meritve aparata je bila ± 1 °Oe (Košmerl in Kač, 2007).

3.2.2.5 Določanje reducirajočih sladkorjev

Koncentracijo sladkorjev v moštu in vinu smo določili po Rebeleinu (1973). Reducirajoči sladkorji reducirajo divalentni bakrov ion iz sulfatne raztopine v bakrov(I) oksid. Iz raztopine se izloči oborina netopnega bakrovega(I) oksida. Preostali Cu^{2+} ioni se v

raztopini kalijevega jodida v kislem (dodatek žveplove(VI) kisline) reducirajo, nastali jod pa titrimetrično določimo z raztopino natrijevega tiosulfata v prisotnosti škrobovice kot indikatorja. Koncentracijo reducirajočih sladkorjev smo odčitali direktno z birete ob upoštevanju slepega vzorca (to vrednost smo odšteli od rezultata) (Košmerl in Kač, 2007).

3.2.2.6 Določanje hlapnih kislin

Hlapne kisline v vinu smo določili z destilacijsko metodo (Košmerl in Kač, 2007). Po destilaciji vzorca z vodno paro sledi titracija destilata s standardizirano vodno raztopino natrijevega hidroksida. Rezultat smo izrazili kot masno koncentracijo očetne kisline (g/L):

$$HK = a \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)} \cdot (50/1000) \approx a \cdot 0,3 \quad \dots(6)$$

Legenda:

HK - koncentracija hlapnih kislin, izraženih kot očetna kislina (g/L)

a - poraba titranta (mL)

c - koncentracija NaOH (0,099009 mol/L)

50 - razredčitveni faktor

M - molska masa očetne kisline (60,05 g/mol)

3.2.2.7 Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu

Termostatiranim vzorcem vina (20 °C) smo izmerili relativno gostoto z denzimetrom. Nato smo točno določen volumen (100 mL) ponovno termostatiranega vzorca predestilirali z destilacijsko napravo v 100 mL merilno bučko. Po destilaciji smo dobljeni alkoholni destilat termostatirali in izmerili njegovo relativno gostoto z denzimetrom. Poleg relativne gostote smo odčitali tudi koncentracijo (volumski delež) alkohola.

Relativno gostoto skupnega ekstrakta vina smo izračunali s pomočjo Tabariéjevega obrazca:

$$d_{SE} = d_V - d_A + 1,0000 \quad \dots(7)$$

Legenda:

d_{SE} - relativna gostota skupnega ekstrakta vina

d_V - relativna gostota vzorca vina

d_A - relativna gostota alkoholnega destilata

Na podlagi znane relativne gostote skupnega ekstrakta vina (d_{SE}) smo iz preglednice za izračun masne koncentracije skupnega suhega ekstrakta (g/L) iz relativne gostote d_{SE} pri 20 °C odčitali masno koncentracijo skupnega ekstrakta v vinu (g skupnega ekstrakta/L vina) (Košmerl in Kač, 2007).

3.2.2.8 Določanje barve vina

Obarvanost vzorcev vina smo izmerili direktno (brez razredčitve) s spektrofotometrom pred in po filtraciji vzorca skozi 0,45 µm celulozno acetatni filter (Košmerl in Kač, 2007).

Vzorec smo odpipetirali direktno v kvarčno kiveto in merili absorbanco pri valovni dolžini 420 nm in absorpcijski spekter v območju valovne dolžine od 400 do 440 nm proti slepemu vzorcu (voda).

Intenziteta barve: $I = A_{420}$

3.2.2.9 Določanje žveplovega dioksida v vinu po Ripperju (1971)

Določanje prostega in skupnega žveplovega dioksida (SO₂) po Ripperjevi metodi temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda (I₂).

Za določitev koncentracije prostega SO₂ vzorec vina najprej nakisamo z dodatkom žveplove(VI) kisline (s tem zmanjšamo oksidativni vpliv vina, predvsem polifenolnih spojin pri titraciji z raztopino joda), dodamo indikator (škrobovico) in titriramo s standardno raztopino joda. Jod oksidira žveplove(IV) kislino v žveplove(VI) kislino in v končni točki titracije (tj. tik po ekvivalentni točki) prebitna količina joda obarva raztopino modro.

Za določitev koncentracije skupnega SO₂ pa vzorcu vina najprej dodamo 1 M raztopino NaOH, da dosežemo hidrolizo vezanega SO₂, tj. acetaldehid- α -hidriksisulfonata in drugih bisulfitnih kompleksov. Nato sledi dodatek ostalih reagentov in jodometrična titracija, kot pri določanju prostega SO₂ (Košmerl in Kač, 2007).

Reakcija oksidacije žveplove(IV) kisline v žveplove(VI) kislino:



3.2.2.10 Motnost vina

Motnost vina merimo z turbidimetrom. Turbidimeter, ki opravlja meritve pri sipanju svetlobe pod kotom 90°, imenujemo nefelometer. Nefelometer izmeri motnje potovanja svetlobe skozi tekočino, ki jih povzročijo delci v tekočini. Meritve zapisujemo v obliki NTU enot (nephelometric turbidity units).

Motnost smo izmerili z nefelometrom.

3.2.2.11 Določanje koncentracije organskih kislin

Koncentracijo vinske, jabolčne, mlečne in jantarne kisline smo določili z visokoločljivostno tekočinsko kromatografijo (HPLC) (Kordiš-Krapež, 1996).

Vzorce vina smo pred analizo filtrirali skozi membranski filter z velikostjo por 0,2 μm in jih injicirali na kolono. Ločitev organskih kislin je potekala na ionsko izmenjevalni koloni AMINEX HPX-87 H. Ločene organske kisline smo detektirali na UV detektorju pri valovni dolžini 210 nm.

Kromatografski pogoji:

- temperatura kolone: 65 °C,
- mobilna faza: 0,0125 M H₂SO₄,
- pretok mobilne faze: 0,5 mL/min,
- volumen injiciranja: 20 µL,
- razplinjevalnik: Jour Research, X-act,
- črpalka: Knauer, Maxi Star K-1000,
- kolona: Bio-Rad, Aminex HPX-87 H, 300 mm × 7,8 mm,
- avtomatski podajalec vzorcev: Spark Holland, Marathon-XT,
- detektor: UV-VIS, Knauer,
- zapis signala: programska oprema Eurochrom 2000.

Za pripravo standardov smo uporabili naslednje kemikalije: vinska kislina (1.00804 mol/L), jabolčna kislina (1.00382 mol/L), jantarna kislina (1.00682 mol/L). Rezultate smo izrazili kot masno koncentracijo vinske, jabolčne in jantarne kisline v g/L.

3.3.2.12 Določanje hlapnih spojin in višjih alkoholov

SPME procedura ("solid phase microextraction")

Uporabili smo SPME vlakno z DVB ("bipolar divinylbenzene")/CAR ("carboxen")/ PDMS ("polymethylsiloxan") fazo (debelina filma 50/30 µm, Supelco). Vino (5 mL) smo odmerili v 20 mL plinotesno vialo, jo neprodušno zaprli in termostatirali 15 min pri 50 °C. SPME vlakno smo nato izpostavili plinski fazi nad vzorcem (*headspace*) ter vzorčili spojine 35 min. Zatem smo vlakno vstavili v injektor plinskega kromatografa in ga desorbirali 10 min.

GC-MS metoda ("gas chromatography–mass spectrometry")

Hlapne spojine arome smo analizirali s plinskim kromatografom z masno-spektrometričnim detektorjem. Temperaturni program na koloni VOCOL (dimenzije 60 m x 0,25 mm (i.d.), debelina filma 1,5 µm, Supelco): 50 °C (2 min) - 10 °C/min - 210 °C (40 min). Temperatura injektorja je bila 250 °C, temperatura detektorja pa 280 °C. Masno-spektrometrični detektor: uporabili smo ionizacijo z elektroni (EI), kromatograme smo snemali v načinu "polni ionski tok" (*total ion current*, TIC). Spojine smo identificirali na osnovi retencijskih časov (primerjava s standardi) in masnih spektrov ob uporabi računalniške knjižnice EI-MS spektrov (NIST02). Ploščino kromatografskega vrha smo izmerili v TIC kromatogramu.

3.2.3 Senzorične analize vina

Senzorična analiza je znanstvena disciplina o merjenju in vrednotenju lastnosti živil s čutili (Košmerl, 2005). Cilj senzorične analize je definirati posamezne senzorične lastnosti ter zagotoviti pomembne in uporabne informacije različnim profilom živilske stroke, tako tistim, ki izdelek razvijajo, kot tudi tistim, ki imajo kot potrošniki možnost vplivati na senzorične lastnosti izdelka (Golob in sod., 2006).

3.2.3.1 Organoleptično ocenjevanje vina

Vzorci vina smo po končanih analizah senzorično ocenili. Ocenjevanje je potekalo dvakrat; prvič takoj po pretoku mladega vina, drugič pa po grobi filtraciji. Uporabili smo dve metodi ocenjevanja:

- 20-točkovno metodo (po Buxbaumu)
- hedonsko ocenjevanje.

3.2.3.1.1 Buxbaumova metoda

Buxbaumova metoda je 20-točkovni sistem ocenjevanja, pri katerem ocenjujemo bistrost (največ 2 t), barvo (največ 2 t), vonj (največ 4 t), okus (največ 6 t) in harmonijo (največ 6 t) mladega vina.

Bistrosti vina nismo ocenjevali, ker je vino bilo še nepretočeno in neprefiltrirano. Z nagibanjem kozarca smo ocenili barvo vina, kjer smo opazovali odtenke barv (rumenkasto, zeleno, slamnato, zlato ali jantarno), in intenzivnost barve (bleda, vodena, srednja ali intenzivna).

Nato smo ocenili vonj vina tako, da smo vino povohali najprej v mirujočem kozarcu (pred vrtenjem), pri čemer smo bili pozorni predvsem na vrsto (hlapne aromatične sestavine) in intenzivnost (šibka, srednja ali izražena) vonjev. Zatem pa smo zavrteli kozarec, s čimer smo pospešili sproščanje aromatičnih sestavin, in vino povohali z nosom globlje v kozarcu ter primerjali vrsto in intenzivnost vonjav v primerjavi s prvo zaznavo.

Sledilo je okušanje vina (zaznave v ustih), pri katerem smo okušali manjše količine (6-10 mL), s katerim smo prekrili celotno ustno votlino – površino jezika, lica in nebo. Pozorni smo bili na časovni pojav zaznav posameznega okusa (sladko, kislo, grenko), trajanje zaznave, obstojnost ali perzistenco ter na spremembe v zaznavi in intenzivnosti okusa. Temu je sledila taktilna ali tipna zaznava trpkosti (astringence), zbadanja ali pikanja (npr. CO₂), polnosti, ekstraktnosti, temperature in toplote vina. V tej fazi se je ponovno pojavila zaznava vonja vina kot posledica višje temperature v ustih, pri čemer smo bili pozorni predvsem na vrsto, razvoj in trajanje intenzivnosti vonjav v primerjavi samo z vohanjem vina. Nato smo opisali še pookus vina – to je vonj, ki ga zaznamo, če po 15-30 sekundah vdihnemo zrak v pljuča (hlape vina), popijemo ali izpljunemo požirek v pljuvalnik ter izdahnemo ogrete hlape skozi nos.

Glede na splošni ali končni vtis pa smo vino ocenili s harmoničnostjo (Košmerl, 2005).

3.2.3.1.2 Hedonsko ocenjevanje

Ta metoda ocenjuje stopnjo ugajanja vzorca pokuševalcu. Uporabili smo hedonsko ocenjevanje in sicer lestvico všečnosti (od 1 - 5; in sicer 1 - najmanj všeč, 5 - najbolj všeč) (Golob in sod., 2006).

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 REZULTATI ANALIZ MOŠTA

V spodnji preglednici so prikazani rezultati analiz mošta sorte renski in laški rizling, ki je bila opravljena pred pričetkom fermentacijskega poskusa v laboratoriju ormoške kleti.

Preglednica 4: Rezultati analiz mošta renski in laški rizling.

parameter	renski rizling	laški rizling
pH (/)	3,15	3,30
sk. kisline (g/L)	8,58	6,18
hlapne kisline (g/L)	0,13	0,09
sladkor (°Oe)	85	73
prosti SO ₂ (mg/L)	4	11
skupni SO ₂ (mg/L)	50	45

Nadaljnji časovni potek aktivnosti je bil sledeč:

11.10. 2010 smo moštu sorte renski rizling dodali starterske kulture kvasovk (25 g/hL). Pri vzorcih RR 1 in RR 3 se je fermentacija pričela takoj drugi dan, pri vzorcu RR 2 pa smo zaradi težav s termostatom (grozdni sok se je ohladil na 8 °C) morali kvasovke nacepiti še enkrat. Fermentacija se je pričela 14.10.2010.

14.10.2010 smo še moštu sorte laški rizling dodali starterske kulture kvasovk (25 g/hL). Fermentacija se je pri vseh vzorcih pričela takoj naslednji dan.

15.10.2010 je bil v vse vzorce dodan diamonijev hidrogenfosfat (DAP); in sicer v količini 20 g/hL, zaradi zaznave tujih vonjev med fermentacijo. Naslednji dan smo dodali še 10 g/hL, prav tako v vse vzorce.

19.10.2010 je bil pri sorti renski rizling dodan v vse tri fermentorje bentonit (benthon extra) in sicer 20 g/hL. Isti dan je bil storjen pretok pri sorti laški rizling; in sicer pri vzorcih LR 1 in LR 2.

23.10.2010 je bil pri sorti renski rizling storjen pretok in kemijski razkis; in sicer je bilo dodanega 67 g/hL kalijevega hidrogenkarbonata (KHCO₃) za znižanje vinske kisline za 1 g/L. RR 1 smo žveplali z 7 g/hL žveplove(IV) kisline. Pretočili smo tudi vzorec LR 1 in ga žveplali z 7 g/hL žveplove(IV) kisline.

27.10.2010 smo pri sorti renski rizling pri vzorcu RR 1 dodali 20 g/hL kazeina in 10 g/hL PVPP.

29.10.2010 je bil storjen pretok pri vzorcih RR 1, RR 3 in LR 3. Vzorec RR 1 smo dožveplali z 4 g/hL, vzorca RR 3 in LR 3 pa z 8 g/hL žveplove(IV) kisline.

31.10.2010 smo pretočili vzorca RR 2 in LR 2 ter žveplali z 8 g/hL žveplove(IV) kisline.

26.11.2010 je bilo potrebno dožveplati vzorce sorte renski rizling, saj je bilo premalo prostega SO₂. Dodali smo 7,5 g/hL žveplove(IV) kisline.

Pri obeh sortah je bil 3.12.2010 opravljen pretok in dodano je bilo 20 g/hL bentonita.

6.12.2010 je bila vsem vzorcem dodana žveplova(IV) kislina; in sicer pri sorti renski rizling 8 g/hL pri vseh vzorcih, vzorcema LR 1 in LR 3 8 g/hL, vzorcu LR 2 pa 5 g/hL žveplove(IV) kisline.

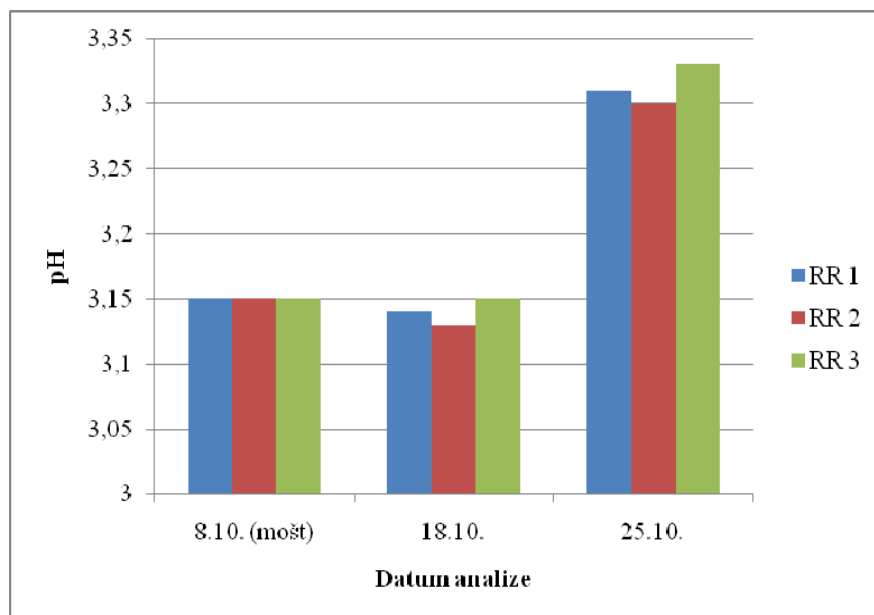
4.2 REZULTATI ANALIZ MOŠTA MED FERMENTACIJO

4.2.1 pH

V bioloških sistemih je določitev koncentracije oziroma aktivnosti H₃O⁺ ionov, ki jo izražamo kot pH, pomembnejša kot podatek o skupnih (titrabilnih) kislinah. Vpliv H₃O⁺ ionov se kaže v selektivnem delovanju na mikroorganizme, v intenzivnosti in odtenku barve, okusu, oksidacijsko-redukcijskem potencialu, razmerju med prostim in vezanim žveplovim dioksidom, v občutljivosti za pojav motnosti (zaradi železovih spojin), idr.

Vrednost pH mošta normalnih trgatev je med 3,1 in 3,6; za desertna vina med 3,4 in 3,8. Običajno je pH vina manjši od 3,6. Praviloma je pH mladega vina (brez ogljikovega dioksida) večji od pH mošta, iz katerega je vino pridelano (Košmerl in Kač, 2007).

4.2.1.1 Renski rizling

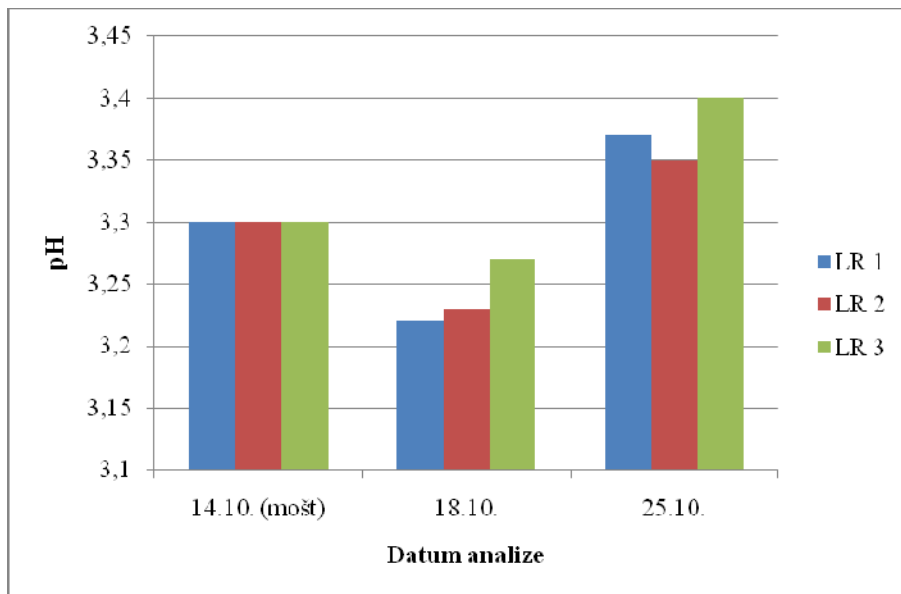


Slika 2: Vrednost pH sorte renski rizling v začetku in med fermentacijo.

Slika 2 kaže, da je bil pH mošta 3,15. Tekom fermentacije se je pH najprej znižal. Del lahko pripišemo raztopljenemu CO₂, ki je morda kljub razplinjevanju motil analize in vplival na večjo koncentracijo skupnih kislin. Del pa na povečano sintezo organskih kislin

s strani kvasovk, ki niso bile zadostno prilagojene na razmere mošta. Pri drugi analizi med fermentacijo (25.10.) je vidno povečanje vrednosti pH pri vseh vzorcih. To je posledica kemijskega razkisa, ki je bil storjen dva dni prej (zaradi previsokih kislin), in sicer znižanje za 1 g/L vinske kisline. Dodali smo kalijev hidrogenkarbonat (KHCO_3); in sicer 67 g/hL, kar zadostuje za znižanje vinske kisline za 1 g/L. Dejstvo je tudi, da je fermentacija šla proti koncu in se je koncentracija raztopljenega CO_2 v vinu zmanjšala.

4.2.1.2 Laški rizling



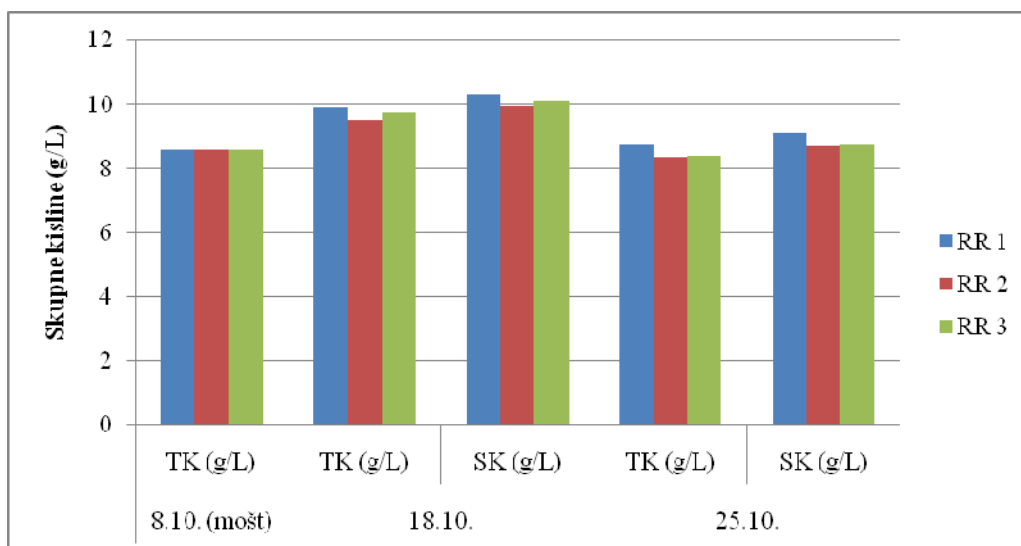
Slika 3: Vrednost pH sorte laški rizling v začetku in med fermentacijo.

Slika 3 kaže, da je bil pH mošta 3,30. Pri prvem merjenju se je pH pri vzorcu LR1 in LR2 opazno zmanjšal, pri LR 3 pa le znatno. Podobno kot pri sorti renski rizling lahko sklepamo da se je vrednost pH znižala zaradi raztopljenega CO_2 ter tvorbe kislin v TCA-ciklu. Proti koncu fermentacije se je po pričakovanjih pH- vrednost povečala.

4.2.2 Skupne kisline

Grozdje vsebuje znatne količine različnih šibkih karboksilnih kislin. Med dozorevanjem je značilno zmanjševanje koncentracije kislin in s tem posledično večanje pH. Vsebnost karboksilnih kislin izražamo kot množino vinske kisline na liter mošta oziroma vina, glede na določanje (pH končne točke titracije) pa sta v uporabi izraza skupne kisline in titrabilne (titracijske) kisline. Prevladujoče organske kisline grozdnega soka in mošta so: vinska, jabolčna in citronska kislina. Med alkoholno fermentacijo in po njej nastajajo še: očetna, propionska, piruvična, mlečna, jantarna, glikolna, galakturonska, glukonska, oksalna in fumarna kislina. Skupna vsebnost karboksilnih kislin v grozdnem soku, moštu in vinu, če jo izrazimo kot g vinske kisline/L vzorca, je med 6 in 9 g/L. V hladnih klimatskih področjih je vsebnost kislin večja (Košmerl in Kač, 2007).

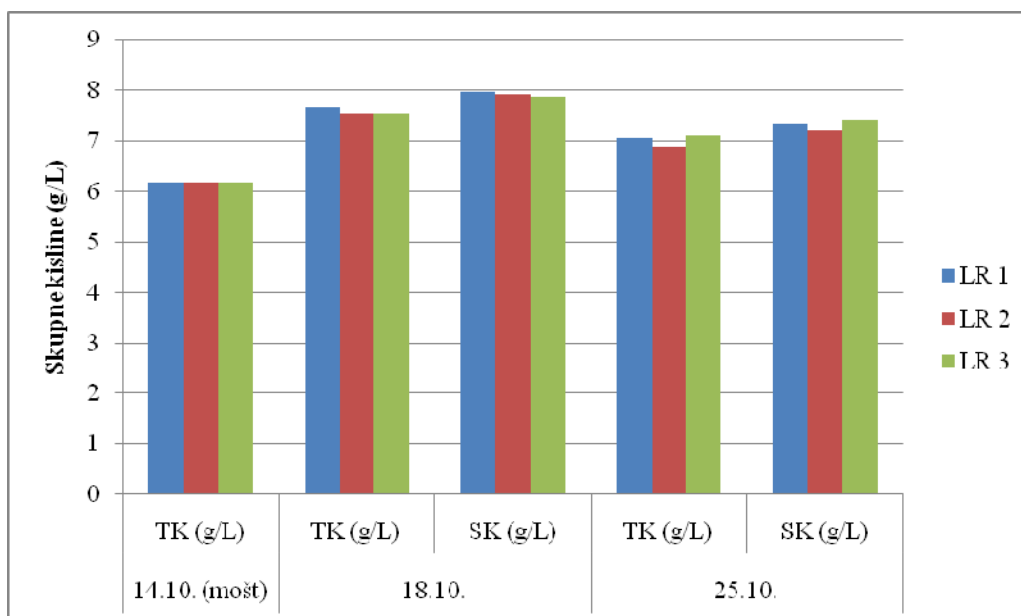
4.2.2.1 Renski rizling



Slika 4: Spreminjanje vsebnosti skupnih – SK in titrabilnih kislin – TK (g/L) sorte renski rizling med fermentacijo.

Začetna koncentracija skupnih kislin mošta je bila 8,58 g/L. Slika 4 kaže, da so se med fermentacijo pri vseh vzorcih skupne in titrabilne kisline najprej povečale. To je verjetno posledica raztopljenega CO₂, ki v raztopljeni obliki vpliva na koncentracijo kislin, ter tvorbe novih kislin v ciklusu trikarboksilnih kislin (TCA-ciklu). To nam dokazuje tudi nizek pH (slika 2). Pri merjenju kislin 25.10. je koncentracija kislin manjša, saj je bil 23.10. v vseh vzorcih opravljen kemijski razkis (za znižanje kislin v obsegu 1 g/L).

4.2.2.2 Laški rizling



Slika 5: Spreminjanje vsebnosti skupnih – SK in titrabilnih – TK kislin (g/L) sorte laški rizling med fermentacijo.

Začetna koncentracija titrabilnih kislin mošta je bila 6,18 g/L. Slika 5 nam kaže, da so se med fermentacijo pri vseh vzorcih skupne in titrabilne kisline najprej povečale. To lahko pojasnimo s tvorbo novih kislin v ciklusu trikarboksilnih kislin (TCA-ciklu) med samo fermentacijo.

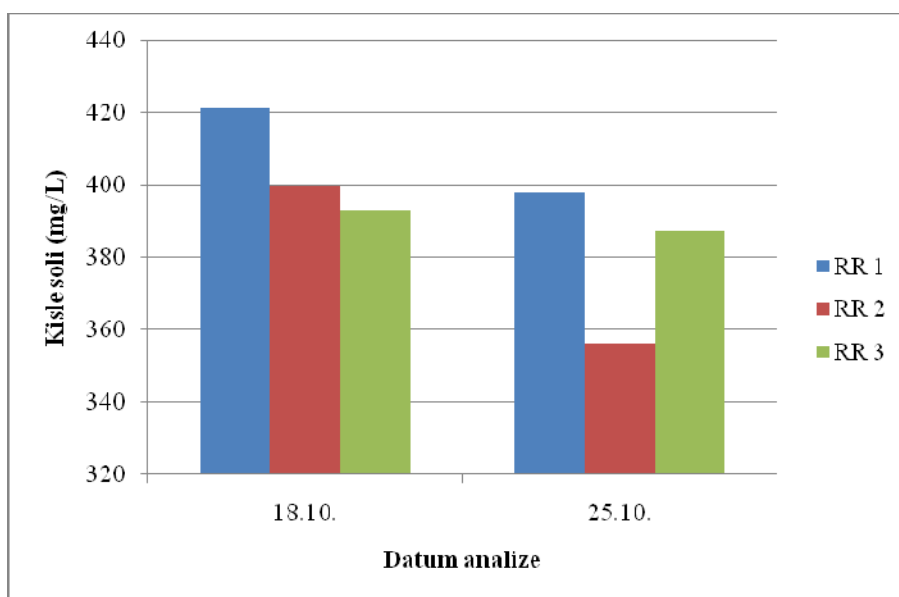
Pri vseh vzorcih RR in LR je vidno, da so se skupne kisline tekom fermentacije rahlo povečale; kar pomeni, da je bila sinteza kislin v TCA-ciklu večja, kot je bila tvorba kristalov (KHT) in s tem izločanje kisline v obliki vinskega kamna. To je dokaz, da je bilo pri obeh vzorcih zelo slabo grozdje oz. mošt ter da je fermentacija potekala oteženo.

4.2.3 Kisle soli

Kisle soli se tekom fermentacije in zorenja vina zmanjšujejo zaradi večje koncentracije alkohola in manjše topnosti soli.

Za oceno vsebnosti kislih soli smo uporabili razliko v masni koncentraciji skupnih kislin (do pH 8,2) in titrabilnih kislin (do pH 7,0) (Košmerl, 2005).

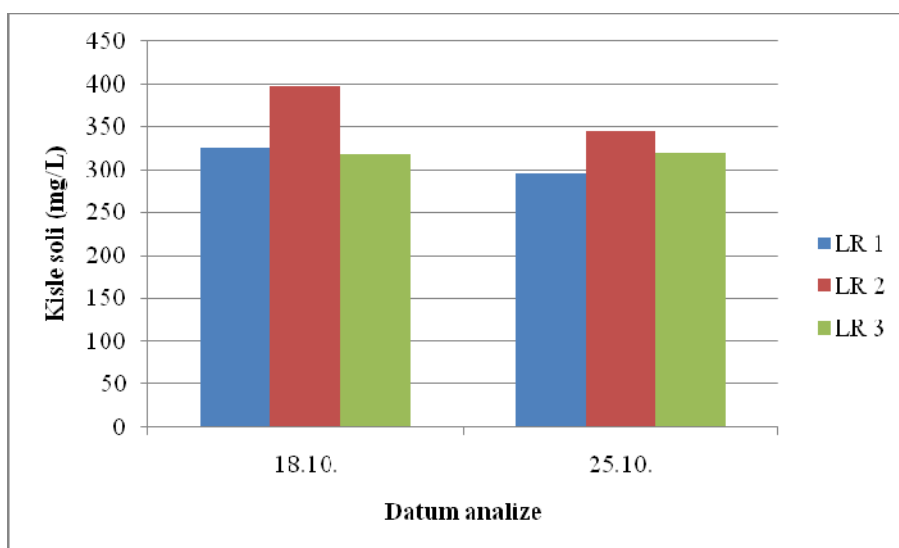
4.2.3.1 Renski rizling



Slika 6: Spreminjanje vsebnosti kislinskih soli (mg/L) sorte renski rizling med fermentacijo.

S slike 6 je razvidno, da se koncentracija kislinskih soli pri vseh vzorcih tekom fermentacije zmanjšuje. To je posledica naraščanja koncentracije alkohola in s tem manjše topnosti soli, ki se izločajo na stene posode ali sedimentirajo.

4.2.3.2 Laški rizling



Slika 7: Spreminjanje vsebnosti kislinskih soli (mg/L) sorte laški rizling med fermentacijo.

V primerjavi s sorto renski rizling je pri teh vzorcih vina laški rizling koncentracija kislinskih soli manjša (slika 7), in temu primerno tudi manjše zmanjšanje pri drugi meritvi (25.10.).

4.2.4 Glicerol

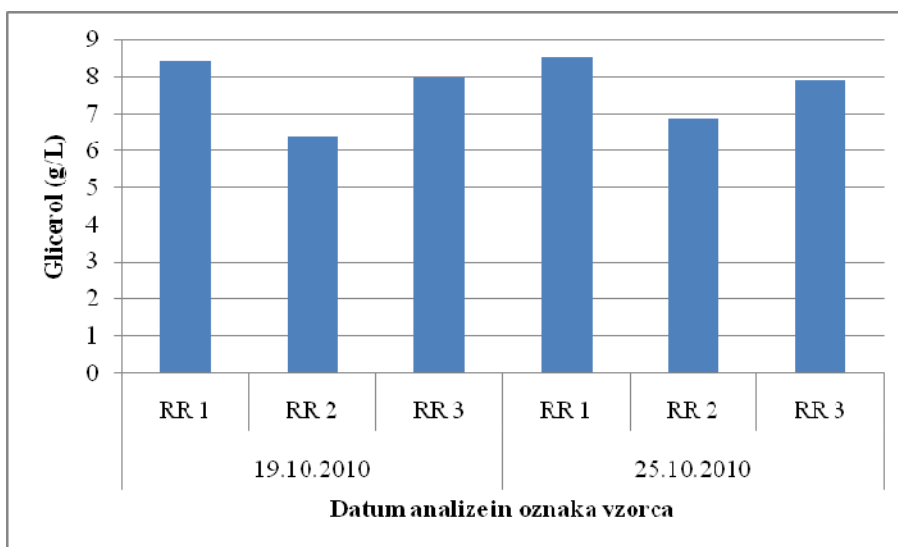
Glicerol je stranski produkt alkoholne fermentacije, čeprav je lahko prisoten že v grozdju. V suhih vinih ga je poleg vode in etanola največ.

Koncentracija glicerola v moštu iz zdravega grozdja je majhna, manj kot 1 g/L. Največ se ga tvori med alkoholno fermentacijo. Na končno koncentracijo glicerola v vinu vpliva več dejavnikov:

- temperatura fermentacije: v intervalu od 15 do 25 °C se koncentracija glicerola povečuje,
- različni sevi kvasovk izkazujejo različne sposobnosti tvorbe glicerola, od 4,2 do 10,4 g/L,
- koncentracije razpoložljivih sladkorjev v moštu,
- koncentracije dušikovih spojin in razmerja aminokislin,
- koncentracije žveplovega dioksida.

Glicerol deluje rahlo sladko in pripomore k občutku polnosti, predvsem v belih suhih vinih. Glicerol je v vinu sicer stabilen, lahko pa služi tudi kot vir ogljika za mikroorganizme, kot so oacetnokislinske bakterije in nekatere mlečno-kislinske bakterije (Bavčar, 2006).

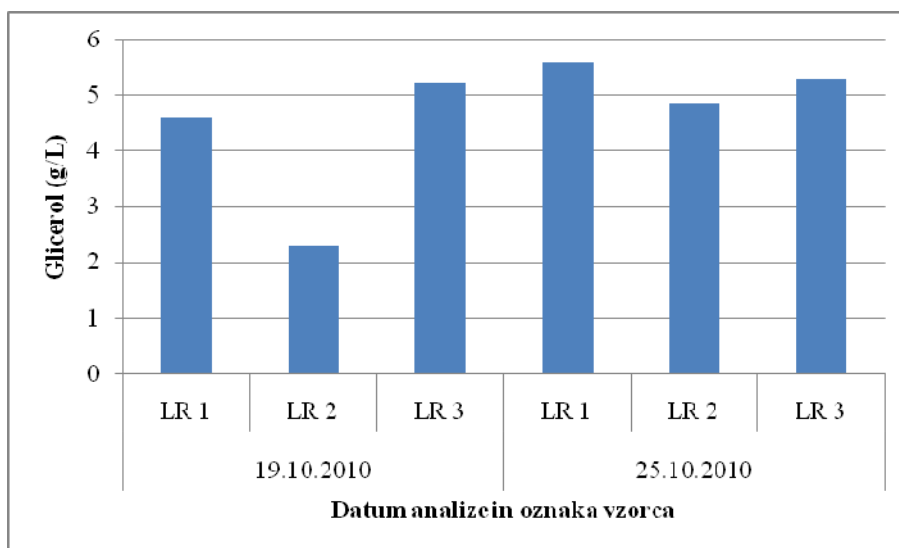
4.2.4.1 Renski rizling



Slika 8: Vsebnost glicerola (g/L) sorte renski rizling med fermentacijo.

S slike 8 je razvidno, da se je koncentracija glicerola med fermentacijo pri vzorcih RR 1 in RR 2 rahlo povečevala, medtem ko se je pri vzorcu RR 3 nekoliko zmanjšala. To je verjetno posledica delovanja mlečnokislinskih bakterij, ki so uporabljale glicerol kot vir ogljika. Proti koncu fermentacije je imel največjo koncentracijo glicerola vzorec RR 1 (8,56 g/L), najmanjšo pa vzorec RR 2 (6,86 g/L).

4.2.4.2 Laški rizling



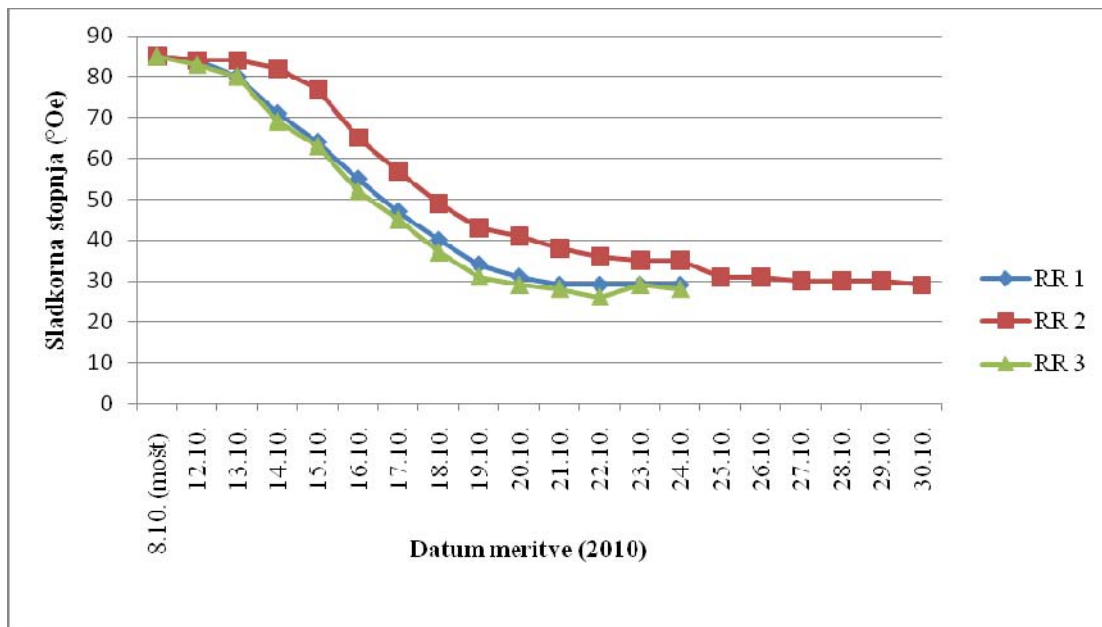
Slika 9: Vsebnost glicerola (g/L) sorte laški rizling med fermentacijo.

S slike 9 je razvidno, da se je pri vzorcih LR 1 in LR 2 koncentracija glicerola za razliko od vzorca LR 3 tekom fermentacije najbolj povečevala. Pri vzorcu LR 3 so bile prisotne mlečnokislinske bakterije, zato lahko podobno kot pri sorti renski rizling sklepamo na porabo glicerola s strani bakterij.

4.2.5 Sladkorna stopnja

Sladkor preide v grozdno jagodo v obliki disaharida saharoze, ki pa se takoj hidrolizira v enostavnejše heksoze, glukozo in fruktozo. V grozdnem soku sta tako prisotni predvsem heksozi glukoza in fruktoza, ki sta produkta fotosinteze vinske trte in sta glavni vir ogljika za kvasovke pri alkoholni fermentaciji. Meritev koncentracije sladkorja z refraktometrom je največkrat opravljena analiza grozdnega soka. Izražamo jo v Oechslejevih stopinjah ($^{\circ}\text{Oe}$), lahko tudi v Brixovih ($^{\circ}\text{Bx}$) ali Klosterneuburških stopinjah ($^{\circ}\text{Kl}$) (Bavčar, 2006).

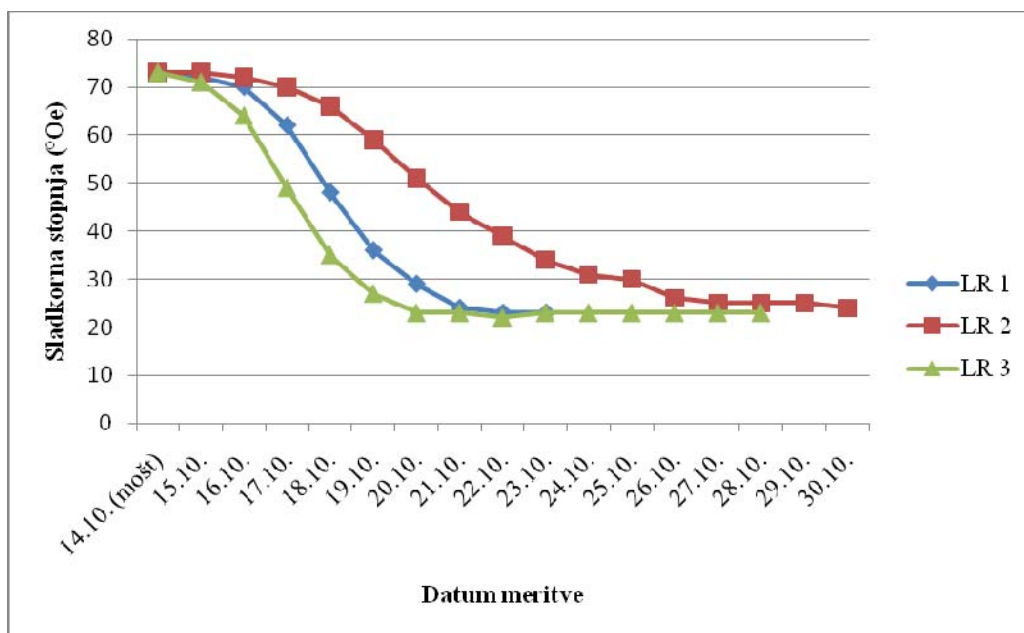
4.2.5.1 Renski rizling



Slika 10: Spreminjanje sladkorne stopnje (°Oe) sorte renski rizling v odvisnosti od trajanja fermentacije.

Začetna koncentracija sladkorjev je bila 85 °Oe. S slike 10 je razvidno, da so kvasovke pri vzorcih RR 1 in RR 3 pričele s fermentacijo prej, saj so prej začele porabljati reducirajoče sladkorje. Te kvasovke so fermentirale najburneje, saj sta krivulji najbolj strmi. Pri RR 2 se je fermentacija pričela nekoliko kasneje zaradi težav s temperaturami (slika 14) in je ves čas potekala manj burno, ter se tudi zaključila kasneje.

4.2.5.2 Laški rizling



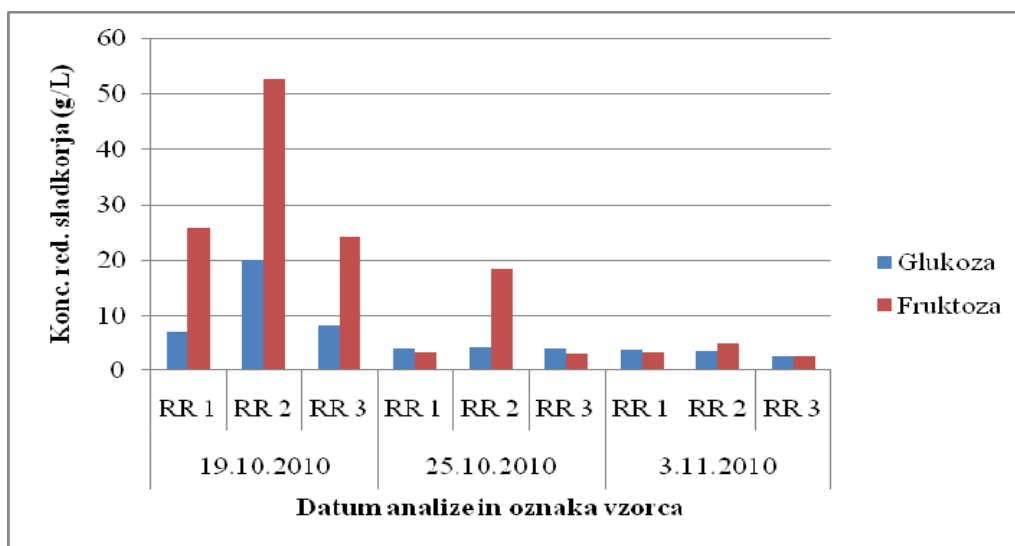
Slika 11: Spreminjanje sladkorne stopnje (°Oe) sorte laški rizling v odvisnosti od trajanja fermentacije.

Začetna koncentracija sladkorjev je bila 73 °Oe. Najhitreje in najbolj burno je fermentiral tretji vzorec; to se je zgodilo zaradi težav s temperaturo (slika 15). Tudi vzorec LR 1 je fermentiral dokaj hitro in burno v primerjavi z vzorcem sorte renski rizling. Graf nam kaže, da ima najbolj položno krivuljo porabe sladkorja vzorec LR 2, kar pomeni, da je fermentacija potekala mirno in dalj časa.

4.2.6 Glukoza in fruktoza

Med alkoholno fermentacijo kvasovke pretvarjajo glukozo in fruktozo v etanol in stranske produkte. Za nastanek 1 vol.% etanola je potrebnih 16,5-18,0 g/L sladkorjev. *D*-glukoza in *D*-fruktoza sta dve prevladujoči heksozi v grozdnem soku. V povprečju se v grozdnem soku nahajata v koncentracijah od 150 do 250 g/L. Med fermentacijo se po večini najprej porablja glukoza, saj jo večina kvasovk najprej porabi. Tako se razmerje med glukozo in fruktozo, ki je v grozdnem soku okrog 1, skozi fermentacijo manjša. Suha vina, pri katerih je fermentacija potekla do konca, imajo zelo majhne koncentracije heksoz (okrog 1 g/L) (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b).

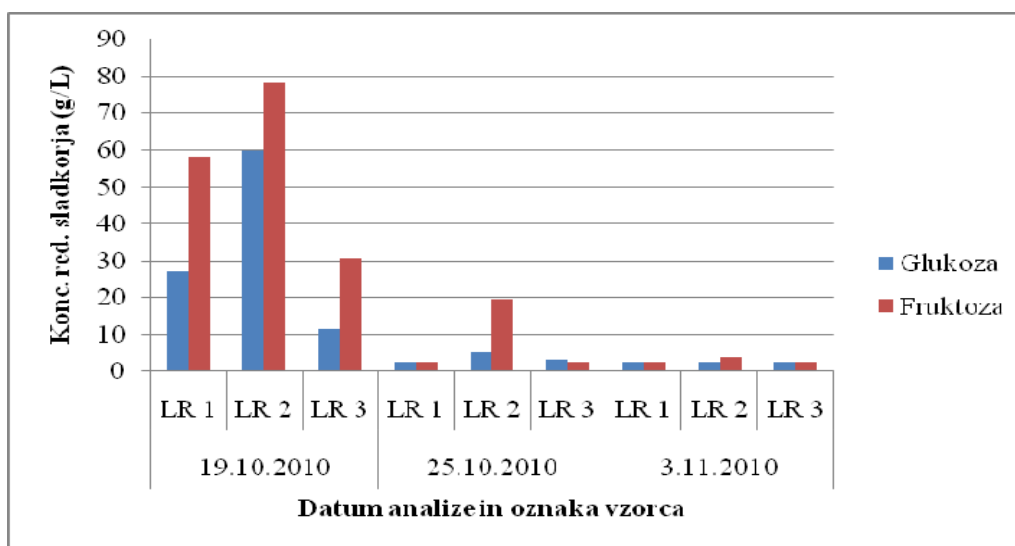
4.2.6.1 Renski rizling



Slika 12: Koncentracija fruktoze in glukoze med alkoholno fermentacijo ter po njej pri sorti renski rizling.

S slike 12 je razvidno, da se je pri vseh vzorcih med fermentacijo (19.10.2010) po pričakovanjih najprej porabljala glukoza in šele nato fruktoza. Pri vzorcu RR 2 (25.10.2010), pri katerem je fermentacija potekala najpočasneje, je fruktoza še vedno prisotna v veliko večji koncentraciji (18 g/L) kot pri vzorcih RR 1 in RR 3 (3,3 in 3 g/L).

4.2.6.2 Laški rizling



Slika 13: Koncentracija fruktoze in glukoze med alkoholno fermentacijo ter po njej pri sorti laški rizling.

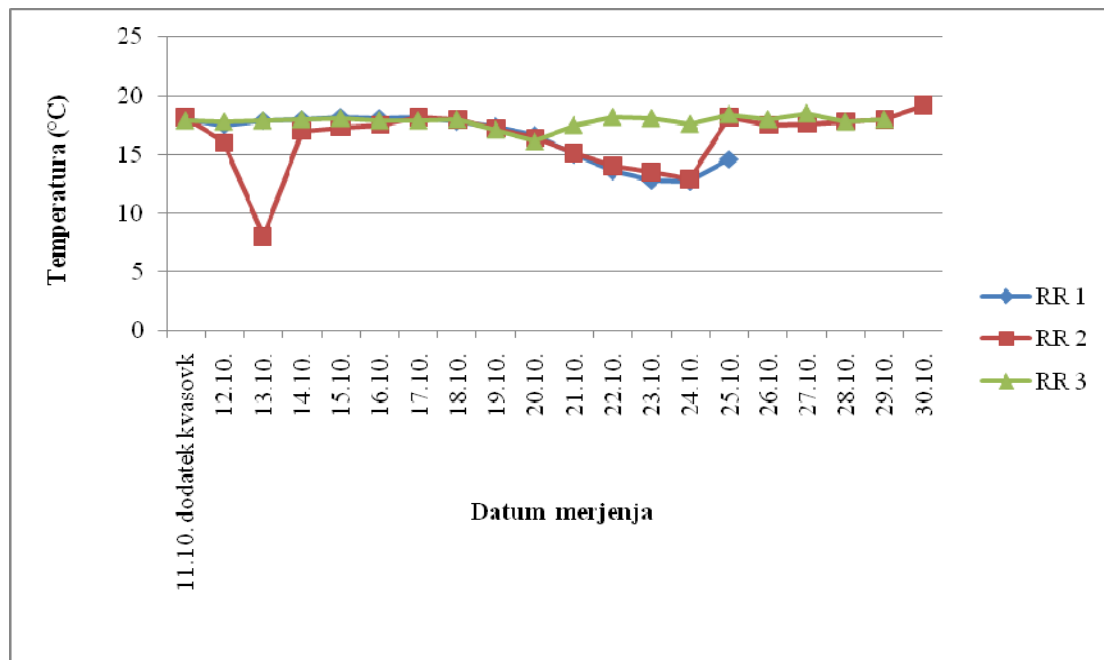
S slike 13 je razvidno, da se je pri vseh vzorcih, ravno tako kot pri sorti renski rizling,

najprej porabljala glukoza in šele nato fruktoza. Pri vzorcu LR 3 (19.10.2010) se je koncentracija sladkorjev najprej zmanjšala, kar je vidno tudi po najbolj strmi krivulji padanja sladkorjev (slika 11), kar je posledica najhitrejše porabe sladkorjev s strani kvasovk. Vzorec LR 2 (25.10.2010) je fermentiral najpočasneje.

4.2.7 Temperatura

Temperatura vpliva direktno in indirektno na metabolizem kvasovk. Tako previsoke kot prenizke temperature povzročijo prekinitve aktivnosti kvasovk. Alkoholna fermentacija pri prenizki temperaturi upočasni hitrost in povzroči zastoj procesa. Previsoke temperature sicer pospešijo fermentacijo, zaradi motenja delovanja encimov in membran kvasovk pa ravno tako zaustavijo fermentacijo. Hiter začetek fermentacije je zaželen, ni pa priporočljiva preveč burna fermentacija, temveč enakomerna z uspešnim povretjem sladkorjev do zelenega ostanka nepovretega sladkorja (Bavčar, 2006).

4.2.7.1 Renski rizling

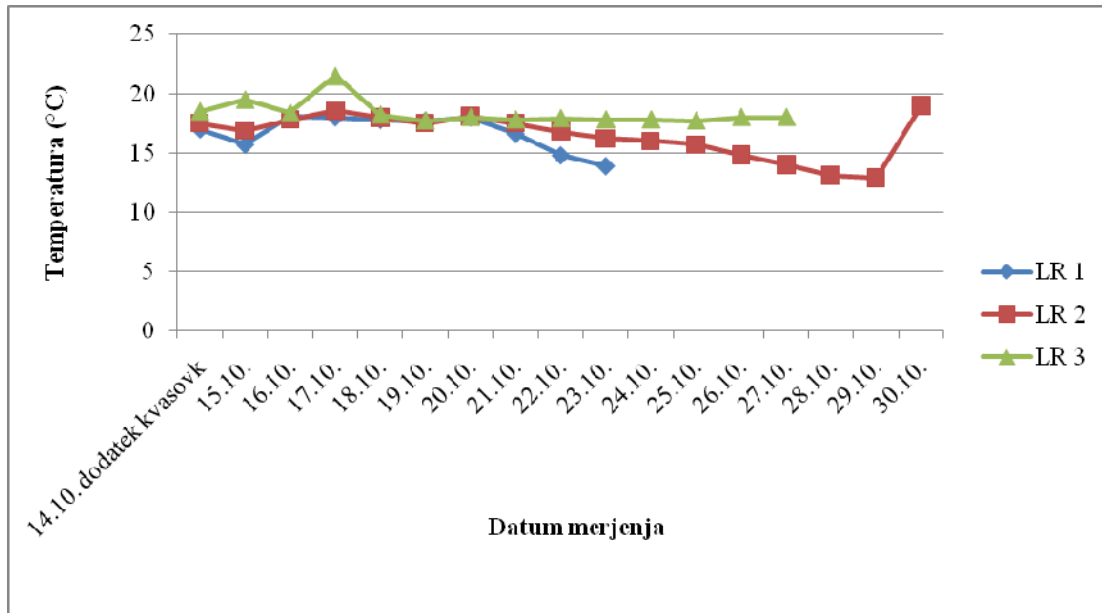


Slika 14: Nihanje temperature fermentacije sorte renski rizling v odvisnosti od trajanja fermentacije.

S slike 14 je razvidno, da je bila temperatura pri inokulaciji pri vseh vzorcih okrog 18 °C. Fermentacija je pri vseh vzorcih potekala več ali manj pri tej temperaturi. Pri vzorcu RR 2 je dva dni po inokulaciji prišlo do okvare termostata in cisterna se je ohladila na 8 °C za približno 12 h. Takoj naslednji dan smo segreli nazaj na 18 °C in še enkrat inokulirali. Nižanje temperatur pri RR 1 in v času od 20. do 23.10. lahko pojasnimo s koncem fermentacije, saj ni bilo več prisotnih reducirajočih sladkorjev, ki bi jih kvasovke koristile za fermentacijo. Vzorec RR 2 je fermentiral zelo počasi in temperatura je v obdobju od 20. do 23. 10. padla na 13 °C, zato smo cisterno segreli na 16 °C in fermentacija je spet

potekala. Pri RR 3 smo temperaturo po končani fermentaciji (20.10.) vzdrževali malo nad 18 °C zaradi zelene jabolčno-mlečnokislinske fermentacije.

4.2.7.2 Laški rizling



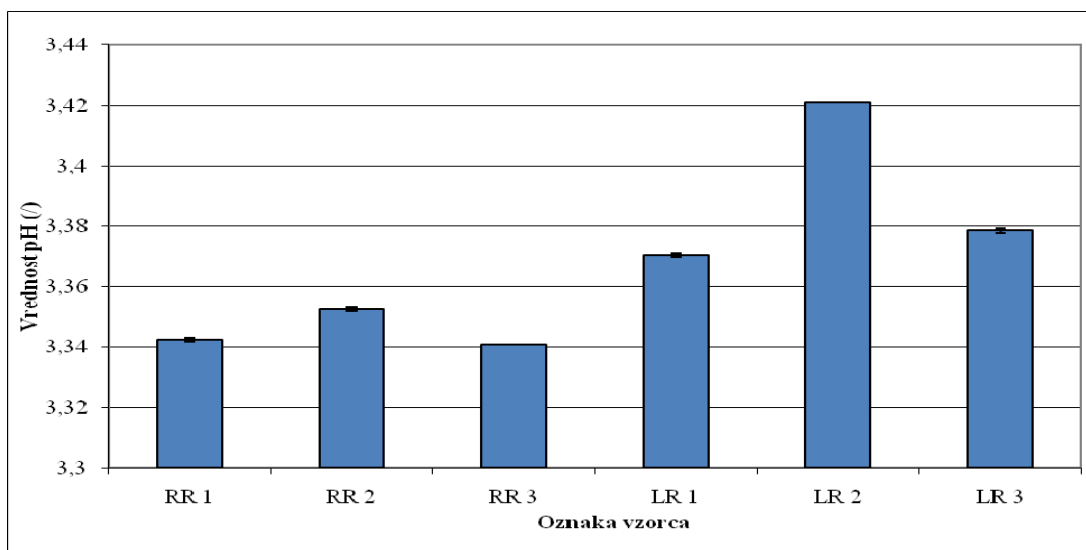
Slika 15: Nihanje temperature fermentacije sorte laški rizling v odvisnosti od trajanja fermentacije.

Slika 15 nam kaže, da je bila začetna temperatura okrog 18 °C. Čez noč med 16.10. in 17.10. je pri vzorcu LR 3 prišlo do napake v hlajenju in se je zaradi burne fermentacije segrel na 21,5 °C. Vzorcju LR 1 se je po končani fermentaciji (porabi vseh reducirajočih sladkorjev) temperatura po pričakovanjih spustila. LR 2 je fermentiral počasneje, zato se je tudi temperatura proti koncu spuščala počasneje in dalj časa. Vzorcju LR 3 pa smo po koncu fermentacije dodali grelce in vzdrževali temperaturo na 18 °C zaradi zelene jabolčno-mlečnokislinske fermentacije.

4.3 REZULTATI ANALIZ MLADEGA VINA

4.3.1 pH

Praviloma je pH mladega vina (brez ogljikovega dioksida) večji od pH mošta, iz katerega je vino pridelano (Košmerl, 2007a).



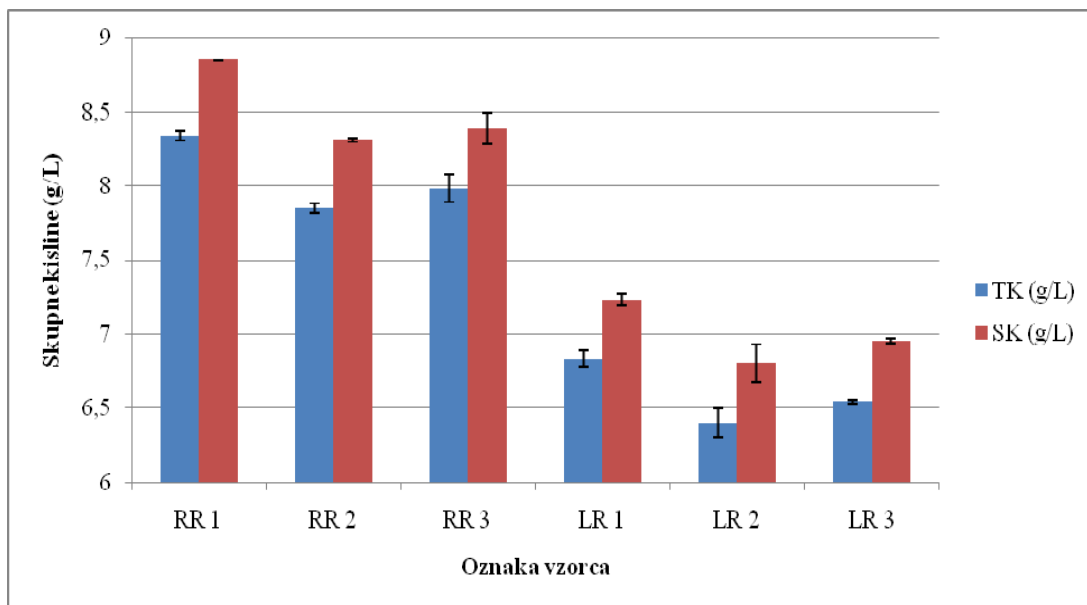
Slika 16: Vrednost pH mladega vina sort renski in laški rizling.

Vsi vzorci so imeli po pričakovanjih večje vrednosti pH, kot so bile vrednosti mošta. Zgornji graf nam kaže, da je imel najvišjo vrednost pH vzorec LR 2. Vzorci RR so imeli nižje vrednosti pH kot vzorci LR, kar se ujema tudi s skupnimi kislinami, ki so bile pri sorti renski rizling znatno višje. Visok pH RR 1 lahko pojasnimo z dobrim izločanjem kislinskih soli (KHT) tekom fermentacije in po njej (slika 6). Enako velja za vzorec LR 2 (slika 7).

4.3.2 Skupne kisline

Med alkoholno fermentacijo in po njej nastajajo poleg vinske, jabolčne in citronske kisline tudi očetna, propionska, piruvična, mlečna, jantarna, glikolna, galakturonska, glukonska, oksalna in fumarna kislina.

Skupna vsebnost karboksilnih kislin v grozdnem soku, moštu in vinu, če jo izrazimo kot g/L vinske kisline v vzorcu, je med 6 in 9 g/L, pri sladkih in desertnih vinih med 4 in 6,5 g/L, za botriticidna vina (vina, pridelana iz grozdja, okuženega s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*) pa okrog 10 g/L (Košmerl in Kač, 2007).



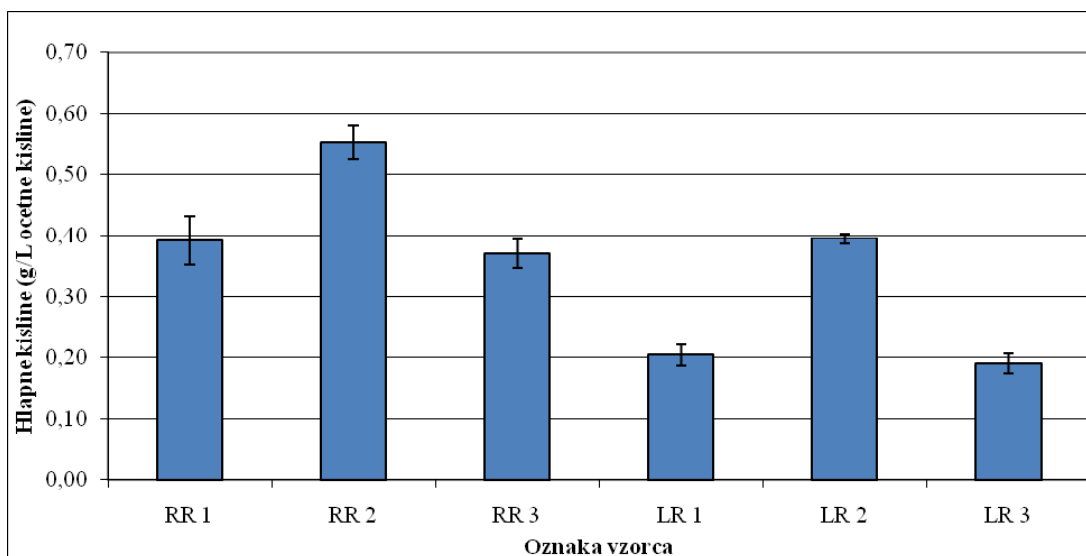
Slika 17: Koncentracija (g/L) skupnih kislin mladega vina sort renski in laški rizling.

Slika 17 kaže, da so pri vseh vzorcih koncentracije kislin v pričakovanih območjih (med 6 in 9 g/L). Vzorci sorte renski rizling imajo vidno večje koncentracije skupnih kislin, vendar še vedno manj, kot je bila začetna koncentracija kislin v moštu (8,58 g/L). To pomeni, da se je nekaj kislin izločilo iz vina tekom fermentacije v obliki kalijevega hidrogenatratata (KHT) ali v obliki netopnih soli drugih kislin. Pri vzorcih sorte laški rizling so skupne kisline večje v primerjavi s koncentracijo kislin v moštu (6,18 g/L). To pomeni, da je bila sinteza kislin v ciklu trikarboksilnih kislin (TCA-cikel) večja kot izločanje kislin v obliki KHT.

4.3.3 Hlapne kisline

Hlapne kisline v vinu so predvsem mravljična, očetna in butanojska kislina. Te (in nekatere druge manj pomembne hlapne kisline) določimo titrimetrično v destilatu vina (po destilaciji z vodno paro). Običajno vsebujejo mlada vina manj hlapnih kislin kot stara. Prav tako je tvorba le-teh bistveno manjša v vinih, pridelanih iz moštov z manjšo oziroma normalno koncentracijo sladkorja (normalne trgatve), v primerjavi s poznimi trgatvami (sladka vina), pri katerih delujejo kvasovke na začetku alkoholne fermentacije v značilno bolj ozmofilnih razmerah. Manjše količine hlapnih kislin (do 0,3 g/L očetne kisline) nastajajo kot stranski produkt med čisto alkoholno fermentacijo vina s kvasovkami (brez bakterij). Pri biološkem razkisu tvorijo mlečnokislinske bakterije tudi manjše količine očetne kisline, predvsem z razgradnjo citronske kisline. Napaka in bolezen vina (očetno-kislinski ton in cik) sta lahko senzorično v vonju zaznavna že pri koncentraciji okrog 0,6-0,9 g/L očetne kisline v vinu, kar je manj, kot je zakonsko dovoljena maksimalna koncentracija.

Koncentracija očetne kisline (g/L) pri kakovostnih in vrhunskih belih vinih z geografskim poreklom po zakonu ne sme presežati 1 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).



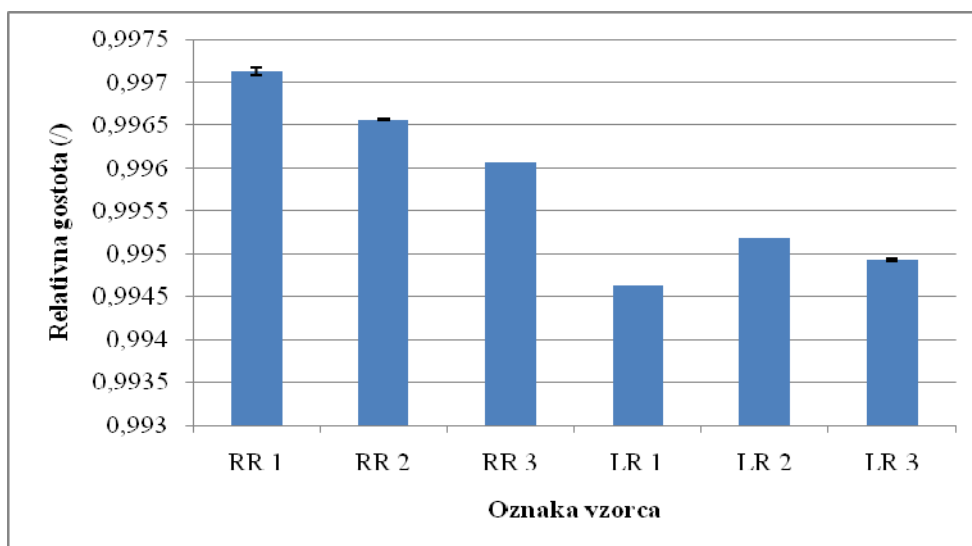
Slika 18: Koncentracija hlapnih kislin (g/L očetne kisline) mladega vina sort renski in laški rizling.

Hlapne kisline v vseh vzorcih so v pričakovanem območju pod 0,6 g/L. Najbolj izstopa vzorec RR 2 (0,55 g/L), kjer so bile težave s fermentacijo. Pri vseh vzorcih je koncentracija pod 1 g/L, kar je v skladu s pričakovanji in zakonom.

4.3.4 Relativna gostota

Z d_{20} označujemo gostoto mošta ali vina pri 20 °C (enota: g/cm³). Relativna gostota (d_{20}^{20}) pa je razmerje med gostoto mošta ali vina pri 20 °C in gostoto vode pri isti temperaturi. (obvezna je temperaturna korekcija).

Suha vina imajo relativno gostoto blizu 1; izjema so le suha in hkrati alkoholno zelo bogata vina, ki imajo relativno gostoto občutno manjšo od 1. Mošt in vina s preostankom sladkorja imajo praviloma relativno gostoto večjo od 1. Na gostoto vzorca mošta ali vina vplivajo vse raztopljene snovi. Te so bodisi specifično težje (sladkorji, kisline, glicerol) ali specifično lažje od vode (alkohol) (Košmerl in Kač, 2007).

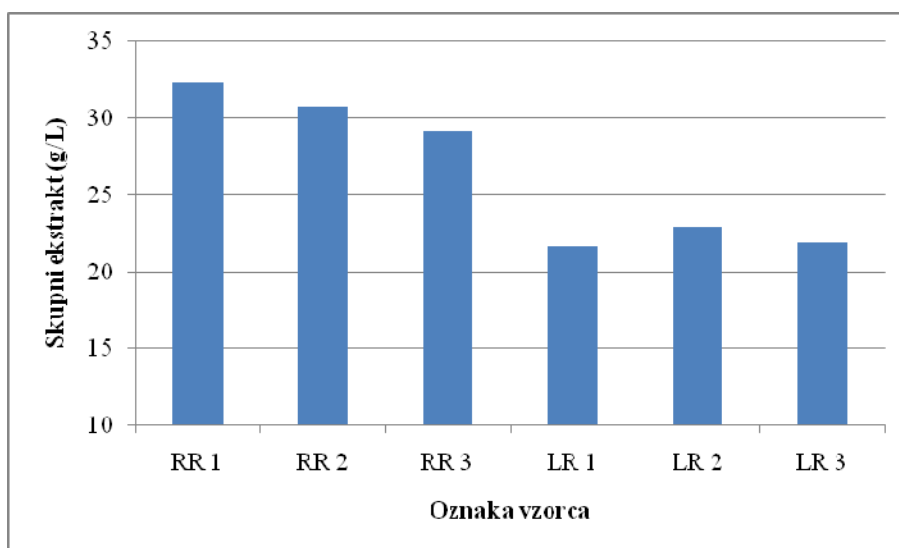


Slika 19: Relativna gostota mladega vina sort renski in laški rizling.

S slike 19 je razvidno, da je imel vzorec RR 1 najvišjo relativno gostoto (0,99713), kar je v skladu z večjo vsebnostjo reducirajočih sladkorjev. Najmanjšo vrednost ima vzorec LR 1 (0,99464), kar je ravno tako v skladu z manjšo vsebnostjo reducirajočih sladkorjev in kislin. V celoti gledano je pri vseh vzorcih sorte renski rizling, ki imajo večji ostanek reducirajočih sladkorjev in večjo vsebnost skupnih kislin, večja vrednost relativne gostote.

4.3.5 Skupni ekstrakt

Skupni suhi ekstrakt (oz. krajše skupni ekstrakt) sestavljajo po definiciji O.I.V. pri 100 °C nehlapne komponente vina (sladkorji, glicerol, fiksne kisline, organske soli idr.) Na osnovi vsebnosti ekstrakta vina lahko sklepamo na začetno vsebnost sladkorja v moštu, iz katerega je bilo vino pridelano (Košmerl in Kač, 2007).



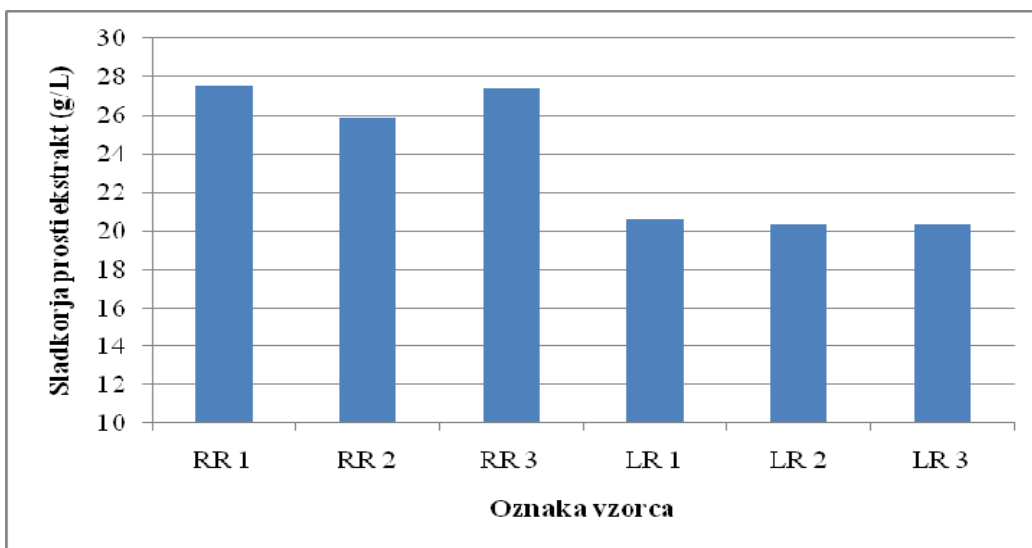
Slika 20: Skupni ekstrakt (g/L) mladega vina sort renski in laški rizling.

S slike 20 je razvidno, da imajo največje vrednosti skupnega ekstrakta vzorci sorte renski rizling, ki so imeli prav tako največje vrednosti reducirajočih sladkorjev in kislin. Manjše vrednosti imajo vzorci sorte laški rizling, pri katerih je tudi vsebnost reducirajočih sladkorjev in kislin manjša.

4.3.6 Sladkorja prosti ekstrakt

Sladkorja prosti ekstrakt (SPE) je po definiciji razlika med (skupnim) ekstraktom in reducirajočimi sladkorji. Rdeča vina imajo več sladkorja prostega ekstrakta (oz. ekstrakta brez sladkorja) v primerjavi z rdečkastimi, rosé in belimi vini. Vsebnost ekstrakta je odvisna od sorte, zrelosti, načina trgatve in razmer ali pogojev vinifikacije. Vpliv različnih sevov čiste kulture kvasovk v primerjavi s spontano fermentacijo po literarnih podatkih ni statistično značilen.

Vsebnost sladkorja prostega ekstrakta je 7-30 g/L (povprečje 20 g/L) (Košmerl, Kač, 2007).



Slika 21: Sladkorja prosti ekstrakt (g/L) mladega vina sort renski in laški rizling.

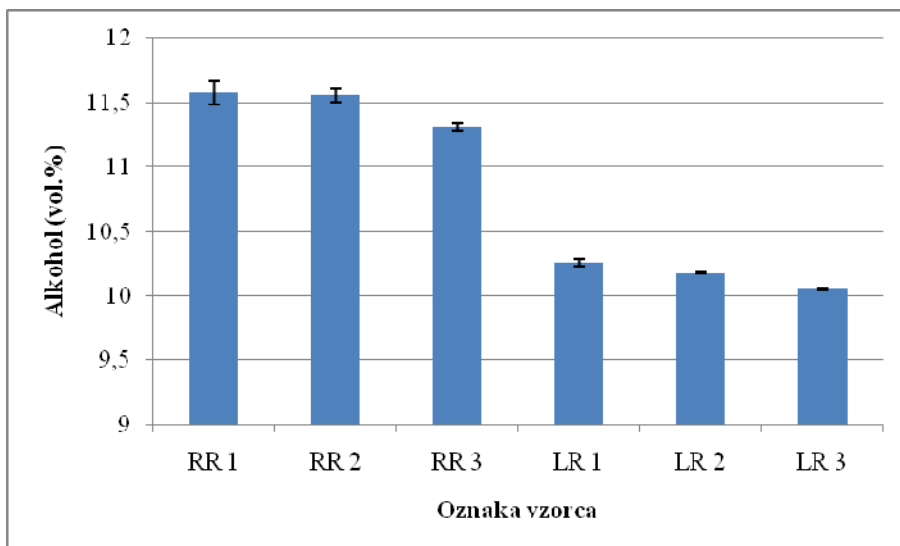
Največje razlike med skupnim ekstraktom in sladkorja prostim ekstraktom lahko opazimo pri vzorcih RR 1, RR 2 in LR 2. Tukaj je bila vsebnost reducirajočih sladkorjev največja. Vse vrednosti vzorcev so v pričakovanem območju 7-30 g/L.

4.3.7 Koncentracija alkohola

Ko govorimo o alkoholu v vinu, pomeni to etanol, ki nastane kot glavni produkt alkoholne fermentacije s kvasovkami iz glukoze in fruktoze v moštu. Razen etanola vsebuje vino tudi druge monohidroksialkohole: metanol, 1-propanol, 1-butanol, izoamil alkohol, 2-feniletanol in nekatere poliole: glicerol, butandiol, manitol in sorbitol.

Pojem alkohola v vinu opredeljujejo naravni, dejanski, potencialni in skupni alkohol. Naravni alkohol je količina alkohola, ki je nastala iz sladkorja v grozdju. Dejanski (ali prisotni) alkohol je alkohol, ki ga vsebuje vino in ki je nastal bodisi iz sladkorja v grozdju

ali iz sladkorja, ki je bil v okviru dovoljenih predpisov dodan v mošt (dosladkanje). Potencialni alkohol je v alkohol preračunana količina nepovretega sladkorja (vsebnost reducirajočih sladkorjev), ki bi eventualno lahko povrel v alkohol, pa ni. Skupni alkohol pa je vsota vsebnosti dejanskega in potencialnega alkohola (Košmerl in Kač, 2007).



Slika 22: Koncentracija alkohola (vol.%) mladega vina sort renski in laški rizling.

S slike 22 je razvidno, da imajo največje vsebnosti alkohola (vol.%) vzorci sorte renski rizling. To je posledica večjih vsebnosti sladkorjev, ki so bili na razpolago že od začetka fermentacije, tako da je lahko več sladkorja povrela in posledično je nastalo več alkohola.

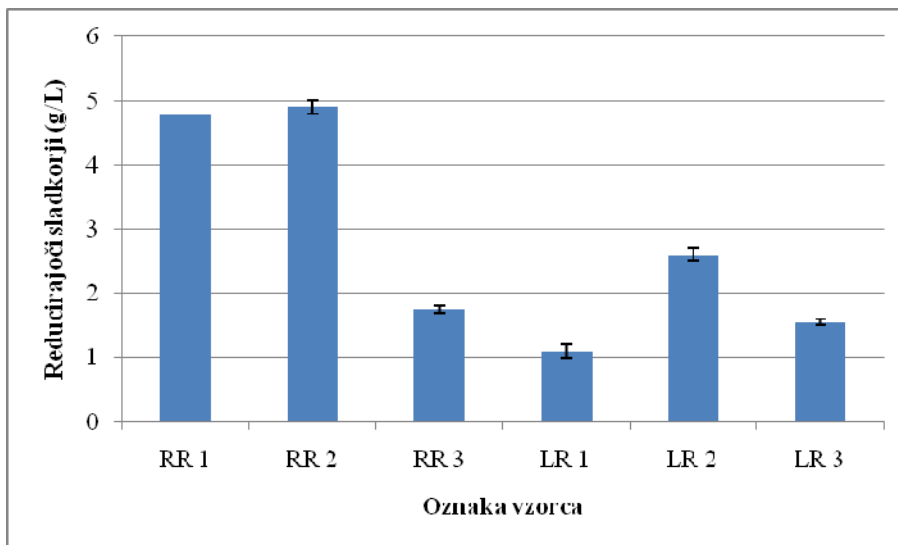
4.3.8 Sladkorji

Prevladujoča sladkorja v grozdju, moštu in vinu sta glukoza in fruktoza. Manj je saharoze in ostalih sladkorjev, posebno nefermentabilnih pentoz. Med alkoholno fermentacijo poteče encimska hidroliza saharoze v glukozo in fruktozo, ki ju kvasovke lahko povrejo. Popolnoma suha vina vsebujejo približno 1 g/L reducirajočih sladkorjev. V tej koncentraciji so zajeti zlasti nefermentabilni reducirajoči sladkorji, npr. pentoze (arabinoza, ramnoza in ksiloza), medtem ko je skupna koncentracija nefermentirane glukoze in fruktoze minimalna (0,1-0,2 g/L) (Košmerl in Kač, 2007).

Glede na koncentracijo reducirajočih sladkorjev se mirna vina delijo na naslednje kategorije (Pravilnik o pogojih..., 2004; Pravilnik o spremembah..., 2005):

- suho vino, katerega koncentracija reducirajočih sladkorjev ne presega 9 g/L, pod pogojem, da koncentracija skupnih kislin, izražena v g/L vinske kisline, ni več kot 2 g pod koncentracijo reducirajočih sladkorjev;
- polsuho vino, katerega koncentracija reducirajočih sladkorjev presega največjo dovoljeno koncentracijo, določeno v prejšnji alineji, vendar ne presega 18 g/L, pod pogojem, da koncentracija skupnih kislin, izražena v gramih vinske kisline na liter, ni več kot 10 g pod koncentracijo reducirajočih sladkorjev;
- polsladko vino, katerega koncentracija reducirajočih sladkorjev presega največjo

- dovoljeno koncentracijo, določeno v prejšnji alineji, vendar ne presega 45 g/L;
- sladko vino, katerega koncentracija reducirajočih sladkorjev presega 45 g/L.



Slika 23: Koncentracija reducirajočih sladkorjev (g/L) mladega vina sort renski in laški rizling.

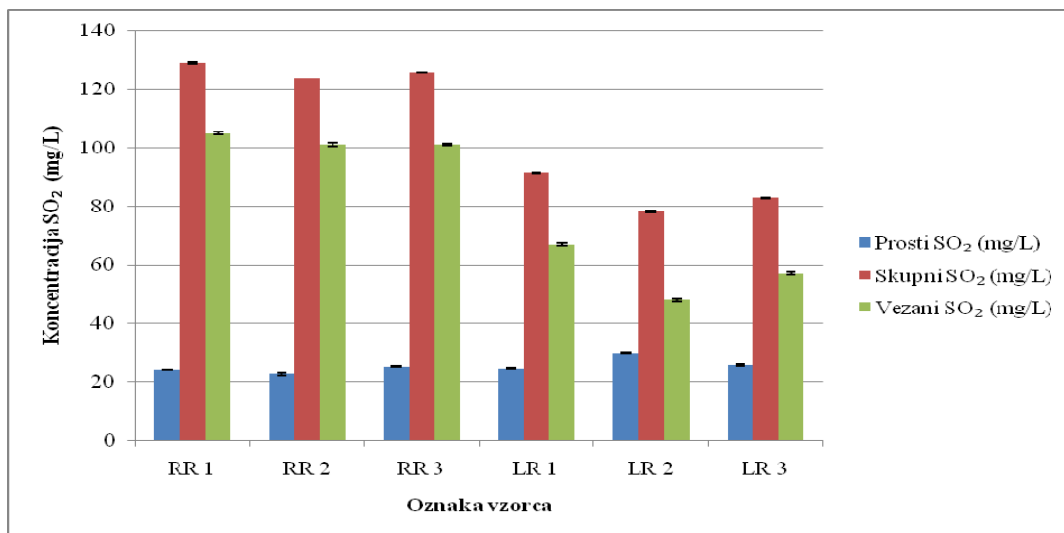
Kot kaže slika 23, imajo vsi vzorci vsebnost reducirajočih sladkorjev pod 9 g/L. To pomeni, da spadajo vsi v kategorijo suho vino. Vidno je, da je pri vzorcih RR 1 (4,8 g/L) in RR 2 (4,9 g/L) ostalega več sladkorja kot pri ostalih.

4.3.9 Žveplov dioksid

Koncentracija 35 mg/L prostega SO_2 v vinu popolnoma onemogoči delovanje polifenoloksidaz. Vina običajno vsebujejo 5-40 mg/L prostega SO_2 . Prosti SO_2 je definiran kot nevezana oblika SO_2 v vinu: žveplov dioksid, ki ni vezan na acetaldehid, druge aldehide ali organske spojine. V vinu je raztopljen kot SO_2 in kot HSO_3^- .

Skupni SO_2 je definiran kot vsota vseh zvrsti žveplovega dioksida v vinu (molekularna, bisulfitna in sulfitna), bodisi v prosti ali v vezani obliki. Porabniki žvepla so acetaldehid (99 % delež vezave), piruvična kislina, α -ketoglutarjeva kislina, ksiloza, galakturonska kislina, glukoza (Košmerl in Kač, 2007).

Bela in rose vina imajo največjo dovoljeno koncentracijo skupnega SO_2 (mg/L) pri suhih vinih (do 5 g/L reducirajočih sladkorjev) - 210 mg/L, pri vrednostih nad 5 g/L red. sladkorjev pa 260 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).

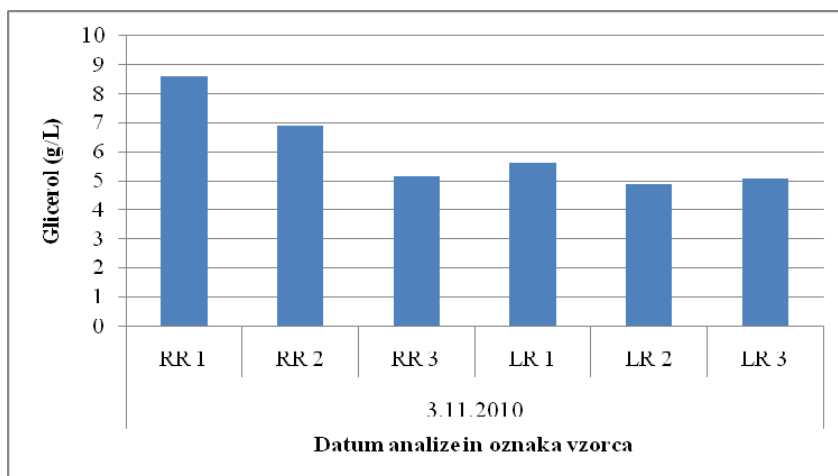


Slika 24: Vsebnosti prostega, skupnega in vezanega SO₂ (mg/L) pri sortah renski in laški rizling.

Koncentracija prostega žvepla v vseh vzorcih je bila želena nad 20 mg/L. Vina smo po fermentaciji večkrat žveplali (pri sorti renski rizling je bilo potrebno žveplati večkrat kot pri sorti laški rizling, da smo dosegli želeno koncentracijo prostega SO₂). Vidno je, da so vzorci sorte renski rizling vsebovali krepko večje količine skupnega in vezanega žvepla nad 120 mg/L. To je znak slabe kakovosti grozdja (gniloba), ter težav med samo fermentacijo; večje količine acetaldehida, ki je glavni »porabnik« žvepla. Kljub visokim vrednostim pa vina ne presegajo dovoljene vrednosti skupnega žveplovega dioksida 210 mg/L.

4.3.10 Glicerol

Najmanjša zahtevana koncentracija glicerola za kakovostna vina ZGP 5 g/L, za vrhunska vina pa 6 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).



Slika 25: Koncentracija glicerola (g/L) mladega vina sort renski in laški rizling.

S slike 25 je razvidno, da se je koncentracija glicerola pri vzorcih RR 1, RR 2, LR 1 in LR 2 praktično ni spremenila, oz. se je le zanemarljivo povečala (Sliki 8, 9). Pri vzorcih RR 3 in LR 3 pa se je zmanjšala in sicer pri RR 3 z 7,91 g/L na 5,13 g/L in pri vzorcu LR 3 z 5,31 g/L na 5,06 g/L. To je verjetno posledica delovanja mlečnokislinskih bakterij, ki so bile prisotne v fermentorjih že od začetka in so porabljale glicerol kot vir ogljika.

4.3.11 Organske kisline

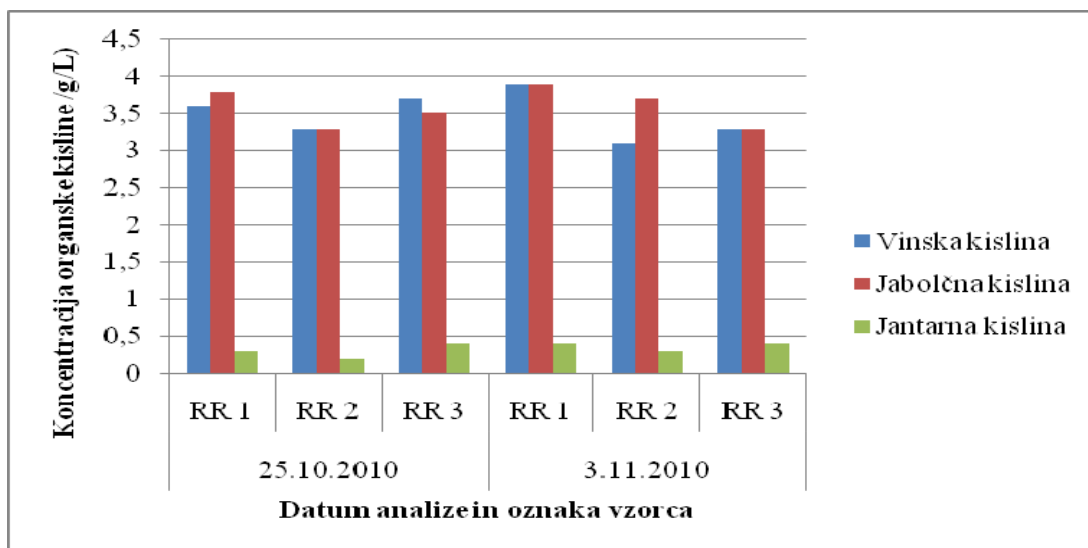
Organske kisline v vinu so različnega izvora. Vinska in jabolčna kislina sta rezultata nepopolne oksidacije sladkorjev in iz grozdne jagode prehajata v mošt.

Vinske kisline je v grozdju od 5 do 10 g/L mošta in je običajno najbolj zastopana kislina, tako v moštu kot v vinu. Skupaj z jabolčno kislino pogosto dosejata 90 % vseh nehlapnih kislin.

Jabolčne kisline je v grozdju od 1 do 4 g/L mošta, v majhnih jagodah v hladnih območjih pa tudi 6 g/L (Bavčar, 2006).

Jantarna kislina nastaja med alkoholno fermentacijo. Koncentracija v vinu je v povprečju okrog 1 g/L. Proizvajajo jo vsi organizmi, nastaja v Krebsovem ciklu (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b).

4.3.11.1 Renski rizling

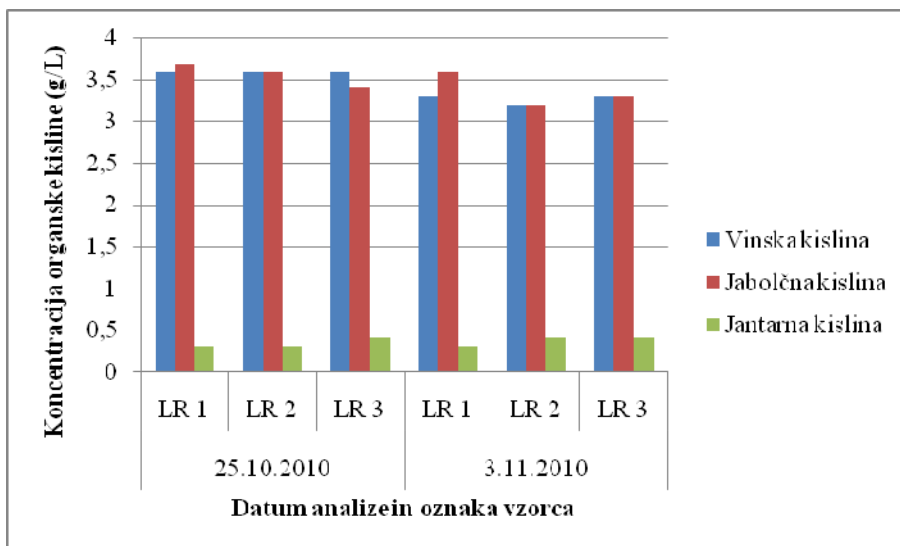


Slika 26: Primerjava organskih kislin (g/L) pred koncem fermentacije in po koncu fermentacije sorte renski rizling.

S slike 26 je razvidno, da se je na koncu fermentacije (3.11.2010) koncentracija vinske kisline pri vzorcih RR 2 in RR 3 zmanjšala, kar pomeni, da se je nekaj vinske kisline izločilo v obliki vinskega kamna. Jabolčna kislina je bila pri vseh vzorcih prisotna v pričakovanih koncentracijah (od 3 do 4 g/L). Koncentracija jabolčne in vinske kisline se je rahlo povečala pri vzorcu RR 1, kar je posledica otežene fermentacije (tvorba kislin v TCA-ciklu je večja kot izločanje kislin v obliki vinskega kamna) zaradi slabega (gnilega) grozdja. Pri vzorcu RR 3 se je jabolčna kislina na koncu nekoliko zmanjšala (iz 3,5 g/L na

3,3 g/L), kar je znak manjšega delovanja mlečnokislinskih bakterij, ki so bile prisotne v tem vzorcu.

4.3.11.2 Laški rizling



Slika 27: Primerjava organskih kislin (g/L) pred koncem fermentacije in po koncu fermentacije sorte laški rizling.

S slike 27 je razvidno, da se je vinska kislina proti koncu fermentacije zmanjševala pri vseh vzorcih, kar je posledica izločanja vinske kisline v obliki vinskega kamna. Jabolčna kislina je bila pri vseh vzorcih v pričakovanih vrednostih. Koncentracija se pri vzorcu LR 1 ni spreminjala. Pri vzorcih LR 2 in LR 3 se je zmanjšala z 3,6 na 3,2 g/L oz. z 3,4 na 3,3 g/L. Pri vzorcu LR 3 je bilo zmanjšanje verjetno zaradi mlečnokislinskega razkisa, kar smo tudi senzorično zaznali.

4.3.12 Hlapne aromatične snovi

Pomemben del vinske arome se oblikuje med alkoholno fermentacijo. Poleg etanola, glicerola, diolov in višjih alkoholov, se pod vplivom kvasovk tvorijo še druge spojine, predvsem kisline (heksanojska in oktanojska kislina), estri, aldehidi, ketoni in žveplave spojine (Košmerl, 2005).

Z analizo hlapnih aromatičnih snovi s plinsko kromatografijo z masno-spektrometrično detekcijo (GC-MS) smo v vzorcih določili prisotnost etilnih in acetatnih estrov, višje alkohole, višje maščobne kisline, monoterpen linalool in druge.

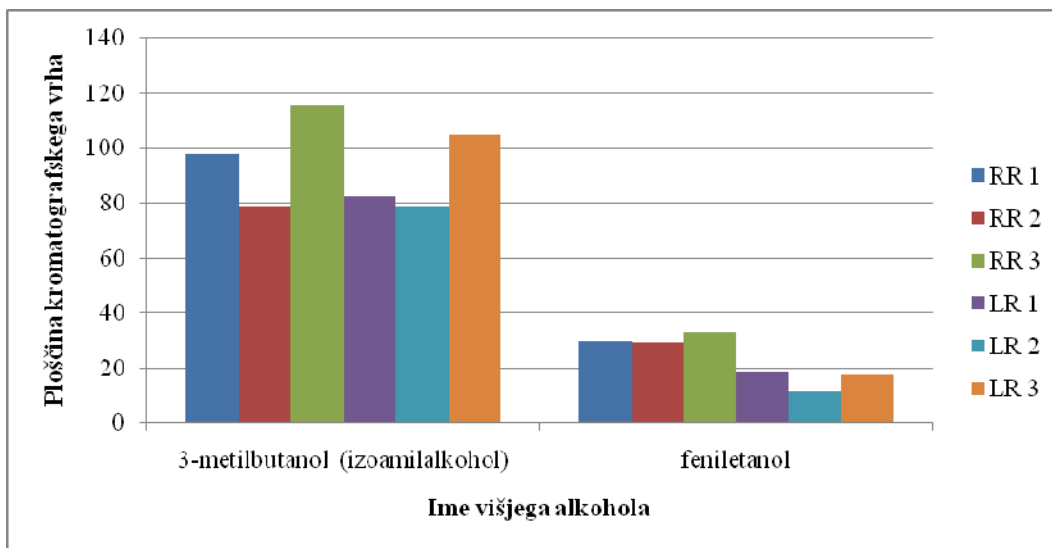
4.3.12.1 Koncentracija višjih alkoholov

Višji alkoholi predstavljajo približno 50 % vseh aromatičnih snovi v vinu, če ne upoštevamo etanola. V vinih splošno višji alkoholi do skupne koncentracije 350 mg/L še pripomorejo k boljši senzorični kakovosti vina, v še večjih koncentracijah pa so lahko

sporni ali pa je njihova prisotnost moteča (Bavčar, 2006).

Splošno velja, da izoamil alkohol predstavlja več kot 50 % vseh višjih alkoholov. Nahaja se v koncentracijah od 80 do 300 mg/L (Košmerl, 2005).

Feniletanol ima značilen vonj po vrtnici in se nahaja v koncentracijah od 10 do 100 mg/L (Košmerl, 2005).



Slika 28: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) višjih alkoholov mladega vina sort renski in laški rizling.

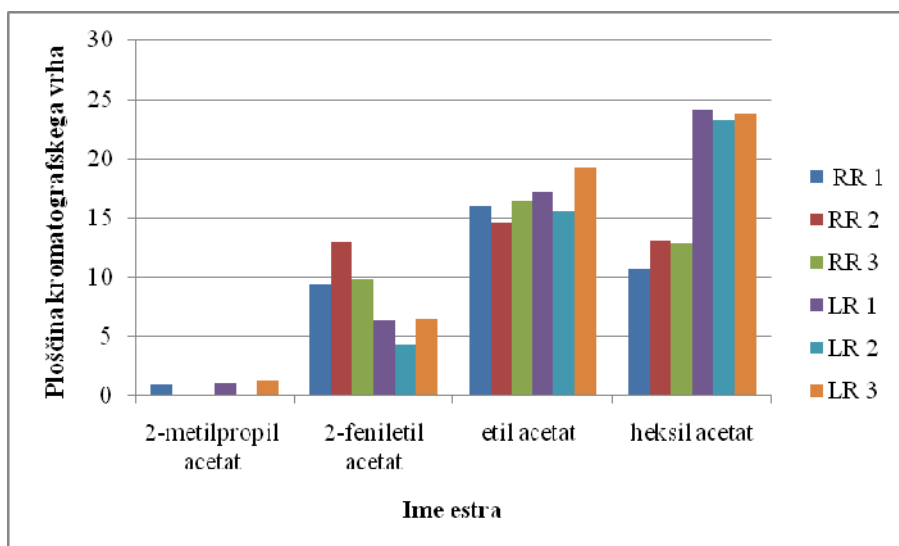
Slika 28 kaže, da je bila koncentracija izoamilalkohola pri vseh vzorcih veliko večja kot koncentracija feniletanola.

4.3.12.2 Estri

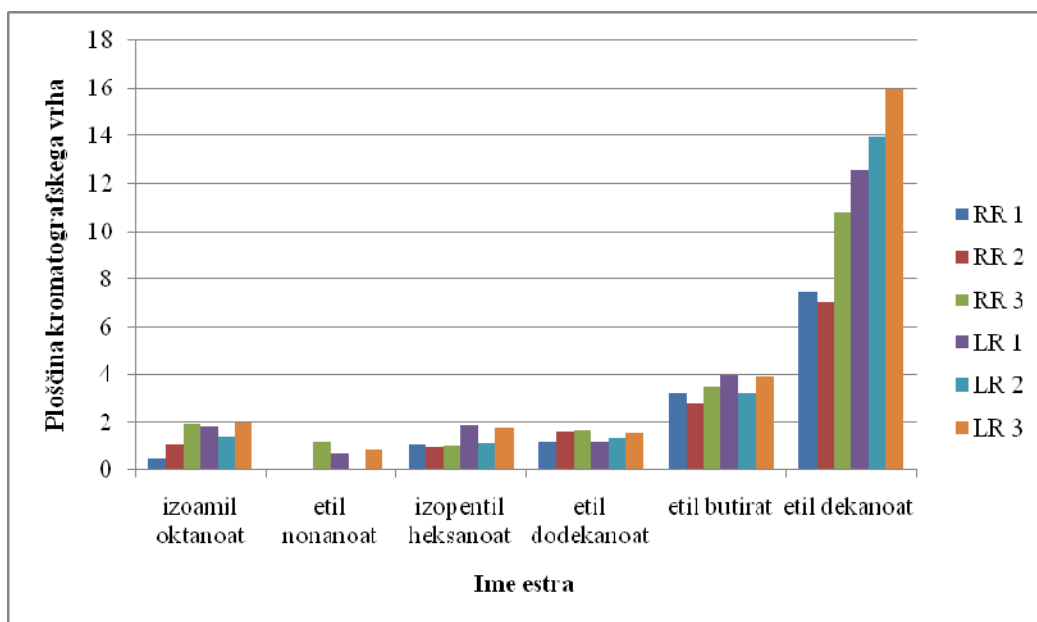
Estri so izrednega pomena za aromatično vina. V vinu jih najdemo več kot 160, vendar se jih velika večina nahaja v za zaznavo prenizkih koncentracijah ali pa so manj hlapni.

S primerno tehnologijo in vodenjem alkoholne fermentacije lahko vplivamo na tvorbo večjih koncentracij sadnih estrov v mladih vinih. Nižje koncentracije žveplovega dioksida, bistrenje mošta in odsotnost kisika med fermentacijo pozitivno vplivajo na tvorbo in kopičenje estrov. Nižje temperature alkoholne fermentacije pospešujejo tvorbo sadnih estrov, predvsem izoamil acetata, izobutil acetata in heksil acetata. Temperature višje kot 15 °C pospešujejo tvorbo več estrov z daljšimi verigami, kot sta etil oktanoat in etil dekanat (Bavčar, 2006).

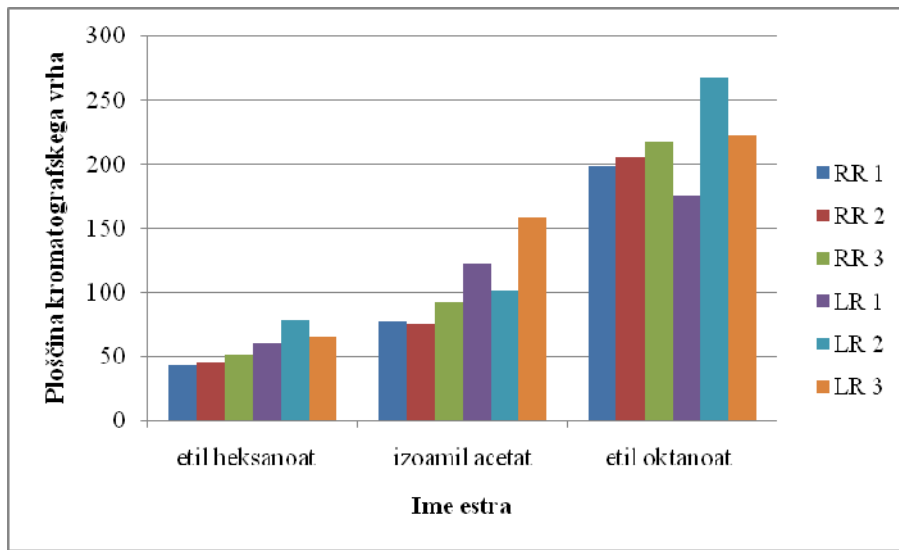
Najbolj zastopan ester v vinu je etil acetat in sicer v koncentracijah od 30- 60 mg/L. Prag zaznave je bistveno nižji (12,3 mg/L); v defektnem vinu pa je koncentracija etil acetata med 150-200 mg/L. Senzorični deskriptorji: lepilo, lak za nohte, aceton (Košmerl, 2005).



Slika 29: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) estrov očetne kisline in etanola mladega vina sort renski in laški rizling.



Slika 30: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) estrov acikličnih karboksilnih kislin in maščobnih kislin ter etanola mladega vina sort renski in laški rizling.



Slika 31: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) estrov očetne kisline in izoamil alkohola (izoamil acetat) ter maščobnih kislin in etanola mladega vina sort renski in laški rizling.

S slike 29 je razvidno, da je koncentracija estra etil acetat pri vseh vzorcih primerljiva in nekoliko večja. Kljub višjim koncentracijam ga senzorično nismo zaznali.

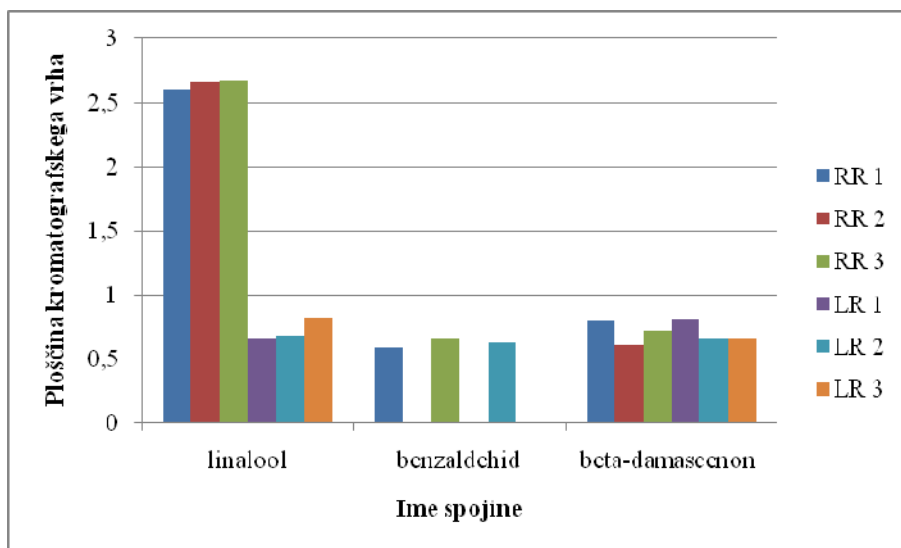
Vrednosti estra heksil acetat so vidno večje pri vzorcih LR 1, LR 2 in LR 3 kot pri sorti renski rizling. To je bilo tudi senzorično zaznavno, saj je bila sorta laški rizling v vonju dosti bolj sadna.

S slik 30 in 31 je razvidno, da so v večjih koncentracijah zastopani estri maščobnih kislin in etanola in sicer tisti z daljšimi verigami (etil dekanat, etil heksanoat in etil oktanoat). To je posledica višjih temperatur fermentacije.

4.3.12.3 Druge aromatične snovi

Terpeni so zelo pomembne aromatične spojine, ki večinoma izvirajo iz grozdja in so nosilci sortne arome pri tistih belih sortah, kjer jih je dovolj. To so predvsem muškatanne sorte in rizlingi. Strukturno so sestavljeni iz dveh, treh, štirih ali šestih osnovnih enot izoprena, z različnimi funkcionalnimi skupinami, in jih zato prištevamo med alkohole, ketone ali celo etre. V moštu ali vinu se nahajajo predvsem kot monoterpeni alkoholi, na primer geraniol, linalool, nerol, citronelol ali kot terpeni oksidi. V takšni obliki so tudi hlapni in prispevajo k vonju vina. Najdemo jih tudi v obliki nehlapnih glikozidov, torej vezanih s sladkorji (Bavčar, 2006).

Norizoprenoidi kot so β -damascenon (cvetni vonj), α - in β -ionon (vonj po vijolicah), vitispiran (evkaliptus, kafa) in norizoprenoid TND so aromatične spojine, ki nastanejo s hidrolizo vmesnih produktov razgradnje karotenov (Bavčar, 2006).

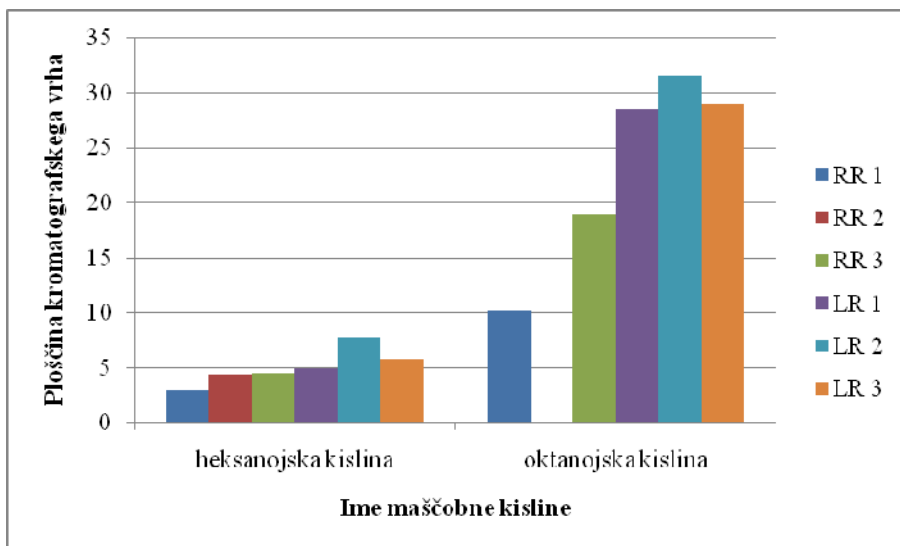


Slika 32: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) aromatičnih spojin: linalool (monoterpen), benzaldehid (aldehid) in beta- damascenon (norizoprenoid) sort renski in laški rizling.

S slike 32 je razvidno, da je bila koncentracija aromatične spojine linalool veliko večja pri sorti renski rizling kot pri sorti laški rizling. Tega senzorično ni bilo zaznati.

Aromatična spojina benzaldehid pri vzorcih RR 2, LR 1 in LR 3 ni bila prisotna ali pa je bila pod mejo detekcije. Pri ostalih vzorcih je prisotna v zelo majhnih koncentracijah.

Koncentracije norizoprenoida β -damascenona je bila pri vseh vzorcih primerljiva in nikjer ne izstopa.



Slika 33: Primerjava ploščin kromatografskih vrhov (GC-MS analiza) maščobnih kislin (heksanojska kislina in oktanojska kislina) sort renski in laški rizling.

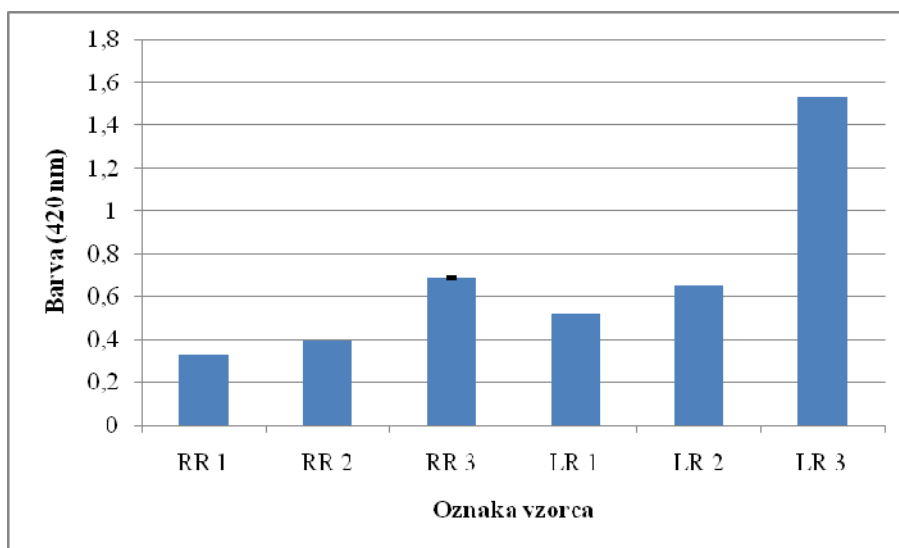
Slika 33 kaže, da je koncentracija heksanojske kisline pri vseh vzorcih primerljiva. Znatno višja je koncentracija oktanojske kisline, še posebej pri sorti laški rizling. Pri vzorcu RR 2 je nismo določili.

4.4 BARVA IN MOTNOST MLADEGA VINA

4.4.1 Barva vina

Poleg pH vplivata na barvo vina tudi žveplov dioksid in alkohol. Z naraščanjem vrednosti pH, večanjem koncentracije SO_2 in večanjem koncentracije alkohola se zmanjšujeta absorbanca pri 420 nm in 520 nm.

Obarvanost smo merili direktno (brez razredčitve) s spektrofotometrom; merili smo absorbanco vzorca pri valovni dolžini 420 nm.



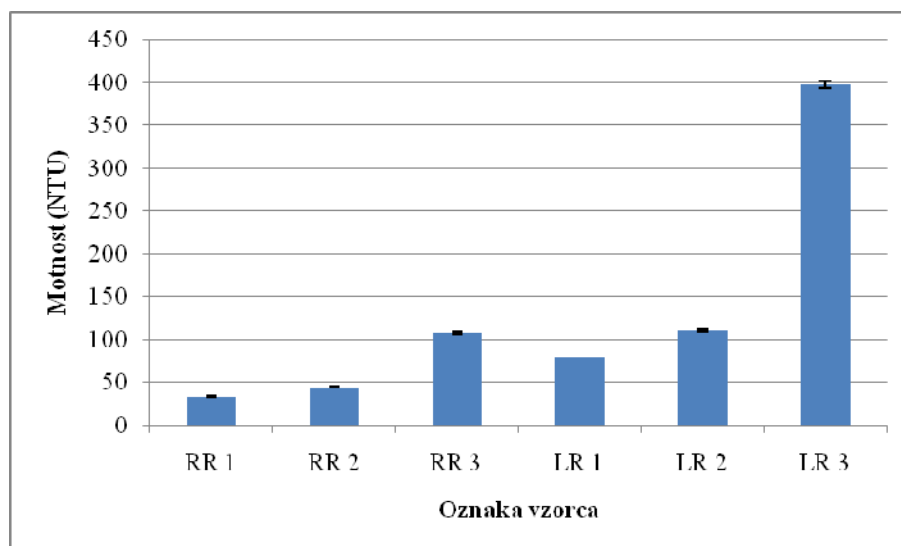
Slika 34: Absorbanca pri 420 nm v mladih vinih sorte renski in laški rizling.

Absorbanca je bila največja pri vzorcih RR 3 (0,687) in LR 3 (1,536). Vzorci RR imajo v celoti gledano manjše vrednosti absorbance oz intenzivnost barve. To je verjetno posledica večje vsebnosti alkohola in uporabe žveplovega dioksida pri vzorcih RR, zaradi slabše kakovosti grozdja.

4.4.2 Motnost vina

Vsak mošt in mlado vino je motno. Odvisno od koncentracije kislin in ekstrakta se začne mlado vino čistiti samo od sebe 2 do 4 tedne po končanem vrenju. Po prvem pretoku se lahko ponovno pojavi motnost. Ta motnost sodi k normalnemu procesu zorenja vina. Pri pretoku se namreč poruši fizikalno-kemijsko ravnotežje vina. Prav tako lahko pride zaradi spremembe temperature do premika topnosti posameznih sestavin. Pri motnosti imajo poglavitno vlogo spremembe v kislosti, in to zlasti v koncentraciji prostih vodikovih ionov (H^+) ali vrednosti pH, nadalje električni naboji v vinu raztopljenih koloidov, pretresi ali stresi vina (Šikovec, 1993).

Motnost filtriranega belega vina je v povprečju od 1-1,5 NTU.



Slika 35: Motnost (NTU) vina pred filtracijo pri sortah renski in laški rizling.

Po pričakovanjih so bili vsi vzorci še zelo motni, saj še ni bila opravljena filtracija. Slika 35 kaže, da je bil daleč najbolj moten vzorec LR 3. Pri tem vzorcu je bila tudi največja absorbanca (slika 34). Vzorci sorte renski rizling so bili bistveno manj motni kot vzorci sorte laški rizling, kar pomeni, da so se bolj očistili in da je pri njih bilo prisotnih manj beljakovin, mikroorganizmov in drugih koloidov, ki prispevajo k motnosti. Vzorca RR 3 in LR 3 sta imela večjo motnost, kar je verjetno posledica prisotnosti več mikroorganizmov (predvsem mlečno-kislinskih bakterij), ki so bili prisotni.

4.5 REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE

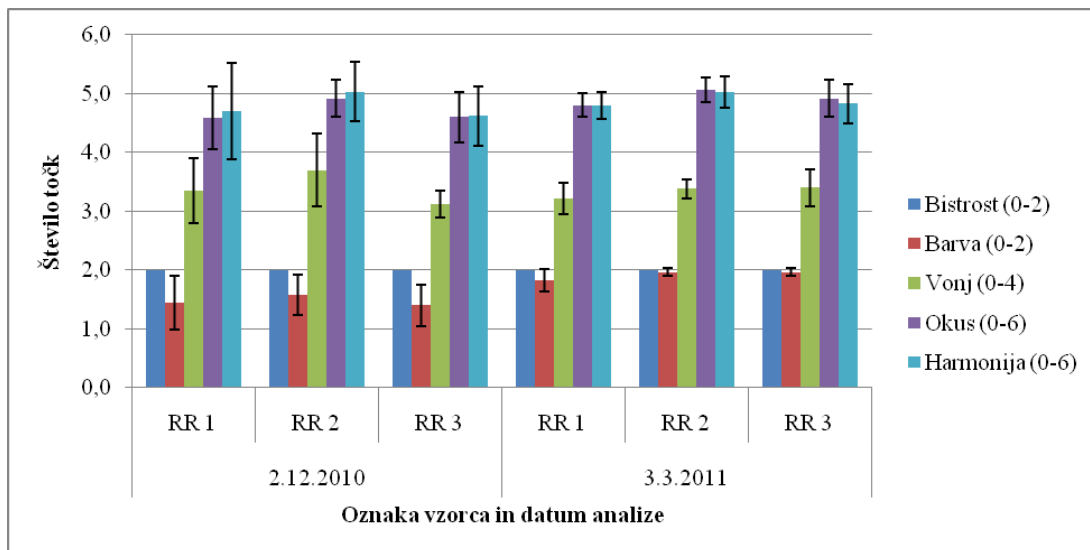
Senzorične analize smo opravljali v degustacijski sobi ormoške kleti; in sicer je sodelovalo osem članov.

Vina smo najprej senzorično ocenili po prvem pretoku (2.12.2010) in nato še po grobi filtraciji (3.3.2011); in sicer najprej po Buxbaumovi metodi in nato še po metodi hedonskega ocenjevanja.

4.5.1 Buxbaumova metoda ocenjevanja

Kot že omenjeno, smo najprej vina ocenili po Buxbaumovi metodi. Sodelovalo je osem članov. Pri vsakem vzorcu smo najvišjo in najnižjo oceno zavrgli ter izračunali povprečje preostalih šestih ocen.

4.5.1.1 Renski rizling



Slika 36: Senzorična ocena vin sorte renski rizling po Buxbaumovi metodi (lastnosti posameznih parametrov - povprečje).

- **Bistrost**

Bistrosti vina nismo ocenjevali, ker vino pri prvem ocenjevanju še ni bilo dokončno očiščeno in filtrirano, tako da smo vsem vzorcem dali 2 točke.

- **Barva**

Z nagibanjem kozarca smo ocenili barvo vina, kjer smo opazovali odtenke barv (rumenkasto, zeleno, slamnato, zlato ali jantarno), in intenzivnost barve (bleda, vodena, srednja ali intenzivna).

Pri prvem ocenjevanju (2.12.2010) sta imela najboljše ocenjeno barvo vzorca RR 2 in RR 3. Pri vseh vzorcih je bilo opaziti višje tone barv, kar je znak slabe kakovosti grozdja. Pri vzorcu RR 1 pa so odtenki prešli v rahlo rjavkaste.

Pri drugem ocenjevanju (3.3.2011) je bila barva bolj intenzivna. Pri vzorcih RR 2 in RR 3 je bila barva boljša kot pri vzorcu RR 1, kjer je bilo še vedno opaziti rjavkaste odtenke.

- **Vonj**

Vonj vina smo ocenili tako, da smo vino povohali najprej v mirujočem kozarcu (pred vrtenjem), pri čemer smo bili pozorni predvsem na vrsto (hlapne aromatične sestavine) in intenzivnost (šibka, srednja ali izražena) vonjev. Zatem pa smo zavrteli kozarec, s čimer smo pospešili sproščanje aromatičnih sestavin, in vino povohali z nosom globlje v kozarcu ter primerjali vrsto in intenzivnost vonjav v primerjavi s prvo zaznavo.

Pri prvem ocenjevanju je bil najboljše ocenjen vonj vzorca RR 2. Pri vseh vzorcih je bilo zaznati rahle reduktivne note, ki so po vrtenju kozarca izginile. Pri vseh vzorcih je bilo ravno tako zaznati medicinske note, kar je posledica gnilobe grozdja in težav pri

fermentaciji. Največ jih je bilo pri vzorcu RR 1. Največ sadnih vonjev je bilo zaznati pri vzorcih RR 2 in RR 3.

Pri drugem ocenjevanju je bilo pri vzorcu RR 1 še vedno zaznati medicinske note, ki so posledica gnilega grozdja. RR 2 je bil veliko bolj saden, vendar še vedno je bilo zaznati toksine. RR 3 je sprva deloval boljši v vonju kot RR 2, vendar se je po vrtenju kozarca pokazalo, da je zaznati nekoliko več nečistoč.

- **Okus**

Sledilo je okušanje vina (zaznave v ustih), pri katerem smo okušali manjše količine (6-10 mL), s katerim smo prekrili celotno ustno votlino – površino jezika, lica in nebo. Pozorni smo bili na časovni pojav zaznav posameznega okusa (sladko, kislo, grenko), trajanje zaznave, obstojnost ali perzistenco ter na spremembe v zaznavi in intenzivnosti okusa. Temu je sledila taktilna ali tipna zaznava trpkosti (astringence), zbadanja ali pikanja (npr. CO₂), polnosti, ekstraktnosti, temperature in toplote vina. V tej fazi se je ponovno pojavila zaznava vonja vina kot posledica višje temperature v ustih, pri čemer smo bili pozorni predvsem na vrsto, razvoj in trajanje intenzivnosti vonjav v primerjavi samo z vohanjem vina. Nato smo opisali še pookus vina – to je vonj, ki ga zaznamo, če po 15-30 sekundah vdihnemo zrak v pljuča (hlape vina), popijemo ali izpljunemo požirek v pljuvalnik ter izdahnemo ogrete hlape skozi nos.

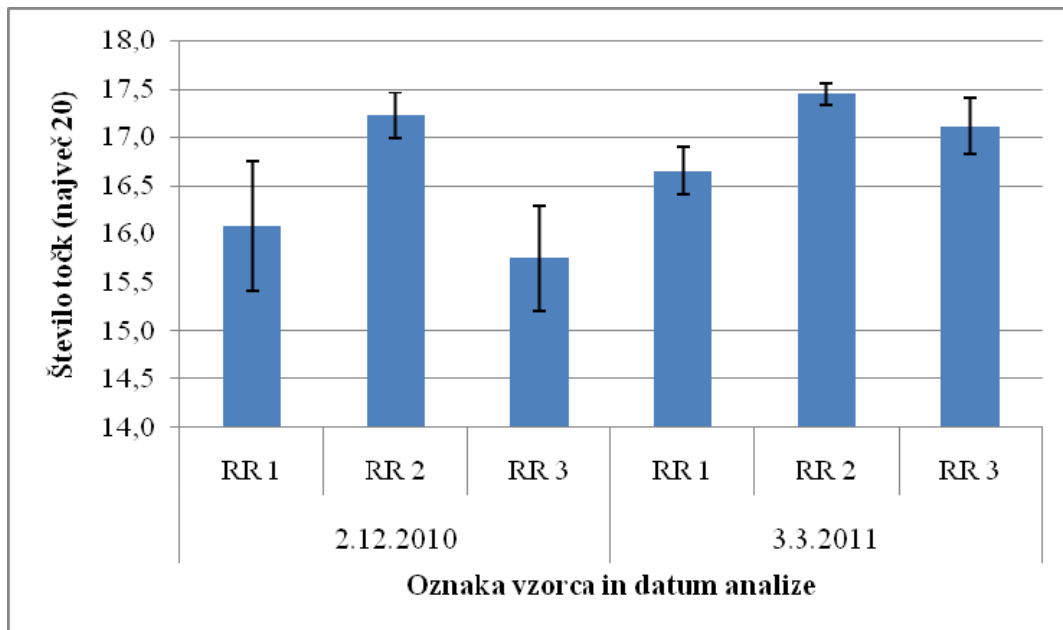
Pri prvem ocenjevanju je v okusu najboljše deloval vzorec RR 2. Zaznati je bilo nekaj medicinskih not v okusu, ki pa so bile pri tem vzorcu najmanj moteče. RR1 je v okusu grenil; iz okusa je moč sklepati na slabo grozdje in težave kvasovk pri fermentaciji. Pri vzorcu RR 3 smo pričakovali mlečne note, ki pa jih ni bilo. Izstopala je kislina; v okusu je bilo zaznati medicinske note.

Pri drugem ocenjevanju je pri vzorcu RR 1 še vedno zaznati medicinski okus (po zdravilih). Drugi vzorec RR 2 je bil v okusu občutno boljši in bolj svež, vendar so bile še vedno prisotne moteče komponente (po zdravilih). RR 3 je na okusu najbolj nevtralen. Zelo je napredoval v primerjavi z prejšnjim ocenjevanjem. Pookus je nekoliko prazen.

- **Harmonija**

Glede na splošni ali končni vtis smo vino ocenili s harmoničnostjo.

Najboljši skupni vtis je imel vzorec RR 2 tako pri prvem in drugem ocenjevanju. Najbolj se je približal sadnosti in polnosti okusa, čeprav je bilo pri vseh vzorcih prisotnih veliko medicinskih not. Pri prvem ocenjevanju je bil najmanj harmoničen vzorec RR 3, kjer je izstopala kislina. Pri drugem ocenjevanju je bil bistveno bolj harmoničen, kislina je bila bolj mehka in ni izstopala.

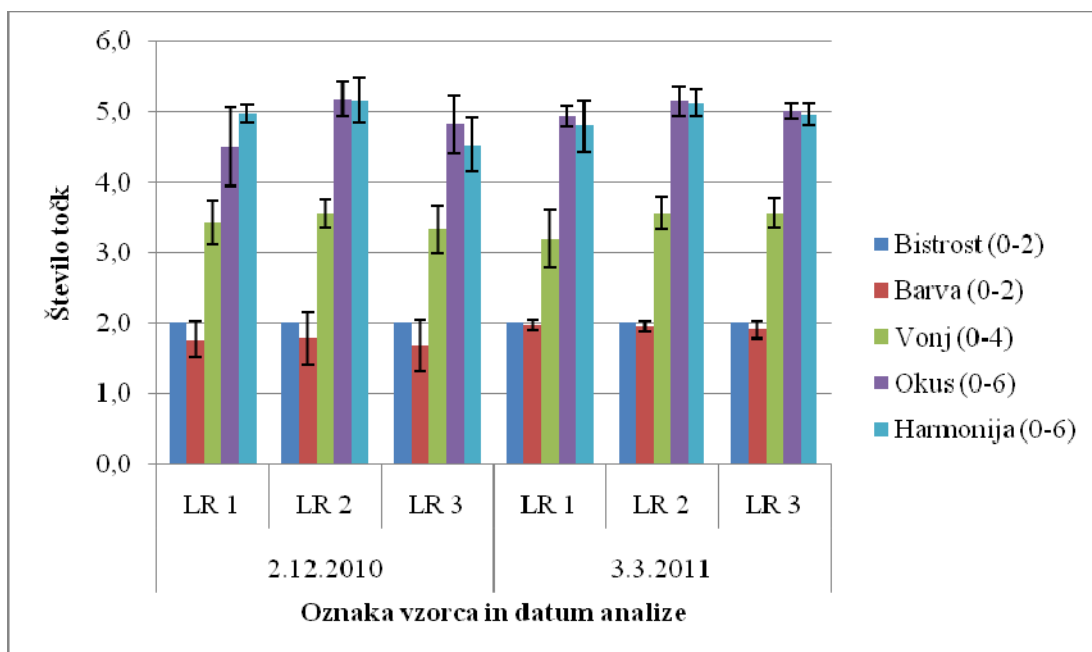


Slika 37: Senzorična ocena vin sorte renski rizling po Buxbaumovi metodi (skupna ocena - povprečje).

Slika 37 kaže, da je imel pri prvem ocenjevanju najboljšo skupno oceno RR 2 (17,2 točke), najslabšo pa RR 3 (15,8 točk). Pri drugem ocenjevanju je imel ravno tako najboljšo oceno vzorec RR 2 (17,5), ki je bil dokaj saden in je tudi imel najboljši skupni vtis. V okusu je zelo napredoval vzorec RR 3, ki je dobil končno oceno 17,1 točke.

Pri vseh vzorcih je bilo v vonju in okusu zaznati medicinske note (okus in vonj po zdravilih), kar je znak slabega (gnilega) grozdja. Vzorec RR 1 je bil pri obeh ocenjevanjih senzorično najslabše ocenjen.

4.5.1.2 Laški rizling



Slika 38: Senzorična ocena vin sorte laški rizling po Buxbaumovi metodi (lastnosti posameznih parametrov - povprečje).

- **Bistrost**

Bistrosti vina nismo ocenjevali, ker vino pri prvem ocenjevanju še ni bilo dokončno očiščeno in filtrirano, tako da smo vsem vzorcem dali 2 točke.

- **Barva**

Pri prvem ocenjevanju (2.12.2010) sta imela najboljše ocenjeno barvo vzorca LR 1 in LR 2. Pri vzorcu LR 3 je bila barva nekoliko bolj bleda.

Pri drugem ocenjevanju (3.3.2011) je bila barva polnejša in bolj intenzivna. Pri LR 3 je bila barva nekoliko bolj bleda.

Na splošno so pri vseh vzorcih LR bile barve veliko bolj zelenkaste. Ni bilo zaznati rjavkastih odtenkov kot pri vzorcih sorte renski rizling.

- **Vonj**

Pri prvem ocenjevanju je bil najboljše ocenjen vonj vzorca LR 2 (3,6 točke), najslabše pa vzorec LR 3 (3,3 točke). Pri vzorcu LR1 je bil vonj sicer saden, vendar je bilo v ozadju čutiti nečist vonj (gnila čebula). Pri vzorcu LR 2 je bila najbolj izražena sadnost in sortnost vina. V vonju je čutiti sadno eksotične note. Vzorec LR 3 je v vonju deloval mlečno, masleno, zaznati je bilo tropske note. Manjkala je sortnost.

Pri drugem ocenjevanju sta bila v vonju najboljše ocenjena vzorca LR 2 in LR 3 (oba 3,6 točke). Pri vzorcu LR 1 je bilo še bolj čutiti nečiste vonje (merkaptani).

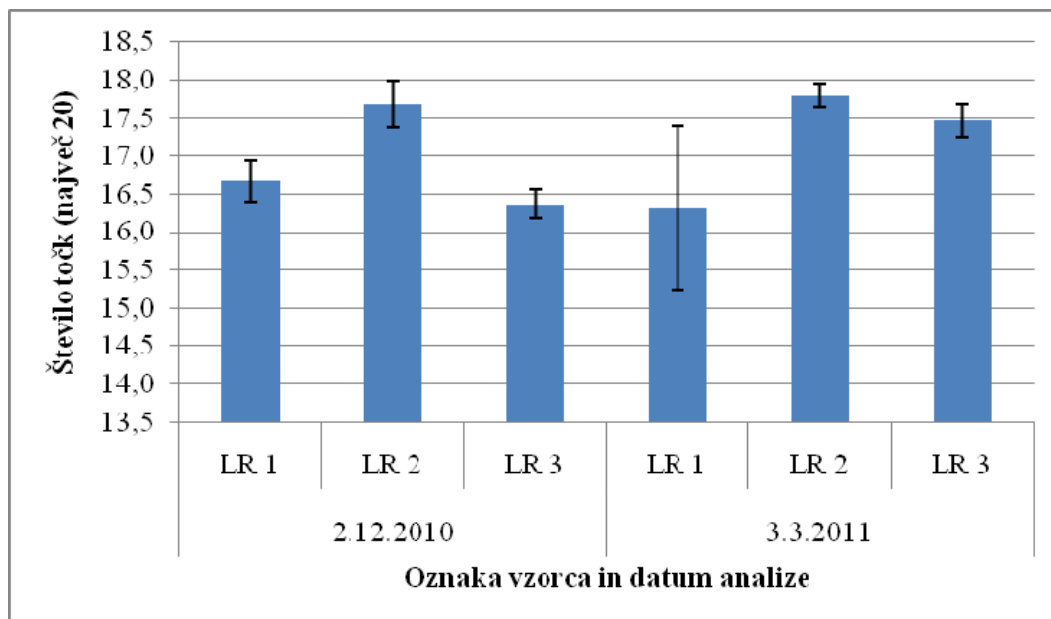
- **Okus**

Pri prvem ocenjevanju je v okusu najboljše deloval vzorec LR 2 (5,2 točke), najslabše pa vzorec LR 1 (4,5 točke). Pri LR 1 je čutiti napake v okusu (rahle merkaptanske note), ni harmonije. LR 2 je imel zelo lepo izraženo sortnost, sadnost in mineralnost v okusu. Tudi pookus je soliden. Bilo je zaznati tudi nežne mlečne in maslene note. Pri LR 3 je bilo zaznati mlečne, maslene note, ki pa so hitro izginile.

Pri drugem ocenjevanju je bil spet najbolje ocenjen v okusu vzorec LR 2. Še vedno je rahlo čutiti mlečne note. Imel je zelo lep, prijeten okus; mogoče je malo izstopala kislina. LR 3 je bil veliko bolj nevtralen in sramežljiv v okusu. Mlečnih not ni bilo več zaznati. Deloval je nekoliko prazno. Vzorec LR 1 se je bil pri tem ocenjevanju v okusu veliko boljši kot pri prejšnjem. Ni bilo zaznati toliko merkaptanskih not.

- **Harmonija**

Najboljši skupni vtis je imel vzorec LR 2, ki je bil na pragu vrhunskega. Nobena komponenta ni izstopala, bilo je čutiti polnost in sortnost v okusu in vonju. Vzorec LR 1 je bil glede na skupni vtis dokaj nevtralen; bilo pa je čutiti rahle napake in nečistoče v okusu in vonju. LR 3 je deloval nekoliko prazno.



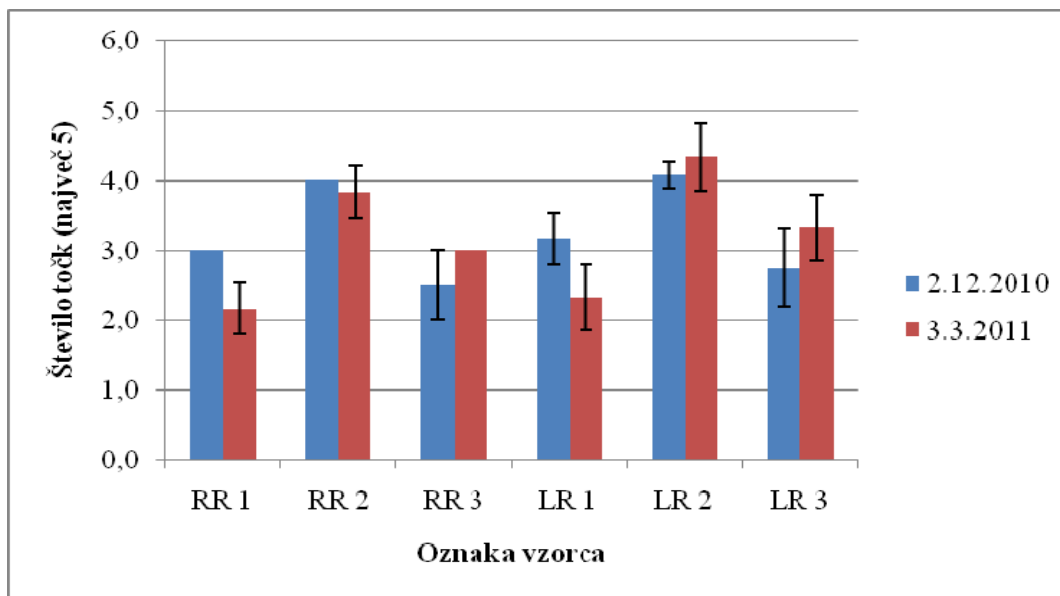
Slika 39: Senzorična ocena vin sorte laški rizling po Buxbaumovi metodi (skupna ocena - povprečje).

Slika kaže da je imel po prvem ocenjevanju najboljšo oceno vzorec LR 2 (17,7 točke) najslabšo pa vzorec LR 3 (16,4 točke). Pri drugem ocenjevanju je vidno, da so vzorci napredovali. Vzorec LR 2 je bil še vedno najbolje ocenjen. (17,8 točke).

Dejstvo je, da so bili vzorci sorte laški rizling za razred boljši kot vzorci sorte renski rizling. To je posledica zdravstvenega stanja grozdja, ki je bilo pri sorti renski rizling zelo slabo.

4.5.2 Hedonska metoda ocenjevanja

Na koncu smo vzorce ocenili še po všečnosti; in sicer 1,0 točke-najmanj všeč in 5,0-najbolj všeč.



Slika 40: Senzorična ocena vin sort renski in laški rizling po hedonski ocenjevalni metodi.

Slika 40 kaže, da sta bila pri obeh ocenjevanjih najbolj všečna vzorca RR 2 (4,0 in 3,8) in LR 2 (4,1 in 4,3), kar se ujema z analizo po Buxbamovi metodi. Najslabše sta bila ocenjena vzorca RR 1 (3,3 in 2,2) in LR 1 (3,2 in 2,3).

V splošnem so bili boljše ocenjeni vzorci sorte laški rizling. To smo tudi pričakovali, saj je bila zaradi slabega grozdja sorte renski rizling otežena fermentacija, grozdje pa je s sabo prineslo veliko tujih vonjev, ki so vplivali tako na senzorične rezultate, kot tudi na ostale analize. Laški rizling je bil veliko bolj saden, sorten, imel je lepšo zelenkasto-rumeno barvo. Pri vzorcih RR 3 in LR 3 smo pričakovali nežnejšo mlečno kislino (zaradi pričakovane mlečnokislinske fermentacije), ki je sicer bila pri prvem senzoričnem ocenjevanju prisotna pri LR 3, kasneje pa več ne.

5 SKLEPI

Na osnovi opravljenega poskusa smo prišli do naslednjih sklepov:

5.1 RENSKI RIZLING

- Vrednosti pH mladega vina so bile pri vseh vzorcih višje od vrednosti pH mošta in v pričakovanih območjih (manj kot 3,6).
 - Vsi vzorci so imeli koncentracijo skupnih kislin v pričakovanem območju (6-9 g/L). Prav tako je bila koncentracija skupnih kislin v vseh vzorcih pričakovano manjša kot v moštu; potrebno je omeniti, da je bil v vseh vzorcih storjen kemični razkis za znižanje vinske kisline za 1 g/L.
 - Koncentracija hlapnih kislin je bila v vseh vzorcih v pričakovanem območju (pod 1 g/L očetne kisline) in niso bile senzorično zaznavne.
 - Vrednosti relativne gostote so bile v pričakovanem območju (okrog 1).
 - Vzorec RR 1 je bil ekstraktno najbolj bogat. Vsi vzorci pa so imeli koncentracijo sladkorja prostega ekstrakta v pričakovanem območju (7-30 g/L).
 - Največjo koncentracijo alkohola je tvorila starterska kultura v vzorcih RR 1 in RR 2. Mešana kultura kvasovk in bakterij v vzorcu RR 3 pa je tvorila najmanj alkohola, čeprav je bila fermentacija najdaljša. Vsi vzorci so imeli vrednosti alkohola od 11 do 12 vol.%.
 - Največjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev sta imela vzorca RR 1 in RR 2 (nad 4 g/L), najmanjšo pa vzorec RR 3 (pod 2 g/L).
 - Koncentracija prostega žveplovega dioksida se med vzorci ne razlikuje veliko, medtem ko je koncentracija vezanega žveplovega dioksida največja pri vzorcu RR 1, kjer je posledično večja tudi skupna koncentracija žveplovega dioksida.
 - Koncentracija glicerola je bila pri vseh vzorcih v pričakovanih območjih (nad 5 g/L). Največja je bila pri vzorcu RR 1, najmanjša pa pri vzorcu RR 3.
 - Vsi vzorci so imeli izmed preiskovanih kislin največ vinske in jabolčne kisline. Najbolj primerljiva in najmanjša je bila koncentracija jantarne kisline. Najmanj jabolčne kisline je po pričakovanjih vseboval vzorec RR 3, kjer so bile že v začetku prisotne mlečno-kislinske bakterije.
 - Vsebnosti višjih alkoholov 3-metil butanola je bila največja pri vzorcu RR 3, najmanjša pa pri vzorcu RR 2, vzorci feniletanola pa so bili primerljivi.
- V ploščinah kromatografskih vrhov 2-feniletil acetata, etil acetata, heksil acetata, izoamil oktanoata, etil nonaoata, izopentil heksanoata, etil dodekanoata, etil butirata, etil heksanoata, izoamil acetata in etil oktanoata ni bilo bistvenih razlik. Ploščina etil dekanoata je bila največja pri vzorcu RR 3. Ploščine linaloola so bile pri vseh vzorcih višje od pričakovanih, a jih senzorično nismo zaznali. Kvasovke vzorca RR 2 niso tvorile benzaldehida. Ploščine kromatografskih vrhov beta-damascenona so bile primerljive.

- Intenziteta barve (vrednost absorbance pri valovni dolžini 420 nm) je med 0,300 in 0,700. Največjo vrednost je imel vzorec RR 3.
- Motnost je bila pri vseh vzorcih dokaj primerljiva. Najbolj odstopa vzorec RR 3, kateremu smo izmerili motnost 108 NTU.
- Pri senzorični analizi smo vzorce najprej ocenili po Buxbaumovi metodi ocenjevanja. Najbolje je bil pri obeh analizah (2.12.2010 in 3.3.2011) ocenjen vzorec RR 2 (17,2 in 17,5 točk). Tukaj je bila najbolj izražena sortnost, prav tako pa se je bilo najmanj zaznati nepravilnosti v okusu in vonju zaradi slabega grozdja. Pri prvi analizi je najbolj izstopal vzorec RR 3, ki je dobil najslabšo oceno 15,8 točk. Pri vzorcu RR 3 pri prvem in drugem ocenjevanju v okusu ni bilo zaznati mlečne kisline oz. znakov jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. Vsi vzorci so spadali v kategorijo kakovostna vina ZGP. Sledila je še hedonska metoda ocenjevanja. Pri obeh datumih ocenjevanja je bil najbolj všečen vzorec RR 2, najmanj pa vzorec RR 1.

5.2 LAŠKI RIZLING

- Vrednosti pH mladega vina so bile pri vseh vzorcih višje od vrednosti pH mošta in v pričakovanih območjih (manj kot 3,6).
- Vsi vzorci so imeli koncentracijo skupnih kislin v pričakovanem območju (6-9 g/L). Koncentracija skupnih kislin v vseh vzorcih je bila nekoliko večja kot v moštu; to je lahko znak otežene fermentacije in večjega nastajanja kislin v TCA-ciklu, kot je bilo izločanje le teh v obliki vinskega kamna. Največjo koncentracijo skupnih kislin je imel vzorec LR 1 (6,83 g /L).
- Koncentracija hlapnih kislin je bila v vseh vzorcih v pričakovanem območju (pod 1 g/L očetne kisline) in niso bile senzorično zaznavne. Največjo koncentracijo je imel vzorec LR 2 (0,4 g/L očetne kisline).
- Vrednosti relativne gostote so bile v pričakovanem območju (okrog 1).
- Vzorec LR 2 je bil ekstraktno najbolj bogat. Vsi vzorci pa so imeli koncentracijo sladkorja prostega ekstrakta zelo primerljivo in sicer od 21 do 22 g/L, kar je v pričakovanem območju (7-30 g/L).
- Največjo koncentracijo alkohola je tvorila starterska kultura v vzorcu LR 1. Mešana kultura kvasovk in bakterij v vzorcu LR 3 pa je tvorila najmanj alkohola, čeprav je fermentacija bila najdaljša. Vsi vzorci so imeli vrednosti alkohola od 10 do 11 vol.%.
- Največjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev je imel vzorec LR 2 (2,6 g/L), najmanjšo pa pri vzorec LR 1 (1,1 g/L).
- Koncentracija prostega žveplovega dioksida se med vzorci ne razlikuje veliko, medtem ko je koncentracija vezanega žveplovega dioksida največja pri vzorcu LR 1, kjer je posledično večja tudi skupna koncentracija žveplovega dioksida.
- Koncentracija glicerola je bila pri vseh vzorcih v pričakovanih območjih (nad 5 g/L). Največja je bila pri vzorcu LR 1.
- Vsi vzorci so imeli izmed preiskovanih kislin največ vinske in jabolčne kisline. Najbolj primerljiva in najmanjša je bila koncentracija jantarne kisline. Najmanj jabolčne kisline sta vsebovala vzorca LR 2 in LR 3. Največje vrednosti vseh izmerjenih kislin je imel vzorec LR 1.
- Vsebnost višjih alkoholov 3-metil butanola je bila največja pri vzorcu LR 3, najmanjša pa pri vzorcu LR 2, vzorci pa so bili primerljivi v vsebnosti 2-feniletanola.

V ploščinah kromatografskih vrhov 2-feniletil acetata, etil acetata, heksil acetata, izoamil oktanoata, etil nonaoata, izopentil heksanoata, etil dodekanoata, etil butirata in etil heksanoata ni bilo bistvenih razlik. Vsebnost etil oktanoata je bila največja pri vzorcu LR 2. Ploščina kromatografskega vrha izoamil acetata je bila najmanjša pri vzorcu LR 2, daleč največja pa pri vzorcu LR 3. Ploščine linaloola so bile primerljive. Kvasovke vzorca LR 1 in LR 2 niso tvorile benzaldehida. Ploščine beta-damascenona so bile primerljive.

- Intenziteta barve (vrednost absorbance pri valovni dolžini 420 nm) je pri vzorcih LR 1 in LR 2 med 0,500 in 0,700. Daleč največjo vrednost je imel vzorec LR 3 (1,536).
- Motnost je bila pri prvih dveh vzorcih dokaj primerljiva. Najbolj odstopa vzorec LR 3, kateremu smo izmerili motnost 398 NTU, kar je verjetno posledica večjega števila mikroorganizmov, ki so bili prisotni pri meritvi, saj smo hoteli do konca izpeljati biološki razkis.
- Pri senzorični analizi po Buxbaumovi metodi ocenjevanja pri obeh datumih ocenjevanja (2.12.2010 in 3.3.2011) je bil najbolje ocenjen vzorec LR 2 (17,7 in 17,8 točk). Tukaj je bila najbolj izražena sortnost, sadnost in svežina. Pri prvi analizi je najbolj izstopal vzorec LR 3 (16,4 točk). Pri vzorcu LR 3 smo pri prvem ocenjevanju zaznali mlečne note v okusu, kar bil znak delovanja mlečno-kislinskih bakterij. Pri drugem ocenjevanju (3.3.2011) tega ni bilo več zaznati. Vsi vzorci so spadali v kategorijo kakovostna vina ZGP.

Sledila je še hedonska metoda ocenjevanja. Pri obeh datumih ocenjevanja je bil najbolj všečen vzorec LR 2. Pri drugem ocenjevanju je bil najmanj všečen vzorec LR 1.

Glede na potek fermentacije in končne rezultate tako fizikalno-kemijskih kot senzoričnih analiz, se je izkazalo, da so se razlike med vzorci zaradi vpliva kvasovk in bakterij pokazale predvsem pri senzoričnem ocenjevanju in koncentraciji glicerola pri delovanju bakterij pri vzorcih RR 3 in LR 3.. Najboljše ocene pri senzoričnem ocenjevanju sta dobili starterska kultura v vzorcu RR 2 in starterska kultura v vzorcu LR 2.

6 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti vpliv različnih sevov kvasovk na potek alkoholne fermentacije ter na izoblikovanje fizikalno-kemijskih in senzoričnih lastnosti vina.

Za izvedbo poskusa smo izbrali sorti renski in laški rizling Ljutomersko-Ormoškega vinorodnega okoliša. Letnik 2010 ni bil optimalen za doseg vrhunske kakovosti vin. V času dozorevanja je padla zelo velika količina padavin, tudi temperature so bile precej nižje od dolgoletnih povprečij. Grozdje je doseglo polno zrelost kasneje, o prezrelosti pa bi težko govorili. Ravno tako je potrebno omeniti, da je bilo grozdje sorte renski rizling veliko slabše in predvsem bolj gnilo od sorte laški rizling.

Po trgatvi in začetni predelavi grozdja, vključno z bistenjem mošta, smo mošt sorte renski rizling pretočili v tri 720 L fermentorje iz nerjavnega jekla, laški rizling pa v dva 720 L in en 540 L fermentor. Inokulirali smo jih s štirimi različnimi sevi kvasovk. Alkoholna fermentacija je potekala pri temperaturi pod 18 °C.

Po zaključeni alkoholni fermentaciji smo opravili osnovne fizikalno-kemijske meritve ter vino senzorično ocenili.

Kvasovke, ki so bile prisotne pri vzorcih RR 1, LR 1 in RR 3, LR 3 so opravile fermentacijo hitreje, kar je bilo vidno pri obeh sortah. Najpočasneje so fermentacijo opravljale kvasovke, prisotne v vzorcih RR 2 in LR 2.

Kvasovke, ki so bile prisotne v RR 1 in LR 1, so začele fermentirati prej in bolj burno kot kvasovke pri vzorcih RR 2 in LR 3. Vzorca sta vsebovala največjo koncentracijo skupnih kislin in glicerola. Tvorile so tudi največje koncentracije alkohola. Pri obeh sortah smo pri teh kvasovkah porabili tudi največ žvepla, kar se odraža v največji koncentraciji skupnega SO₂. To se je kasneje pokazalo tudi v slabši senzorični oceni v primerjavi z ostalimi vzorci.

Kvasovke, prisotne v vzorcu RR 2, so fermentirale zelo mirno. Kvasovke so tvorile največje količine hlapnih kislin, kar senzorično ni bilo zaznavno. Izmed vseh vzorcev so najpočasneje porabljale glukozo in jo tudi najkasneje porabile, kakor tudi fruktozo, ki so jo porabljale za glukozo. Čeprav je bila pri vzorcih renskega rizlinga koncentracija skupnega žvepla zelo velika, je pri vzorcu RR 2 bila poraba najmanjša. Vzorec je bil pri sorti renski rizling senzorično najboljše ocenjen.

Kvasovke, prisotne v vzorcu LR 2, so ravno tako fermentirale mirno. Pri fermentaciji ni bilo težav, kar je bilo zaznati tudi v vonju tekom fermentacije (lepa sadna aroma). Tvorba hlapnih kislin je bila večja kot pri drugih vzorcih sorte laški rizling, vendar senzorično ni bila zaznavna. Določili smo 19 aromatičnih spojin, izmed katerih so imele največje vsebnosti, v primerjavi z ostalimi vzorci, etil oktanoat, etil heksanoat in etil dekanat. Vzorec LR 2 je imel najmanjšo koncentracijo skupnega žvepla. Pri vseh senzoričnih ocenjevanjih je bil najboljše ocenjen. Najbolj je bila izražena sortnost, sadnost in svežina.

Kvasovke prisotne v vzorcih RR 3 in LR 3 so fermentirale podobno kot kvasovke pri vzorcih RR 1 in LR 1. Tukaj so bile od začetka prisotne še mlečnokislinske bakterije. Po

končani alkoholni fermentaciji smo pri vzorcu RR 3 opravili še kemični razkis, da bi lažje potekla jabolčno-mlečnokislinska fermentacija. Vzorca sta po pričakovanjih vsebovala manjše koncentracije jabolčne kisline. Pri vzorcu RR 3 to senzorično ni bilo zaznavno, pri vzorcu LR 3 pa je bilo po alkoholni fermentaciji (med jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo) in pri prvem senzoričnem ocenjevanju v okusu čutiti mlečno kislino. Tega pri drugem ocenjevanju nismo več zaznali. Pri obeh vzorcih smo določili 20 aromatičnih spojin. Vzorca sta imela tudi največjo ploščino kromatografskih vrhov. Povečana je bila vsebnost obeh višjih alkoholov (3-metilbutanol in feniletanol), etil acetata, izoamil acetata, etil oktanoata in etil dekanooata.

Dodane starterske kulture kvasovk v mošt so se po vseh opravljenih analizah najbolj razlikovale v tvorbi hlapnih aromatičnih snovi.

Senzorično sta bila najslabše ocenjena vzorca RR 1 in LR 1.

Kvasovke in mlečno-kislinske bakterije pri vzorcih RR 3 in LR 3 so tvorile največje koncentracije aromatičnih spojin.

Biološki razkis pri sorti renski rizling (RR 3) ni potekel v celoti, kar lahko sklepamo iz majhnega znižanja koncentracije jabolčne kisline. To je verjetno posledica slabšega stanja grozdja, kar pomeni, da mlečno-kislinske bakterije niso imele optimalnih pogojev za delovanje. Po navajanju Lallemand-a je lahko razlog nižji pH (pod 3,4), kar lahko zelo oteži delovanje mlečnokislinskih bakterij.

Pri sorti laški rizling je bilo sicer med fermentacijo in po njej v okusu zaznati mlečne in rahlo maslene note, vendar razkis kljub temu ni potekel do konca, saj je bilo še veliko neporabljenih jabolčne kisline.

Najboljše rezultate s senzoričnega vidika so dale kvasovke v vzorcih RR 2 in LR 2. Najboljšega med vsemi pa vzorec LR 2, kjer je bila najbolj izražena sortnost, sadnost in svežina.

Vidna je razlika med sortama tako v fizikalno-kemijskih parametrih, kot tudi v senzoričnih analizah; to je posledica predvsem slabšega zdravstvenega stanja grozdja sorte renski rizling, zaradi česar je fermentacija potekala veliko težje.

7 VIRI

Bavčar D. 2006. Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas: 286 str.

Bizaj E. 2004. Potica. Seminarska naloga pri predmetu Biotehnologija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, oddelek za živilstvo: 7-9

Golob T., Bertonec J., Doberšek U., Jamnik M. 2006. Senzorična analiza živil. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 7-7, 73-73

Hrček L., Korošec-Koruza Z. 1996. Sorte in podlage vinske trte: ilustriran prikaz trsnega izbora za Slovenijo. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas: 40-40, 42-44

Jenko M. 2009. Vpliv sevov kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* na sestavo in senzorično kakovost vina laški rizling. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 79 str.

Knoll C., Fritsch S., Schnell S., Grossmann, Rauhut D., Toit M. 2010. Influence of pH and ethanol on malolactic fermentation and volatile aroma compound composition in white wines. LWT - Food Science and Technology, 44, 10.: 2077-2086

Košmerl T. 2005. Senzorične lastnosti mošta in vina: študijsko gradivo za pokuševalce vina, mošta in drugih proizvodov iz grozdja in vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 60 str.

Košmerl T. 2007a. Alkoholna fermentacija mošta: izbrana poglavja pri predmetu Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1-2, 5-11, 17-19, 34-39, 79-85

Košmerl T. 2007b. Bistrenje, čiščenje in stabilizacija vina pred stekleničenjem: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 6-6, 9-9

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

Košmerl T., Kordiš-Krapež 1997. Aromatične snovi v vinu. V: Tehnologija–hrana-zdravje. 1. slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo, Bled, 21 – 25 april, 1996. Knjiga del: Vol. 2. Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 877-887.

Lallemand. 2006a. Malolactic fermentation in wine: understanding the science and the practice. Montréal, Lallemand Corporation: 19 str.

Lallemand. 2006b. EC-1118 The original 'Prise De Mousse'. Toulouse, Lallemand Corporation: 2 str.

<http://www.lalvinyeast.com/EC1118.asp> (marec 2011)

Lallemand. 2007a. Uvaferm GHM: New yeasts for balanced whites. Toulouse, Lallemand Corporation: 1 str.

<http://www.lallemandwine.com/spip.php?article380&lang=en> (marec 2011)

Lallemand 2007b. Duo Riesling – yeast/bacteria synergy for white wines. Toulouse, Lallemand Corporation: 1.str

<http://www.lallemandwine.com/spip.php?article426&lang=en> (marec 2011)

Lallemand. 2011. Uvaferm CEG. Geishenheim, Geishenheim institute: 1 str.

<http://www.lallemandwine.com/catalog/products/view/673> (marec 2011)

Lamothe-Abiet. 2009. Solutions for wine making. Bordeaux, Lamothe-Abiet company: 1 str.

<http://www.lamothe-abiet.com/en/activators/4-lamothe-abiet-oenostim> (marec 2011)

Mateo J.J., Jiménez M., Pastor A., Huerta T. 2001. Yeast starter cultures affecting wine fermentation and volatiles. Food Research International, 34: 307-314

Mira de Orduña R. 2010. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. Food Research International, 43, 7.: 1844-1855

Molina A.M., Guadalupe V., Varela C., Swiegers J.H., Pretorius I.S., Agosin E. 2009. Differential synthesis of fermentative aroma compounds of two related commercial wine yeast strains. Food Chemistry, 117, 2: 189-195

Nemanič J. 1999. Spoznajmo vino: vinske arome v sortah in zvrsteh, degustacija in ocenjevanje, vino in hrana. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 49-50, 53-54

Pravilnik o pogojih, ki mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za predelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43: 5336-5357

Pravilnik o spremembah in dopolnitvah Pravilnika o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za predelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2005. Uradni list Republike Slovenije, 15, 112: 12183-12183

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, Oddelek za živilstvo: 1-12

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

Rodríguez Montealegre R., Peces R., Vozmediano C., Gascueña J.M., Garcia Romero E. 2005. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19. 6-7: 687-693

Radovanović V. 1986. Tehnologija vina. Beograd, Građevinska knjiga: 686 str.

Raspor P. 1996. Kvasovke. V: *Biotehnologija: osnovna znanja*. Raspor P. (ur.) Ljubljana, BIA, d.o.o.: 70-70, 80-80

Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A. 2000a. *Handbook of enology*. Vol. 1: The microbiology of wine and vinification. Chichester, John Wiley&Sons: 114-115, 135-135

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2000b. *Handbook of enology*. Vol. 2: The chemistry of wine stabilization and treatments. Chichester, John Wiley&Sons: 4-4, 55-55, 304-304

Šikovec S. 1993. *Vinarstvo. Od grozdja do vina*. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 284 str.

Šikovec S. 1996. *Vino, pijača doživetja*. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 321 str.

Vodovnik A., Vodovnik T. 1999. *Nasveti za vinarje*. Ljubljana, Kmečki glas: 80-80

ZAHVALA

PRILOGE

Priloga A: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mošta sort renski in laški rizling med fermentacijo.

oznaka vzorca	parameter/datum analize							
	pH (/)		kisline (g/L)				kisle soli (mg/L)	
			TK (pH = 7,00)		SK (pH = 8,20)			
	18.10.2010	25.10.2010	18.10.2010	25.10.2010	18.10.2010	25.10.2010	18.10.2010	25.10.2010
RR 1	3,136	3,311	9,89	8,71	10,32	9,11	421,25	398,03
RR 2	3,128	3,299	9,53	8,33	9,93	8,69	400,08	356,14
RR 3	3,153	3,325	9,73	8,38	10,12	8,76	393,02	387,17
LR 1	3,218	3,374	7,65	7,07	7,98	7,36	325,83	295,96
LR 2	3,225	3,354	7,53	6,86	7,93	7,21	397,63	346,22
LR 3	3,265	3,396	7,55	7,1	7,87	7,42	318,16	319,54

Priloga B: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte renski rizling.

parameter	enota	vrednost/koncentracija		
		RR 1	RR 2	RR 3
pH	/	3,34±0,00	3,35±0,00	3,34±0,00
titrabilne kisline (pH = 7,0)	g/L vinske kisline	8,34±0,03	7,85±0,03	7,98±0,10
skupne kisline (pH = 8,2)	g/L vinske kisline	8,85±0,01	8,31±0,01	8,39±0,10
hlapne kisline	g/L očetne kisline	0,39±0,03	0,55±0,03	0,37±0,02
relativna gostota	/	0,99713±0,00004	0,996575±0,000005	0,99607±0,00000
skupni ekstrakt	g/L	32,32	30,78	29,2
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	27,52	25,88	27,4
koncentracija alkohola	vol. %	11,58±0,09	11,56±0,05	11,31±0,03
reducirajoči sladkorji	g/L	4,8±0,0	4,9±0,01	1,8±0,0
prosti žveplov dioksid	mg/L	24±0	23±0	25±0
skupni žveplov dioksid	mg/L	129±0	124±0	126±0
vezani žveplov dioksid	mg/L	105±0	101±0	101±0
glicerol	g/L	8,58	6,89	5,13
barva vina	/	0,326±0,000	0,397±0,002	0,687±0,005
motnost vina	NTU	33,3±0,1	44,5±0,1	107,5±1,5

Priloga C: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte laški rizling.

parameter	enota	vrednost/koncentracija		
		LR 1	LR 2	LR 3
pH	/	3,37±0,00	3,42±0,00	3,38±0,00
titrabilne kisline (pH = 7,0)	g vinske kisline/L	6,83±0,05	6,40±0,10	6,54±0,01
skupne kisline (pH = 8,2)	g vinske kisline/L	7,23±0,03	6,81±0,13	6,96±0,02
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,21±0,01	0,39±0,01	0,19±0,01
relativna gostota	/	0,994635±0,000005	0,995185±0,000005	0,99493±0,00001
skupni ekstrakt	g/L	21,67	22,94	21,91
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	20,57	20,34	20,31
koncentracija alkohola	vol. %	10,26±0,030	10,18±0,00	10,05±0,010
reducirajoči sladkorji	g/L	1,1±0,1	2,6±0,1	1,6±0,0
prosti žveplov dioksid	mg/L	25±0	30±0	26±0,
skupni žveplov dioksid	mg/L	91±0	78±0	83±0
vezani žveplov dioksid	mg/L	67±0	48±0	57±0
glicerol	g/L	5,61	4,89	5,06
barva vina	/	0,522±0,001	0,655±0,001	1,536±0,000
votnost vina	NTU	78,9±0,2	109,5±1,5	397,5±4,5

Priloga D: Rezultati senzorične ocene vin sorte renski rizling po Buxbaumovi metodi ocenjevanja.

datum analize	oznaka vzorca	parameter				
		bistrost (0-2)	barva (0-2)	vonj (0-4)	okus (0-6)	harmonija (0-6)
2.12.2010	RR 1	2,0	1,5±0,5	3,4±0,5	4,6±0,5	4,7±0,8
	RR 2	2,0	1,6±0,3	3,7±0,6	4,9±0,3	5,0±0,5
	RR 3	2,0	1,4±0,4	3,1±0,2	4,6±0,4	4,6±0,5
3.3.2011	RR 1	2,0	1,8±0,2	3,2±0,3	4,8±0,2	4,8±0,2
	RR 2	2,0	2,0±0,1	3,4±0,2	5,1±0,2	5,0±0,3
	RR 3	2,0	2,0±0,1	3,4±0,3	4,9±0,3	4,8±0,3

Priloga E: Rezultati senzorične ocene vin sorte renski rizling po Buxbaumovi metodi ocenjevanja (končna ocena).

datum analize	oznaka vzorca	število točk (največ 20)
2.12.2010	RR 1	16,1±0,7
	RR 2	17,2±0,2
	RR 3	15,8±0,5
3.3.2011	RR 1	16,7±0,2
	RR 2	17,5±0,1
	RR 3	17,1±0,3

Priloga F: Rezultati senzorične ocene vin sorte laški rizling po Buxbaumovi metodi ocenjevanja.

datum analize	oznaka vzorca	parameter				
		Bistrost (0-2)	Barva (0-2)	Vonj (0-4)	Okus (0-6)	Harmonija (0-6)
2.12.2010	LR 1	2,0	1,8±0,2	3,4±0,3	4,5±0,6	5,0±0,1
	LR 2	2,0	1,8±0,4	3,6±0,2	5,2±0,2	5,2±0,3
	LR 3	2,0	1,7±0,4	3,3±0,3	4,8±0,4	4,5±0,4
3.3.2011	LR 1	2,0	2,0±0,1	3,2±0,4	4,9±0,1	4,8±0,4
	LR 2	2,0	2,0±0,1	3,6±0,2	5,2±0,2	5,1±0,2
	LR 3	2,0	1,9±0,1	3,6±0,2	5,0±0,1	5,0±0,2

Priloga G: Rezultati senzorične ocene vin sorte laški rizling po Buxbaumovi metodi ocenjevanja (končna ocena).

datum analize	oznaka vzorca	število točk (največ 20)
2.12.2010	LR 1	16,7±0,3
	LR 2	17,7±0,3
	LR 3	16,4±0,2
3.3.2011	LR 1	16,4±1,1
	LR 2	17,8±0,2
	LR 3	17,5±0,2

Priloga H: Rezultati senzorične ocene vin sorte renski in laški rizling po hedonski ocenjevalni metodi.

oznaka vzorca	datum analize	
	2.12.2010	3.3.2011
RR 1	3,0±0,0	2,2±0,4
RR 2	4,0±0,0	3,8±0,4
RR 3	2,5±0,5	3,0±0,0
LR 1	3,2±0,4	2,3±0,5
LR 2	4,1±0,2	4,3±0,5
LR 3	2,8±0,6	3,3±0,5

Priloga I: Rezultati analiz organskih kislin mošta in mladega vina sorte renski in laški rizling.

datum analize	oznaka vzorca	vinska kislina (g/L)	jabolčna kislina (g/L)	jantarna kislina (g/L)
25.10.2010	RR 1	3,6	3,8	0,3
	RR 2	3,3	3,3	0,2
	RR 3	3,7	3,5	0,4
	LR 1	3,6	3,7	0,3
	LR 2	3,6	3,6	0,3
	LR 3	3,6	3,4	0,4
3.11.2010	RR 1	3,9	3,9	0,4
	RR 2	3,1	3,7	0,3
	RR 3	3,3	3,3	0,4
	LR 1	3,3	3,6	0,3
	LR 2	3,2	3,2	0,4
	LR 3	3,3	3,3	0,4

Priloga J: Rezultati analiz reducirajočih sladkorjev mošta in mladega vina sorte renski in laški rizling.

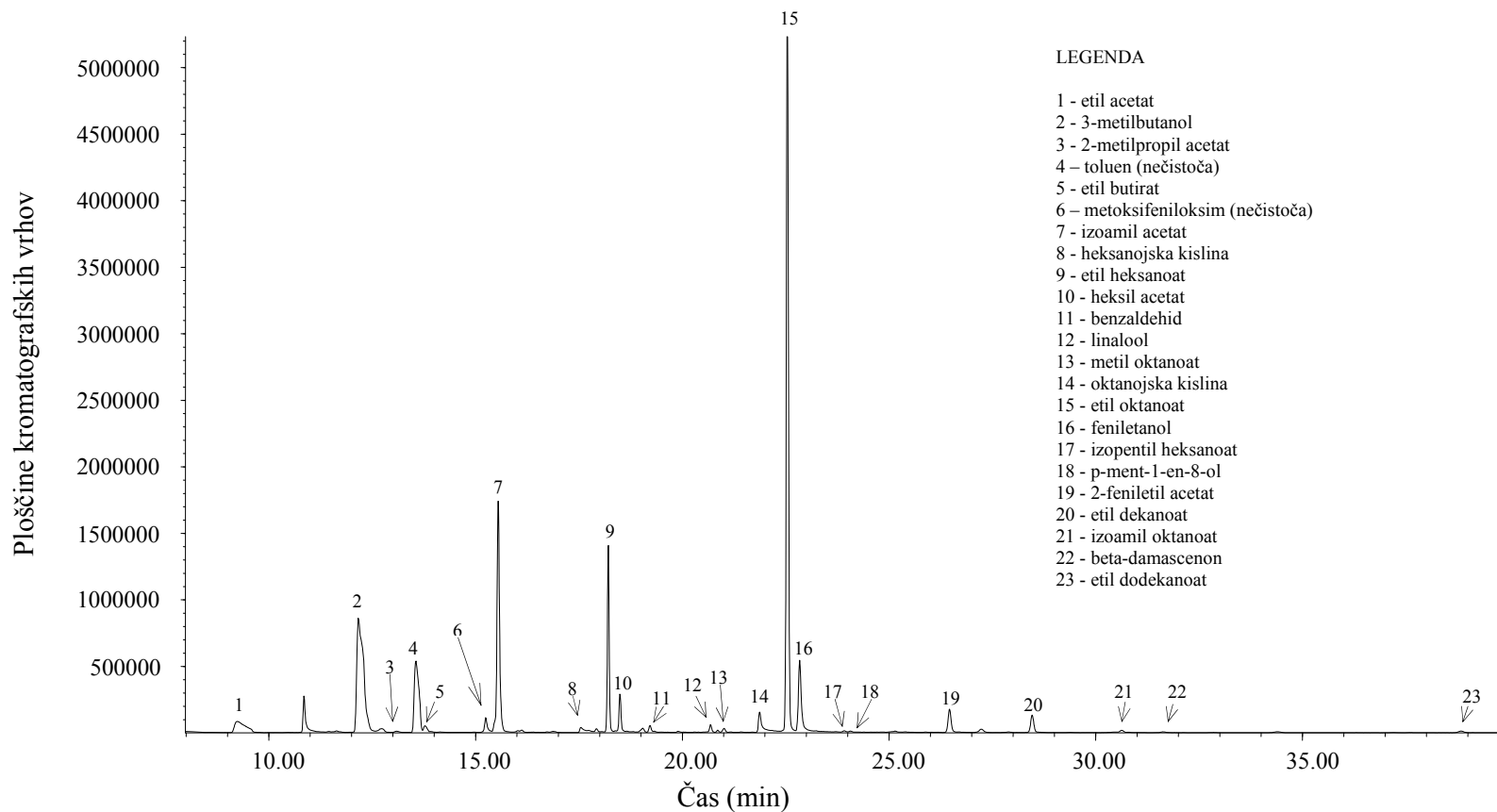
datum analize	oznaka vzorca	glukoza (g/L)	fruktoza (g/L)
19.10.2010	RR 1	7,0	25,7
	RR 2	20,0	52,7
	RR 3	8,3	24,1
	LR 1	27,7	58,3
	LR 2	59,9	78,3
	LR 3	11,5	30,6
25.10.2010	RR 1	3,8	3,3
	RR 2	4,3	18,3
	RR 3	3,9	3,0
	LR 1	2,7	2,7
	LR 2	5,1	19,6
	LR 3	3,1	2,7
3.11.2010	RR 1	3,7	3,2
	RR 2	3,5	5,0
	RR 3	2,7	2,5
	LR 1	2,7	2,7
	LR 2	2,5	3,9
	LR 3	2,7	2,5

Priloga K: Rezultati analiz glicerola mošta in mladega vina sorte renski in laški rizling.

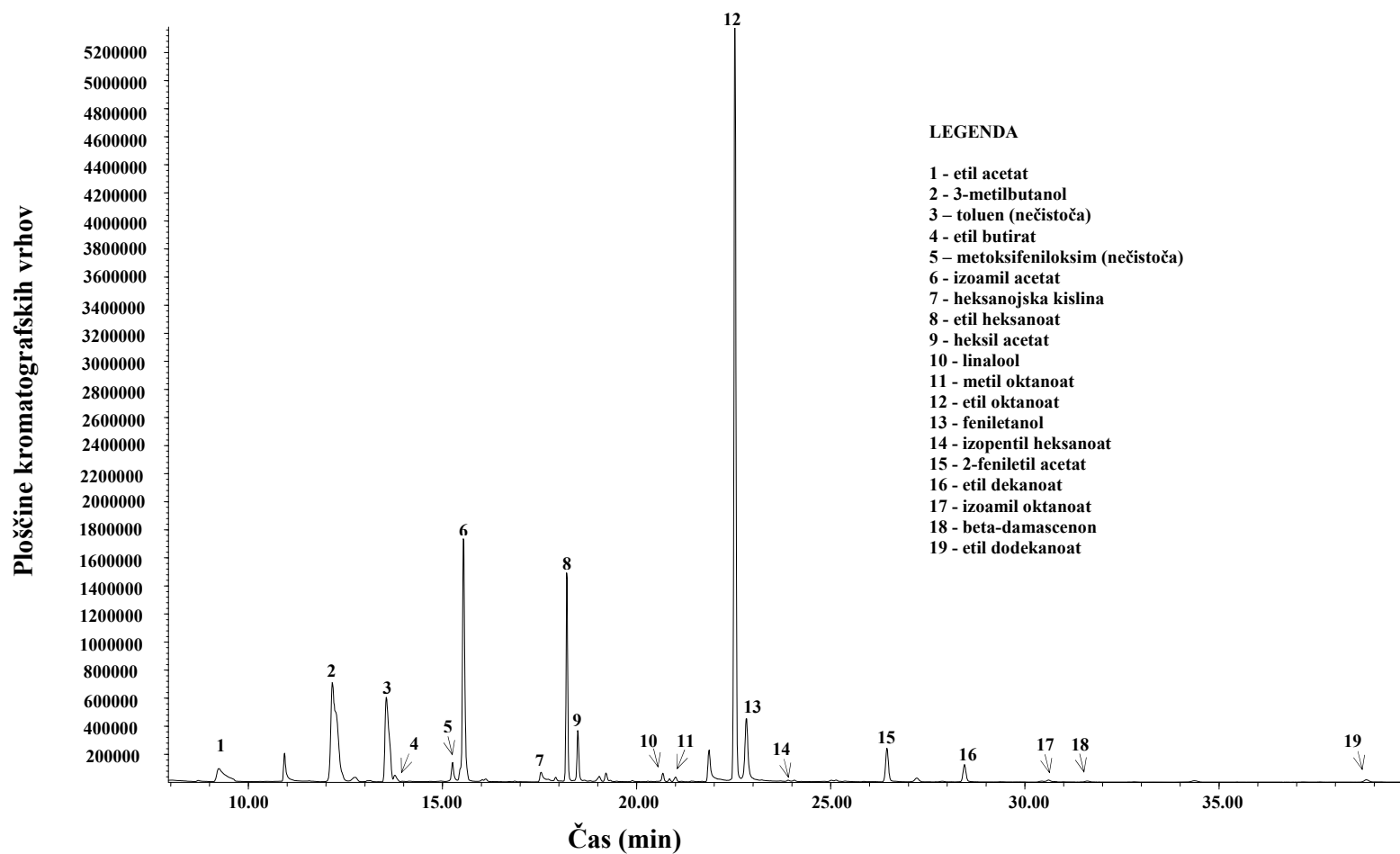
datum analize	oznaka vzorca	glicerol (g/L)
19.10.2010	RR 1	8,43
	RR 2	6,40
	RR 3	8,00
25.10.2010	RR 1	8,56
	RR 2	6,86
	RR 3	7,91
19.10.2010	LR 1	4,62
	LR 2	2,31
	LR 3	5,25
25.10.2010	LR 1	5,60
	LR 2	4,86
	LR 3	5,31
3.11.2010	RR 1	8,58
	RR 2	6,89
	RR 3	5,13
	LR 1	5,61
	LR 2	4,89
	LR 3	5,06

Priloga L: Primerjalni rezultati aromatičnih snovi v mladem vinu sorte renski in laški rizling, ki so bile kvalitativno določene v vzorcih vina (ploščina kromatografskega vrha/10⁶).

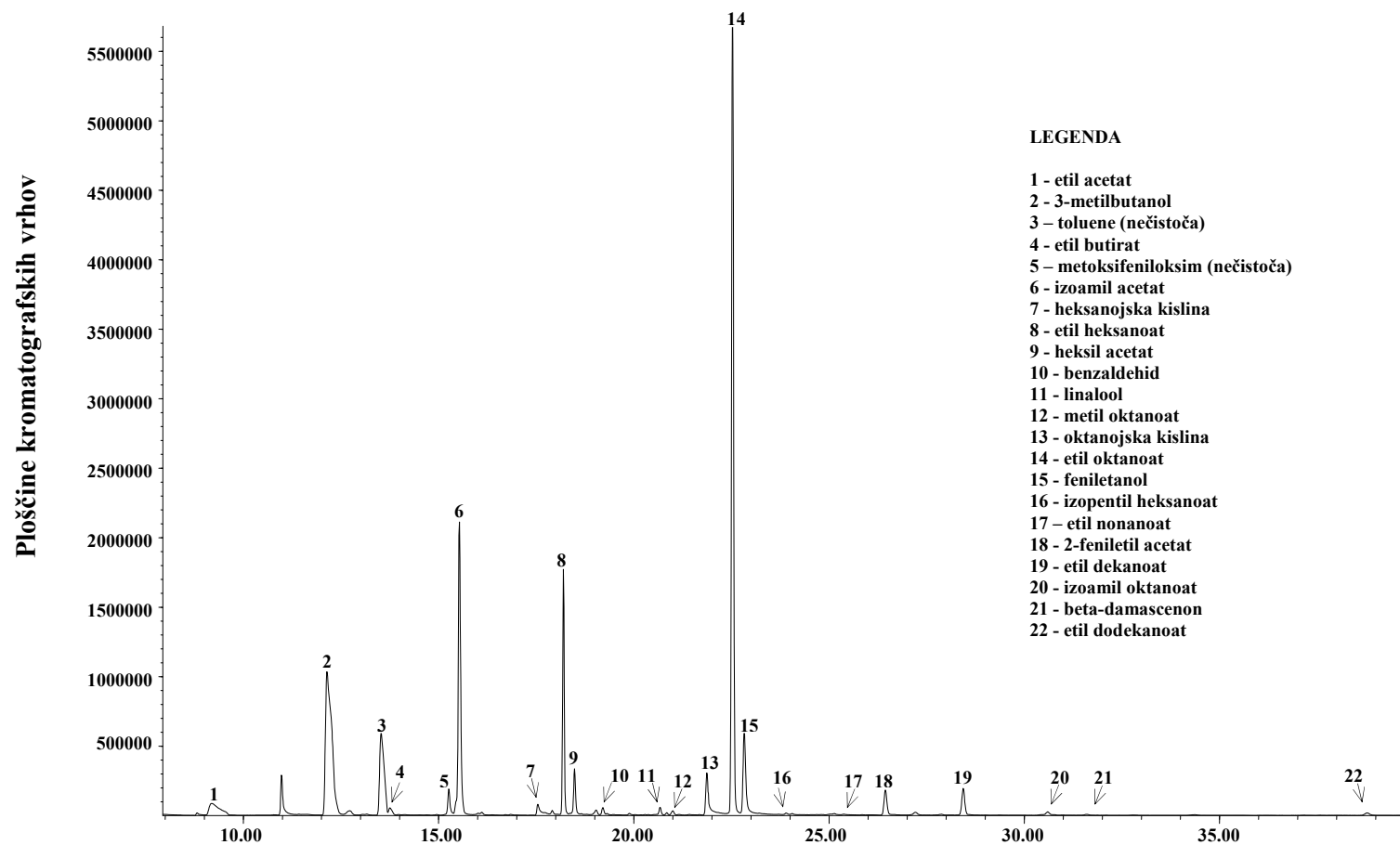
spojina	oznaka vzorca					
	RR 1	RR 2	RR 3	LR 1	LR 2	LR 3
etil acetat	15,93	14,64	16,51	17,21	15,51	19,18
3-metilbutanol	97,74	78,88	116	82,27	78,79	105
2-metilpropil acetat	1,03	/	/	1,12	/	1,35
etil butirat	3,22	2,78	3,5	3,98	3,24	3,87
izoamil acetat	77,42	74,97	91,71	122	101	159
heksanojska kislina	2,9	4,36	4,5	4,88	7,77	5,84
etil heksanoat	43,21	44,96	51,95	60,3	78,58	65,96
heksil acetat	10,62	13,13	12,9	24,06	23,23	23,82
benzaldehyd	0,59	/	0,67	/	0,63	/
linalool	2,6	2,66	2,67	0,66	0,68	0,82
metil oktanoat	1,63	1,73	1,7	/	0,8	0,64
oktanojska kislina	10,15	/	18,98	28,55	31,58	28,96
etil oktanoat	198	206	217	176	268	223
feniletanol	29,91	29,34	32,88	18,33	11,91	17,52
izopentil heksanoat	1,05	0,93	1,01	1,88	1,11	1,75
p-ment-1-en-8-ol	0,93	/	/	/	/	/
etil nonanoat	/	/	1,14	0,67	/	0,83
2-feniletil acetat	9,47	13	9,89	6,41	4,33	6,45
etil dekanoat	7,48	7,02	10,83	12,59	13,96	15,91
izoamil oktanoat	0,45	1,07	1,92	1,79	1,4	1,97
beta-damascenon	0,8	0,61	0,72	0,81	0,67	0,67
etil dodekanoat	1,17	1,61	1,66	1,17	1,36	1,56
skupna ploščina kromat. vrhov	516,3	497,69	598,14	564,68	644,55	684,1



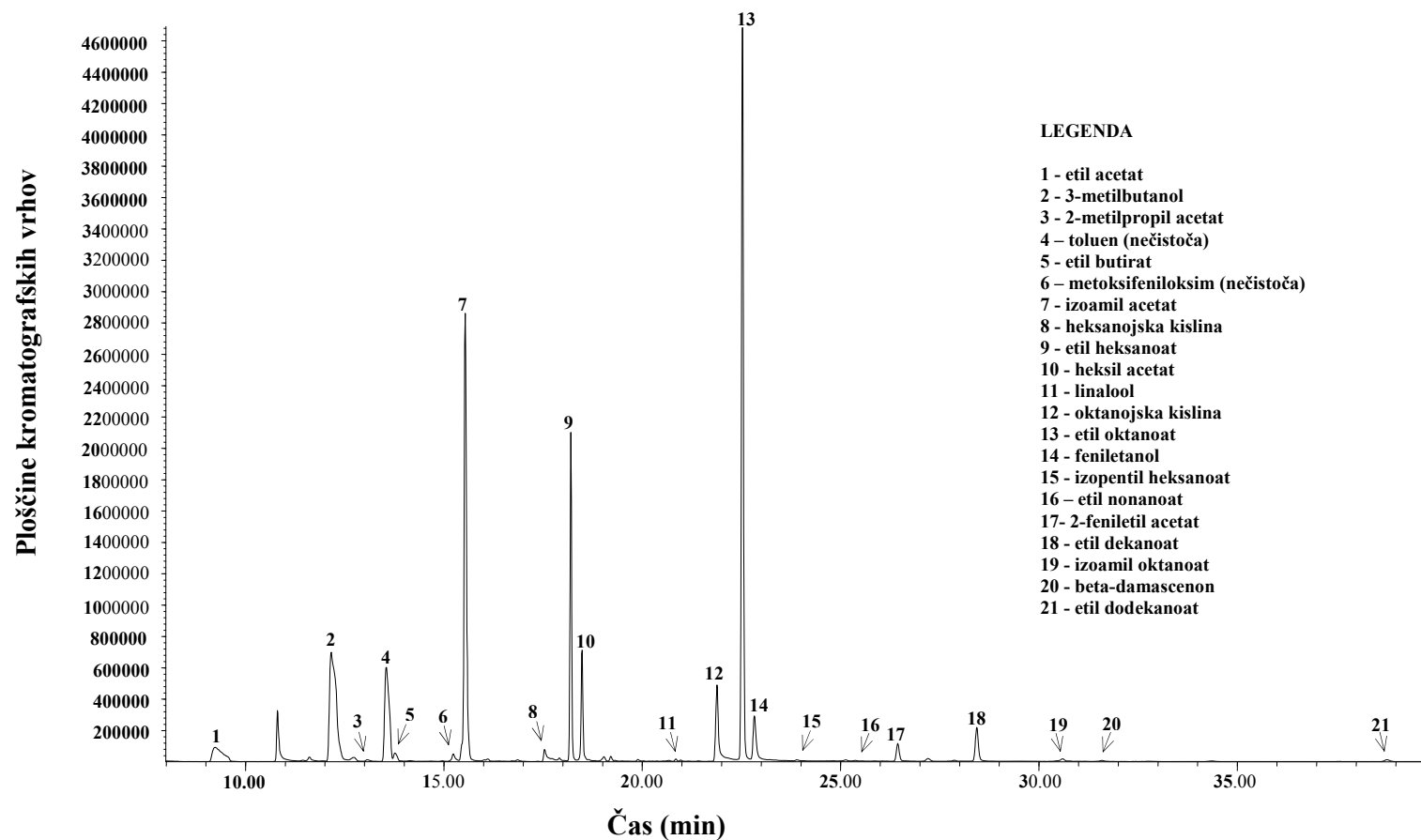
Priloga M: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu RR 1.



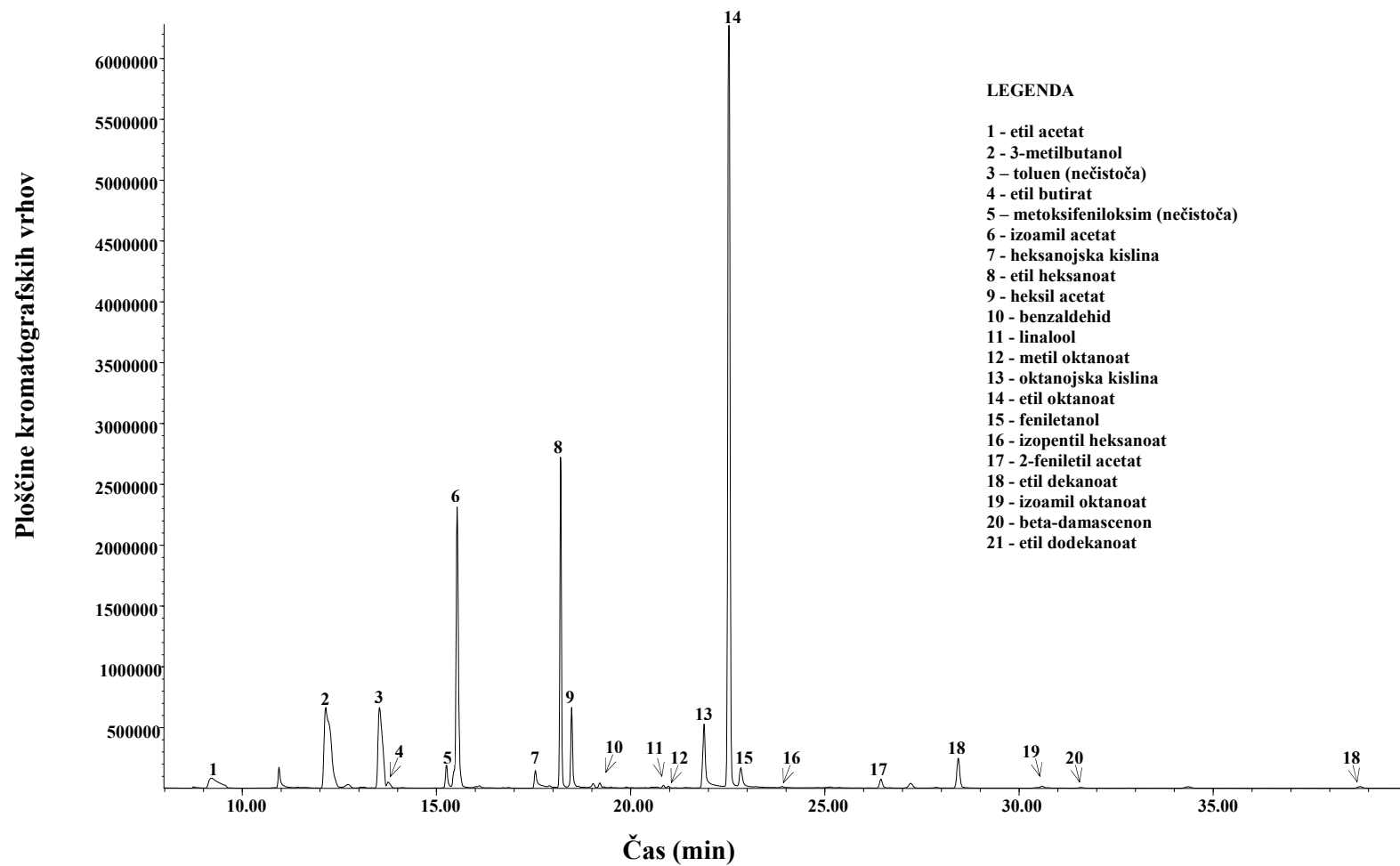
Priloga N: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu RR 2.



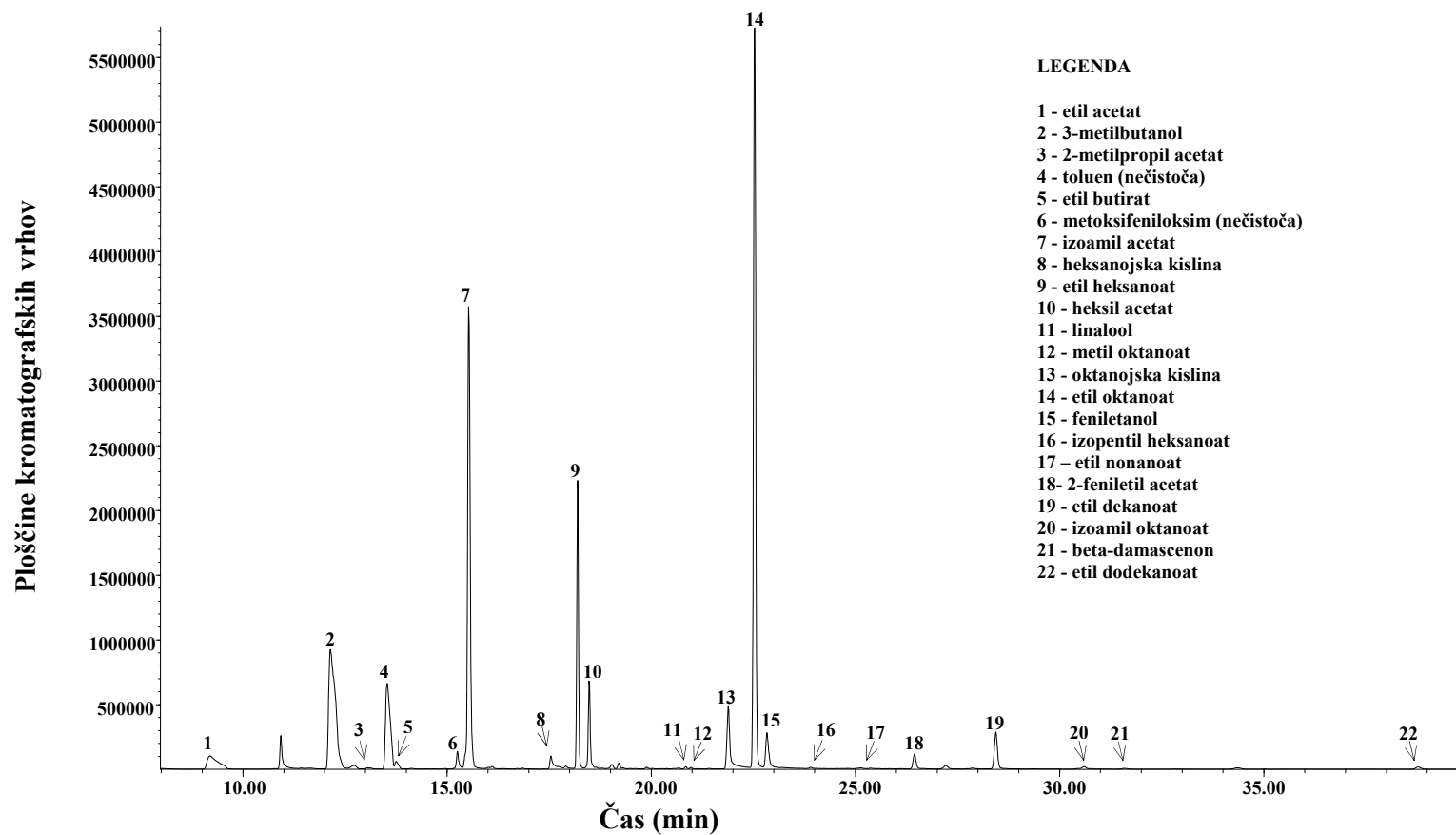
Priloga O: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu RR 3.



Priloga P: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu LR 1.



Priloga R: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu LR 2.



Priloga S: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu LR 3.

Priloga T: Absorpcijski spekter vzorcev mladega vina sorte renski in laški rizling v območju valovne dolžine 400 nm in 440 nm.

