

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Sandra VALENTI

KAKOVOSTNI PARAMETRI VINA MALVAZIJA

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Sandra VALENTI

KAKOVOSTNI PARAMETRI VINA MALVAZIJA

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

QUALITY PARAMETERS OF MALVASIA WINES

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Raziskovalno delo je bilo opravljeno v laboratorijih Katedre za tehnologije, prehrano in vino na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana prof. dr. Tatjana Košmerl in za recenzenta prof. dr. Rajko Vidrih.

Mentorica: prof. dr. Tatjana Košmerl

Recenzent: prof. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Sandra Valenti

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 663.252.4:663.221:579.67:543.61:543.92(043)=163.6
KG	mošt/mlado vino/malvazija/alkoholna fermentacija/kakovostni parametri/selekcionirane kvasovke/starterske kulture/vinske kvasovke/ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> /fizikalno-kemijske lastnosti/mikrobiološka analiza/senzorične lastnosti
AV	VALENTI, Sandra
SA	KOŠMERL, Tatjana (mentorica)/VIDRIH, Rajko (recenzent)
KZ	SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2011
IN	KAKOVOSTNI PARAMETRI VINA MALVAZIJA
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XIII, 71 str., 5 pregl., 39 sl., 12 pril., 45 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Namen diplomske naloge je bil ugotoviti, kako različni sevi selekcioniranih kvasovk vrste <i>Saccharomyces cerevisiae</i> vplivajo na kakovost pridelanega mladega vina sorte malvazija, letnika 2007, iz vinorodne dežele Primorska, vinorodnega okoliša Slovenska Istra. S postavitvijo poskusa alkoholne fermentacije smo želeli ugotoviti vpliv treh različnih sevov selekcioniranih kvasovk na potek in zaključek alkoholne fermentacije, fizikalno-kemijske parametre in na končno izoblikovanje senzoričnih lastnosti mladega vina. Alkoholno fermentacijo smo vodili pri temperaturi 17-18 °C in spremljali količino ter kinetiko oddanega CO ₂ . Po zaključeni alkoholni fermentaciji smo vzorce mladega vina analizirali. Opravili smo fizikalno-kemijske, mikrobiološke in senzorične analize. V sklopu fizikalno-kemijskih analiz smo moštu in pridelanih mladih vinih določili vsebnost sladkorja, pH, pufrno kapaciteto, skupne (titrabilne) kisline, skupni in prosti žveplov dioksid, relativno gostoto, skupni in sladkorja prosti ekstrakt, alkohol, reducirajoče sladkorje, hlapne kisline, prosti aminokislinski dušik, skupne fenolne spojine, barvo ter motnost. Aromatične spojine, ki so nastale tekom fermentacije, so bile določene s plinsko kromatografijo. Z mikrobiološko analizo smo določili skupno število kvasovk v fermentirajočih vzorcih mladega vina takoj po postavitvi poskusa, po 24 urah, po zaključenem prvem tednu fermentacije in po zaključeni alkoholni fermentaciji. Mikroskopsko smo pregledali nastale usedline v vzorcih. Po zaključenih vseh analizah smo mlado vino tudi senzorično ocenili, z metodo deskriptivne analize po lastni presoji. Iz pridobljenih rezultatov smo lahko ugotovili, da se je pri danih razmerah fermentacije najbolj optimalno obnašal le en sev kvasovk, povrel je večino reducirajočih sladkorjev in tvoril največ alkohola. Različni sevi so tvorili tudi različne količine aromatičnih spojin, kar je pripomoglo k senzorični raznolikosti vin. Posamezni sevi kvasovk so se med seboj razlikovali predvsem v hitrosti poteka alkoholne fermentacije, kar je povzročilo večje razlike v vrednosti pH, koncentracijah skupnih (titrabilnih) kislin, alkohola, reducirajočih sladkorjev, hlapnih kislin, hlapnih spojin in višjih alkoholov, s tem pa tudi senzoričnih lastnostih posameznih vzorcev. Posamezni sevi kvasovk, razen enega, niso bistveno vplivali na relativno gostoto, skupni ekstrakt in na vsebnost skupnih fenolnih spojin.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Dn
 DC UDC 663.252.4:663.221:579.67:543.61:543.92(043)=163.6
 CX must/young wines/Malvasia/alcoholic fermentation/quality parameters/selected yeasts/starter cultures/wine yeasts/*Saccharomyces cerevisiae*/physico-chemical properties/microbiological analysis/sensory properties
 AU VALENTI, Sandra
 AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/VIDRIH, Rajko (reviewer)
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
 PY 2011
 TI QUALITY PARAMETERS OF MALVASIA WINES
 DT Graduation Thesis (University studies)
 NO XIII, 71 p., 5 tab., 39 fig., 12 ann., 45 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB The aim of graduation thesis was to determine how different selected wine yeasts of species *Saccharomyces cerevisiae* affect the quality of young Malvasia wine vintage 2007, from winegrowing region Primorska, winegrowing district Slovenska Istra. The aim of this alcoholic fermentation experiment was to determine the influence of three different selected dry yeast strains on the course and completion of alcoholic fermentation, physico-chemical parameters and final sensory properties of young wine. During the alcoholic fermentation which was conducted at 17-18 °C we were monitoring the amount and kinetics of released CO₂. At the end of alcoholic fermentation we analyzed each young wine samples employing physico-chemical, microbiological and sensory analysis. Within the physico-chemical analysis content of sugars, pH, buffer capacity, total (titratable) acids, total and free sulfur dioxide, relative density, total dry and sugar-free extract, alcohol, reducing sugars, volatile acids, free amino nitrogen, total phenolic compounds, color and turbidity were measured in must and young wines. Aroma compounds were analysed by gas chromatography. With respect to microbiological analyses the total number of yeasts by plate count in fermenting samples of young wine immediately after setting up the experiment, after 24 hours, after the first week of fermentation and at the end of fermentation were determined. Additionally we examined the sediments formed in young wine samples by microscope. Wines were also sensorically analyzed by the method of descriptive analysis with one judge. According to results we can conclude that only one of three yeast strains optimally conducted and finished the fermentation by fermented all reducing sugars and produced the highest alcohol concentration. Different yeast strains were producing different quantities of aromatic compounds, which were responsible for sensory characteristics of wine. The different rate of alcoholic fermentation by yeast strains used caused differences in pH value, concentrations of total (titratable) acids, alcohol, reducing sugars, volatile acids, volatile compounds and higher alcohols. All yeast strains, except one, didn't affect significantly to relative density, total dry and total phenolic compounds.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION.....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	IX
KAZALO SLIK.....	X
KAZALO PRILOG.....	XII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI.....	XIII
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE.....	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 AMPELOGRAFSKI OPIS SORTE MALVAZIJA.....	3
2.1.1 Izvor sorte malvazija	3
2.1.2 Sinonimi sorte malvazija (Korošec-Koruza in Plahuta, 2009)	4
2.1.3 Agrobiološke značilnosti	4
2.1.4 Opis vina.....	4
2.2 VPLIV SESTAVIN MOŠTA IN VINA NA KONČNO KAKOVOST	4
2.2.1 Voda	4
2.2.2 Etanol.....	5
2.2.3 Metanol.....	5
2.2.4 Alkoholi z več hidroksilnimi skupinami	5
2.2.4.1 Glicerol.....	6
2.2.5 Ogljikovi hidrati	6
2.2.5.1 Monosaharidi.....	6
2.2.5.2 Disaharidi	7
2.2.5.3 Polisaharidi.....	7
2.2.6 Organske kisline	7
2.2.6.1 Vinska kislina.....	8
2.2.6.2 Jabolčna kislina	9
2.2.6.3 Mlečna kislina	9
2.2.6.4 Citronska kislina.....	9
2.2.6.5 Ocetna kislina.....	9
2.2.6.6 Ostale kisline v moštu in vinu	10
2.2.7 Dušikove spojine	10
2.3 ALKOHOLNA FERMENTACIJA	11
2.3.1 Mikroflora grozdja in mošta	11

2.3.2	Metabolizem sladkorjev	11
2.3.3	Ostali produkti alkoholne fermentacije.....	13
2.4	VINSKE KVASOVKE IN NJIHOVA VLOGA MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO MOŠTA	14
2.4.1	Splošne značilnosti kvasovk.....	14
2.4.2	Vinske kvasovke vrste <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	14
2.4.3	Dodatek starterske kulture vinskih kvasovk.....	15
2.4.4	Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk.....	15
2.5	STARTERSKE KULTURE VINSKIH KVASOVK.....	16
2.5.1	Osnovne lastnosti starterskih kultur vinskih kvasovk	16
2.5.2	Zahteve za industrijsko produkcijo starterskih kultur.....	17
2.6	AROMATIČNE SNOVI V VINU	17
2.6.1	Primarna aroma	18
2.6.2	Fermentacijska aroma	19
2.6.2.1	Aldehidi	19
2.6.2.2	Višji alkoholi	20
2.6.2.3	Hlapne kisline.....	21
2.6.2.4	Estri	21
2.6.2.5	Žveplave spojine	22
2.6.2.6	Fenolne spojine	22
2.6.2.7	Dušikove spojine	22
3	MATERIAL IN METODE DELA	23
3.1	MATERIAL	23
3.1.1	Mošt.....	23
3.1.2	Selekcionirane kvasovke	23
3.1.3	Hrana za kvasovke.....	24
3.2	ZASNOVA POSKUSA	25
3.3	METODE DELA	26
3.3.1	Postavitev fermentacijskega poskusa.....	26
3.3.2	Fizikalno-kemijske analize mošta in vina.....	27
3.3.2.1	Določanje sladkorne stopnje mošta.....	27
3.3.2.2	Določanje pH mošta in vina	27
3.3.2.3	Določanje pufrne kapacitete mošta	27
3.3.2.4	Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v moštu in vinu	28
3.3.2.5	Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu	29

3.3.2.6	Določanje reducirajočih sladkorjev v vinu po Rebeleinu	29
3.3.2.7	Določanje žveplovega dioksida v moštu po Ripperju	29
3.3.2.8	Določanje hlapnih kislin v moštu in vinu.....	30
3.3.2.9	Določanje prostega aminokislinskega dušika v moštu po Nicoliniju in sodelavcih.....	30
3.3.2.10	Določanje fenolnih spojin v vinu po Singletonu in Rossiju.....	31
3.3.2.11	Določanje barve vina.....	31
3.3.2.12	Določanje motnosti v moštu in vinu	31
3.3.2.13	Določanje hlapnih spojin in višjih alkoholov v vinu.....	32
3.3.3	Mikrobiološka analiza mošta in vina	32
3.3.3.1	Določanje skupnega števila kvasovk.....	32
3.3.3.2	Mikroskopiranje usedline vina	34
3.3.4	Senzorična analiza vina.....	34
3.3.4.1	Deskriptivna analiza po lastni presoji	34
4	REZULTATI Z RAZPRAVO	35
4.1	REZULTATI ANALIZ MOŠTA.....	35
4.1.1	Sladkorna stopnja.....	35
4.1.2	pH.....	36
4.1.3	Pufna kapaciteta	36
4.1.4	Koncentracija skupnih (titrabilnih kislin)	36
4.1.5	Koncentracija SO ₂	37
4.1.6	Koncentracija hlapnih kislin	37
4.1.7	Motnost.....	37
4.1.8	Koncentracija FAN.....	38
4.2	FERMENTACIJSKE KRIVULJE.....	39
4.2.1	Masa vrelnih steklenic.....	39
4.2.2	Skupna količina oddanega CO ₂	40
4.2.3	Temperatura fermentacije.....	40
4.2.4	Selekcionirana kvasovka VIN 7.....	41
4.2.5	Selekcionirana kvasovka QA 23.....	43
4.2.6	Selekcionirana kvasovka SIMI WHITE.....	44
4.3	REZULTATI ANALIZ MLADEGA VINA.....	46
4.3.1	pH.....	46
4.3.2	Koncentracija skupnih (titrabilnih) kislin	46
4.3.3	Relativna gostota.....	47

4.3.4	Koncentracija skupnega in sladkorja prostega ekstrakta	48
4.3.5	Koncentracija alkohola	49
4.3.6	Koncentracija reducirajočih sladkorjev	51
4.3.7	Koncentracija hlapnih kislin	52
4.3.8	Koncentracija skupnih fenolnih spojin.....	53
4.3.9	Barva vina	53
4.3.10	Motnost vina.....	54
4.3.11	Fermentacijska učinkovitost.....	55
4.3.12	Koncentracija hlapnih spojin in višjih alkoholov	56
4.4	REZULTATI MIKROBIOLOŠKIH ANALIZ	59
4.4.1	Skupno število kvasovk	59
4.4.2	Mikroskopiranje usedline vina.....	60
4.5	REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE MLADEGA VINA	63
4.5.1	Deskriptivna analiza po lastni presoji	63
5	SKLEPI.....	64
6	POVZETEK	66
7	VIRI	68
ZAHVALA		
PRILOGE		

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk (Košmerl, 2007a)	15
Preglednica 2: Senzorične lastnosti monoterpenov v vinu in njihov senzorični prag zaznave (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b; Košmerl, 2007a).....	19
Preglednica 3: Tvorba nekaterih višjih alkoholov iz odgovarjajočih aminokislin ter njihova koncentracija in aroma v vinu (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a; Lambrechts in Pretorius, 2000)	21
Preglednica 4: Oznaka vzorcev, ime selekcioniranih kvasovk in količina dodanih kvasovk in hranila	24
Preglednica 5: Rezultati analiz mošta malvazija.....	35

KAZALO SLIK

Slika 1: Istrska malvazija (Vinistra, 2011)	3
Slika 2: Shematski prikaz poteka glikolize oziroma metabolizem glukoze in fruktoze pri kvasovkah vrste <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Boulton in sod., 1996).	12
Slika 3: Shematski prikaz poteka poskusa	25
Slika 4: Fermentacijski poskus po 24 urah fermentacije	26
Slika 5: Fermentacijski poskus po zaključeni alkoholni fermentaciji (449 h)	26
Slika 6: Prikaz rasti kvasovk na petrijevi plošči z OGY agarjem (48 h, 28 °C)	33
Slika 7: Sprememba mase vrelnih steklenic (g) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije	39
Slika 8: Skupna količina oddanega CO ₂ (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	40
Slika 9: Sprememba temperature (°C) med potekom alkoholne fermentacije	41
Slika 10: Količina oddanega CO ₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko VIN 7	41
Slika 11: Kinetika oddanega CO ₂ (g/L.h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko VIN 7	42
Slika 12: Količina oddanega CO ₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko QA 23	43
Slika 13: Kinetika oddanega CO ₂ (g/L.h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko QA 23	44
Slika 14: Količina oddanega CO ₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko SIMI WHITE	44
Slika 15: Kinetika oddanega CO ₂ (g/L.h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko SIMI WHITE	45
Slika 16: Vrednost pH v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	46
Slika 17: Koncentracija skupnih (titrabilnih) kislin v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	47
Slika 18: Vsebnost relativne gostote v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	48
Slika 19: Koncentracija skupnega in sladkorja prostega ekstrakta (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	49
Slika 20: Koncentracija alkohola (vol.%) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	50
Slika 21: Koncentracija reducirajočih sladkorjev (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	51
Slika 22: Koncentracija hlapnih kislin (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	52
Slika 23: Koncentracija skupnih fenolnih spojin (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	53
Slika 24: Intenziteta barve pri A 420 nm v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	54
Slika 25: Motnost (NTU) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk	55

Slika 26: Fermentacijska učinkovitost (g/L.vol.%) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk.....	55
Slika 27: Koncentracija hlapnih spojin (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk.....	57
Slika 28: Koncentracija višjih alkoholov (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk.....	58
Slika 29: Skupno število kvasovk (CFU*10 ⁶ /mL) v vzorcih mladega vina v različnih časovnih obdobjih alkoholne fermentacije.....	59
Slika 30: Mikroskopski posnetek usedline kontrole pri 400-kratni povečavi.....	60
Slika 31: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 1 pri 400-kratni povečavi.....	60
Slika 32: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 2 pri 400-kratni povečavi.....	61
Slika 33: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 3 pri 400-kratni povečavi.....	61
Slika 34: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 4 pri 400-kratni povečavi.....	61
Slika 35: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 5 pri 400-kratni povečavi.....	61
Slika 36: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 6 pri 400-kratni povečavi.....	62
Slika 37: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 7 pri 400-kratni povečavi.....	62
Slika 38: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 8 pri 400-kratni povečavi.....	62
Slika 39: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 9 pri 400-kratni povečavi.....	62

KAZALO PRILOG

Priloga A: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji v kontroli

Priloga B: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s selekcionirano kvasovko VIN 7

Priloga C: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s selekcionirano kvasovko QA 23

Priloga D: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s selekcionirano kvasovko SIMI WHITE

Priloga E: Rezultati hlapnih spojin in višjih alkoholov v mladem vinu sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selecioniranih kvasovk

Priloga F: Delež aromatičnih spojin (%) v alkoholu mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selecioniranih kvasovk

Priloga G: Delež hlapnih spojin (%) v alkoholu mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selecioniranih kvasovk

Priloga H: Delež hlapnih spojin in višjih alkoholov (%) v alkoholu mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selecioniranih kvasovk

Priloga I: Skupno število kvasovk v mladih vinih po postavitvi fermentacijske poskusa, po 24 urah, po prvem tednu fermentacije ter po zaključeni alkoholni fermentaciji

Priloga J1: Absorpcijski spekter pri kontroli in vzorcih 1, 2, 3 mladega vina sorte malvazija v območju valovne dolžine 360 nm in 480 nm

Priloga J2: Absorpcijski spekter pri kontroli in vzorcih 4, 5, 6 mladega vina sorte malvazija v območju valovne dolžine 360 nm in 480 nm

Priloga J3: Absorpcijski spekter pri kontroli in vzorcih 7, 8, 9 mladega vina sorte malvazija v območju valovne dolžine 360 nm in 480 nm

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

A ₄₂₀	absorbanca pri 420 nm
AF	alkoholna fermentacija
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATP	adenozintrifosfat
CFU	za rast sposobne celice kvasovk ali bakterij, kolonijska enota (ang. colony forming unit)
FAN	prosti aminokislinski dušik (ang. free amino nitrogen)
NTU	nefelometrična turbidimetrična enota (ang. nephelometric turbidity unit)
°Oe	Oechslejeve stopinje
O.I.V.	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin
OGY	oksitetraciklin glukoza kvasni agar (ang. oxytetracyclin glucose yeast agar)
PK	pufna kapaciteta
SPE	sladkorja prosti ekstrakt
σ	standardni odklon

1 UVOD

Pretvorba mošta v vino je kompleksen biokemijski proces, imenovan alkoholna fermentacija, v katerem sodelujejo številni mikroorganizmi, vendar imajo zaradi kemijske sestave grozdnega mošta nanj največji vpliv kvasovke (Povhe Jemec in sod., 2002). Te imajo namreč sposobnost pretvorbe sladkorjev, predvsem glukoze in fruktoze, v etanol, ogljikov dioksid ter v ostale pomembne metabolite v manjših koncentracijah (Pretorius, 2002).

Spontana alkoholna fermentacija je okarakterizirana s časovnim zaporedjem prisotnosti različnih vrst in sevov kvasovk. V optimalnih razmerah je rezultat mešane avtohtone populacije lahko zelo kompleksno vino z izrazito sadnim značajem, polnostjo, zaokroženostjo in harmoničnostjo v okusu. Ker se v večini primerov na žalost pojavljajo problemi med spontano fermentacijo (povečana koncentracija očetne kisline, etilnih estrov očetne kisline, priokusi, prekinitev in/ali zaustavitev fermentacije), se močno priporoča dodatek čiste kulture kvasovk (Košmerl, 2007a).

Uporaba selekcioniranih sevov kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* je zaradi svoje izrazite enostavnosti v zadnjih letih postala stalna praksa v večini vinskih kleti po vsem svetu. Z njihovo uporabo lahko na zelo enostaven način moštu dodamo do 10 milijonov živih celic kvasovk na mililiter mošta, kar je veliko večje število od števila kvasovk v avtohtoni mikroflori, ki jo najdemo v moštu po bistrenju. Dodatek selekcioniranih kvasovk je jamstvo za hitro, učinkovito in predvidljivo alkoholno fermentacijo ter za skladnost okusa in vonja vina po njeni zaključitvi (Pretorius, 2002; Klenar, 2002).

Pomemben del vinske arome se oblikuje med alkoholno fermentacijo, saj kvasovke vplivajo na aromo vina predvsem s tvorbo različnih hlapnih snovi. Poleg etanola, glicerola, diolov in višjih alkoholov se pod njihovim vplivom tvorijo še druge spojine, predvsem kisline, estri, aldehidi, ketoni in žveplove spojine (Košmerl, 2007a).

Slednje spojine so izredno pomembni parametri, ki v celoti sestavljajo kakovost vina. Zato je za vse vinarje pomembna uporaba in prevlada selekcioniranih kvasovk nad tako imenovano »divjo mikrofloro«, saj na takšen način lahko predelajo vino ustrezne kakovosti, brez napak, bolezni ali nezaželenih arom, ki jih proizvajajo predvsem kvasovke avtohtone mikroflоре. Poznavanje vpliva posameznega seva kvasovk na potek fermentacije in na izoblikovanje specifičnih lastnosti vina je torej ključnega pomena pri pridelavi kakovostnega vina.

V diplomski nalogi smo proučevali razlike med sevi selekcioniranih kvasovk, glede na končni pridelek z ozirom na sam potek alkoholne fermentacije, fizikalno-kemijsko sestavo, vsebnost aromatičnih spojin in senzorično kakovost. Raziskava je bila opravljena na vinu vinorodnega okoliša Slovenska Istra, sorte malvazija.

1.1 NAMEN DELA

Z uporabo treh različnih sevov selekcioniranih kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* smo postavili fermentacijski poskus z moštom sorte malvazija. Z uporabo kvasovk želimo ugotoviti, kako le-te vplivajo na celoten potek alkoholne fermentacije. Vsebnost posameznih kemijskih parametrov in kakovost pridelanega vina pa je določena s fizikalno-kemijskimi in senzoričnimi metodami. Število kvasovk pred, med in po fermentaciji smo določili z mikrobiološkimi metodami. S poskusom želimo ugotoviti, kako različni sevi kvasovk, vsi selekcionirani za bela vina, vplivajo na kakovost sorte malvazija. Rezultati dela bodo izjemnega pomena ljubiteljem in pridelovalcem vina, saj z izbiro primernega seva kvasovk lahko pridelamo vino po našem okusu.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

- Predvidevamo, da bomo z uporabo treh različnih selekcioniranih sevov kvasovk pridobili razlike v celotni kinetiki alkoholne fermentacije,
- pričakujemo fizikalno-kemijske, senzorične in mikrobiološke razlike med sevi,
- pričakujemo razlike v hlapnih aromatičnih komponentah, ki bodo nastale v mladem vinu tekom alkoholne fermentacije.

2 PREGLED OBJAV

2.1 AMPELOGRAFSKI OPIS SORTE MALVAZIJA

2.1.1 Izvor sorte malvazija

Iz zgodovinskih virov vemo, da so grozdje sorte malvazija v Istri gojili že v 13. stoletju (Nemanič, 1999). Bela sorta vinske trte spada v zahodnoevropsko skupino sort *Proles occidentalis*. Domovina te sorte ni povsem znana, vendar prevladuje mišljenje, da se je najprej pojavila v sredozemskem bazenu (Korošec-Koruza in Hrček, 1996). Ime naj bi nastalo iz poimenovanja otoka Malvasia v Grčiji ali Mali Aziji. Nekateri menijo, da sorta izvira iz Toskane v Italiji (Korošec-Koruza in Plahuta, 2009).

Sorta malvazija je doma v vinorodni deželi Primorska, ta meji na Italijo in obkroža Goriška Brda in koprsko obalo, Kras in Slovensko Istro ter na severu Vipavsko dolino (Lešnik in Vršič, 2005). Malvazija je precej razširjena tudi v Italiji, v Istri in Dalmaciji na Hrvaškem, najdemo pa jo tudi v Grčiji, Franciji in Španiji (Korošec-Koruza in Hrček, 1996).



Slika 1: Istrska malvazija (Vinistra, 2011)

2.1.2 Sinonimi sorte malvazija (Korošec-Koruza in Plahuta, 2009)

- Istrska malvazija
- Malvazija bela
- Malvasia
- Malvasia d'Istria bianca
- Malvasie blanche

2.1.3 Agrobiološke značilnosti

Sorta malvazija najbolje raste na vlažnih, zračnih, vendar ne vetrovnih legah. Izredno uspeva na težji in rodovitni zemlji (Korošec-Koruza in Hrček, 1996).

Značilnost sorte je bujna rast, kar se pokaže v velikem pridelku. Od količine vina je odvisna njegova kakovost: čim večji je pridelek, tem slabša je kakovost (Šikovec, 1987).

Je pozno dozorevajoča sorta, ki redno in obilno rodi, če spomladi dobro cveti. Teža grozda je v razponu od 120 do 200 g (Korošec-Koruza in Hrček, 1996). Mošt ima 18–22 % sladkorja in 5–8 g/L skupnih kislin (Šikovec, 1987).

2.1.4 Opis vina

Vino, pridelano iz sorte malvazija, je slamnato rumene barve z rahlimi zelenimi odsevi. Vonj vina spominja na marelico, breskev, eksotično sadje in beli poper. V okusu je suho, sveže in zaokroženo ter se odlično poda k rižotam in mastnim ribam (Nemanič, 1999).

2.2 VPLIV SESTAVIN MOŠTA IN VINA NA KONČNO KAKOVOST

Kakovost vina predstavlja naravno in harmonično razmerje vseh sestavin, ki ne smejo škodovati zdravju, optimalno morajo učinkovati na čutila in biti v določenih količinskih razmerjih. Poglavitni dejavniki, ki vplivajo na kakovost vina, so: poreklo, sorta, letnik, čas in način trgatve, predelava grozolja, bistenje mošta, alkoholna fermentacija, pretok in izoblikovanje vina do fizikalno-kemijske in mikrobiološke stabilnosti stekleničenega vina (Šikovec, 1993; Šikovec, 1996).

Vpliv vsebnosti različnih sestavin mošta in vina, kot npr. alkohol, kisline, ogljikovi hidrati idr., je splošno znana, zato je nujno potrebno njihovo spremljanje že v grozdnih jagodah, tekom alkoholne fermentacije ter do nadaljnjega stekleničenja, če želimo zagotoviti optimalno kakovost vina.

2.2.1 Voda

Voda je najbolj zastopana spojina v vinu, saj jo v povprečju vsebuje 75–85 %. Zaradi vode se vino obnaša kot tekočina, deluje kot topilo in kot reagent v kemijskih reakcijah v celotnem procesu pridelave od grozolja do zorenja vina (Bavčar, 2009).

2.2.2 Etanol

Etanol je spojina, ki nastane kot posledica delovanja kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* v času alkoholne fermentacije. Je nedvomno najpomembnejši alkohol v vinu, njegova povprečna koncentracija v vinu je 70–100 g/L. Vinu daje stabilnost, deluje kot topilo in zagotavlja posebne senzorične lastnosti.

Glavni vir etanola so ogljikovi hidrati mošta. Količinsko je skupaj z ogljikovim dioksidom glavni produkt alkoholne fermentacije. Etanol vpliva na metabolizem kvasovk in posledično na vrsto ter količino nastalih spojin v vinu. Njegovo nastajanje deluje inhibitorno na kvasovke in ostale mikroorganizme, prisotne v vinu.

Etanol kot spojina ima izredno pomembno delovanje, saj deluje kot topilo v ekstrakciji barvil in taninov med vinifikacijo rdečih sort, raztaplja hlapne snovi, ki se oblikujejo med fermentacijo, in tiste, ki nastanejo med staranjem v leseni posodi. Sodeluje tudi pri tvorbi hlapnih snovi kot reaktant, pri staranju vina pa počasi reagira z organskimi kislinami in tvori estre, z aldehidi pa acetale. Etanol vinu senzorično doda svoj specifičen vonj ter okus, stopnjuje zaznavo sladkosti in grenkobe, v večjih koncentracijah deluje pekoče (Bavčar, 2009).

2.2.3 Metanol

Metanol ali metilni alkohol ni produkt alkoholne fermentacije, ampak posledica hidrolize pektinskih snovi pod vplivom encima penktinmetilesteraze.

Zanimanje za metanol je večje zaradi njegove negativne lastnosti, da v človeškem telesu oksidira v formaldehid in mravljično kislino. Slednja sta oba toksična za centralni živčni sistem. Med normalnim procesom vinifikacije metanol nikoli ne doseže toksične koncentracije. Slovenska zakonodaja dovoljuje v belih in rose vrstah vina do 150 mg/L metanola, v rdečih pa do 300 mg/L. Vino iz grozdja, okuženega s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*, ima večjo koncentracijo metanola. Metanol ne vpliva na senzorične lastnosti vina in minimalno reagira z drugimi spojinami v vinu (Bavčar, 2009).

2.2.4 Alkoholi z več hidroksilnimi skupinami

Imenujemo jih tudi polioli, saj imajo tri ali več hidroksilnih skupin. Značilen je njihov sladek okus, zato jih večkrat opišemo kot sladki alkoholi. Vinu dajejo uravnoteženost in poudarijo telo vina, predvsem pri vrstah vina posebnih kakovosti.

Najpomembnejši predstavniki so:

- glicerol,
- manitol,
- eritrol,
- arabinol,
- sorbitol,
- ksilitol,
- mezoinozitol.

Polioli ali tudi alditoli so večinoma stranski produkt alkoholne fermentacije, nekateri so naravno prisotni v grozdju ali pa jih tvorijo divje kvasovke na jagodah, okuženih s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* (Bavčar, 2009).

2.2.4.1 Glicerol

Glicerol je stranski produkt alkoholne fermentacije, čeprav je lahko prisoten že v grozdju. Koncentracija glicerola v moštu iz zdravega grozdja je majhna, manj kot 1 g/L, v vinu pa 4–8 g/L (Bavčar, 2009).

Na njegovo končno koncentracijo najbolj vpliva uporaba toplotnega šoka v začetni fazi alkoholne fermentacije. S hitro spremembo temperature (18–34 °C) lahko vplivamo na delovanje kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* ter na njihovo tvorbo glicerola. Na takšen način lahko pridobimo tudi do 65 % več glicerola v vinu (Berovič in sod., 2007).

Prav tako na končno koncentracijo glicerola vplivajo različni sevi kvasovk, koncentracija razpoložljivih sladkorjev v moštu, koncentracija dušikovih spojin in razmerja aminokislin ter koncentracija žveplovega dioksida.

Glicerol je rahlo sladka spojina, ki pripomore k občutku polnosti, predvsem v belih vrstah suhega vina. Glicerol je v vinu stabilen, lahko pa služi kot vir ogljika za mikroorganizme, kot so oacetnokislinske in mlečnokislinske bakterije (Bavčar, 2009).

2.2.5 Ogljikovi hidrati

Nastajajo v zeleni listni površini trte iz anorganskega, z energijo siromašnega ogljikovega dioksida, ki ga listi dobivajo iz zraka in iz vode preko koreninskega sistema (Šikovec, 1993). Celoten proces imenujemo fotosinteza.

Reakcija fotosinteze:



V grozdju, moštu in vinu se nahajajo monomeri in polimeri sladkorjev, poznani so kot monosaharidi, disaharidi in polisaharidi. Njihova koncentracija je v vinu pomembna za mikrobiološko stabilnost, za delitev vina v kategorije in za senzoriko vina.

2.2.5.1 Monosaharidi

Heksozi glukoza in fruktoza sta najpomembnejša in tudi količinsko najbolj zastopana ogljikova hidrata v moštu ter kasneje v vinu. Njuna koncentracija je 180–220 g/L oziroma 150–300 g/L v zrelem grozdju. Na njuno koncentracijo vpliva več dejavnikov, med njimi sorta, stopnja zrelosti grozdja, klima, tla, agrotehnični ukrepi in prisotnost plesni.

Heksoze so produkti fotosinteze vinske trte in so glavni substrat za kvasovke pri alkoholni fermentaciji kot vir energije, za tvorbo etanola, višjih alkoholov, estrov maščobnih kislin in aldehydov (Bavčar, 2009).

Razmerje med glukozo in fruktozo se spreminja tekom dozorevanja grozdja. Ko je grozdna jagoda še zelena in raste, vsebuje približno tri četrtine glukoze in četrtino fruktoze. Z

dozorevanjem grozdja se to razmerje spreminja v korist fruktoze, tako da nastane v fazi polne zrelosti skoraj ravnotežje med obema, v prezrelosti pa ponovno prevladuje fruktoza (Šikovec, 1993).

Pentoze v moštu in vinu so slabše zastopane od heksoz. Njihova običajna koncentracija v vinu je 0,3–2 g/L (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b). Med njimi prevladujejo arabinoza, ksiloza, riboza in ramnoza.

V grozdni jagodi se pentoze nahajajo v trdnih delih grozda, zlasti v pečkih. Od kakovosti predelave je odvisna količina pentoz v moštu, kajti večina jih ostane v tropinah. Med alkoholno fermentacijo kvasovke ne morejo prevreti pentoz v alkohol, zato ostanejo v vinu kot sestavina ekstrakta in povečajo koncentracijo reducirajočih sladkorjev (Bavčar, 2009; Šikovec, 1993).

2.2.5.2 Disaharidi

Saharoza je edini disaharidni sladkor, pomemben za tehnologijo vina. Sestavljena je iz glukoze in fruktoze, njena povprečna koncentracija v moštu pa je 2–5 g/L (Šikovec, 1993). Saharoza je produkt fotosinteze v listih vinske trte, lahko pa izvira tudi iz hidrolizabilnih ogljikohidratnih rezerv iz vej vinske trte v obliki celuloze in škroba (Ribéreau-Gayon, 2000a). Kvasovke same po sebi ne morejo direktno uporabljati saharoze, lahko pa privzemajo produkte njene hidrolize s pomočjo kvasnega encima invertaze. Ta sposobnost kvasovk nam omogoča, da za povečanje sladkorja v moštu uporabimo kar saharozo (Bavčar, 2009).

2.2.5.3 Polisaharidi

Polisaharidi imajo v grozdju dve pomembni funkciji, strukturno in energetske. V vino preidejo skupaj z moštom med mletjem in stiskanjem ali pa kot posledica mikrobiološke aktivnosti. V vinu in moštu so pomembni zaradi velikosti molekul in koloidnih lastnosti, saj lahko predstavljajo probleme pri filtraciji in preprečujejo bistrenje vina.

Najpomembnejši polisaharidi so celuloza, hemiceluloza, pektin in glukani. Slednji nastanejo kot posledica okužbe s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* na grozdni jagodi. Ti glukani preprečujejo čiščenje vina ter otežijo filtracijo zaradi tvorbe vlaken, ki zamašijo pore (Bavčar, 2009).

2.2.6 Organske kisline

V moštu in vinu najdemo predvsem organske kisline, ki imajo skupaj s sladkorji in ostalimi sestavinami s kislimi lastnostmi zelo pomembno vlogo pri kislosti mošta in vina (Šikovec, 1993).

Organske kisline so spojine, ki primarno prispevajo k sestavi, stabilnosti in organoleptični kakovosti vina, predvsem belih vinskih sort. Njihove kisle lastnosti omogočijo tudi večjo mikrobiološko in fizikalno-kemijsko stabilnost vina (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b),

dajejo temeljne značilnosti tehnološki vrednosti vsaki sorti in so soudeležene pri oblikovanju kakovosti vina (Šikovec, 1993).

Organske kisline v vinu so različnega izvora. Vinska in jabolčna 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. Kot posledica delovanja plesni vrste *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 (Bavčar, 2009).

V vinu so najbolj zastopane vinska, jabolčna, mlečna in citronska kislina. Skupna koncentracija kislin v vinu je običajno 5,5–8,5 g/L (Jackson, 2008).

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 minimalno hlapne, torej vinska, jabolčna, citronska, mlečna itd. Skupne kisline so seštevke hlapnih in nehlapnih kislin (Bavčar, 2009).

Prevelike vsebnosti kislin dobimo, če je bilo grozdje nedozorelo in se določen delež kislin še ni uspel pretvoriti v sladkorje. V dozorelih letnikih sta vinska in jabolčna kislina približno enako zastopani, medtem ko je v nezrelem grozdju razmerje kislin v prid jabolčne kisline, ki je mnogo bolj kislja od vinske.

Visoka kislost vina se izraža z neharmoničnim, preveč kislim, skoraj odbijajočim okusom.

V sušnih, sončnih razmerah je odstotek kislin premajhen, kar nam da po okusu medlo ali, bolje rečeno, plehko vino. Do premajhne koncentracije kislin lahko, poleg prezrelosti grozdja in nepravilnega časa trgatve, privede tudi nepravilno opravljen kemijski ali biološki razkis (Škofca, 2008).

2.2.6.1 Vinska kislina

Vinske kisline je v grozdju 5–10 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, 2009).

Med razvojem in dozorevanjem jagod prehaja prvotno prosta vinska kislina z dotokom v vodi raztopljenih alkalij iz tal preko 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 hidrogentartrat, ki se pojavlja že v grozdju. Ta sol vinske kisline je slabo topna v vodi in še bolj netopna 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 hidrogentartratom se ta sol izloča delno že v moštu, zlasti med alkoholno fermentacijo, in se stopnjuje, če to poteka pri nižjih temperaturah. Izločanje se nadaljuje v vinu kot vinski kamen na dnu ali steni posode. V primeru, da vino ni bilo

stabilizirano na vinski kamen, lahko pride do izločanja vinskega kamna v že stekleničenem vinu. Zaradi izločanja soli vinske kisline iz mošta ali vina se lahko zniža njihova kislost. Za izločanje 1 g primarnega kalijevega hidrogentartrata iz vina se zniža kislost za 0,4 g/L (Šikovec, 1993).

Mikroorganizmi v vinu je ne uporabljajo kot substrat, zato jo uporabljamo za dokisanje. Ker je slabo topna, se izloča kot sol tartrat, ki jo pogovorno imenujemo vinski kamen (Bavčar, 2009).

2.2.6.2 Jabolčna kislina

Jabolčne kisline je v grozdju 1–4 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 (Bavčar, 2009). Jabolčna kislina se delno izloča tudi v obliki soli oziroma malatov: kalija, kalcija in magnezija (Šikovec, 1993).

2.2.6.3 Mlečna kislina

Mlečne kisline je v vinu 0–2,5 g/L, izjemoma pa tudi več, če je potekel biološki razkis. Nastane predvsem z dekarboksilacijo jabolčne kisline pod vplivom mlečnokislinskih bakterij. Njene soli (laktati) so dobro topne in stabilne (Bavčar, 2009).

2.2.6.4 Citronska kislina

Citronska kislina prehaja iz grozdne jagode v mošt. Tvorijo se pod vplivom plesni vrste *Botrytis cinerea*. V grozdni jagodi je citronska kislina redna spremljevalka jabolčne kisline, čeprav je fiksirana na celične opne in je zato mnogo ostane v tropinah (Bavčar, 2009; Šikovec 1993). V moštu in vinu pred jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo najdemo 0,5–1 g/L citronske kisline (Ribéreau-Gayon, 2000b). Pri predelavi preide v vino, v katerem je stabilna, neobstoja je le v primeru aktivnosti mlečnokislinskih bakterij (Bavčar, 2009).

2.2.6.5 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, 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, 2009).

2.2.6.6 Ostale kisline v moštu in vinu

Poleg že omenjenih in pomembnejših kislin v moštu in vinu poznamo še jantarno kislino, ki je produkt kvasovk in je v anaerobnih pogojih odporna na mlečnokislinske bakterije. V vinu je zelo stabilna in prisotna v koncentracijah 0,2–2 g/L (Jackson, 2008). Poznamo tudi piruvično kislino, ki jo vino lahko vsebuje 0,03–0,3 g/L in fumarno kislino, ki se v vinu nahaja v zelo majhnih količinah. Glukonska kislina je produkt plesni in oecetnokislinskih bakterij ter je v vinu prisotna do 1,1 g/L (Fleet, 1992).

2.2.7 Dušikove spojine

Dušikove spojine v moštu in vinu se pojavljajo v anorganski obliki, kot nitrat in amoniak ter v različnih organskih oblikah, kot amini, amidi, aminokisline, pirazini, dušikove baze, pirimidini, proteini in nukleinske kisline (Jackson, 2008).

Koncentracija skupnega dušika v moštu znaša 60–2400 mg/L (Henschke in Jiranek, 1992). Anorganske dušikove spojine dosegajo do 300 mg/L, ostali del pa predstavljajo organske. Med njimi so najpomembnejše prav proste aminokisline, ki dosegajo 50–90 % koncentracije skupnega dušika (Bavčar, 2009). Na količino akumuliranih dušikovih spojin vplivajo predvsem: sorta, klimatski dejavniki, gnojenje, lega vinograda, sestava tal, stopnja dozorelosti grozdja, mikrobiološka okužba jagode s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* in podlaga vinske trte (Bavčar, 2009).

Dušikove spojine so izredno pomemben dejavnik pri pridelavi vina, saj jih prvotno izkoriščajo kvasovke med potekom alkoholne fermentacije za izgradnjo lastnih strukturnih in funkcijskih beljakovin (Košmerl, 2007a), v tem primeru uporabljajo anorganski amonijev ion in aminokisline (Šikovec, 1996). Pomanjkanje dušikovih spojin v moštu je eden izmed najpogostejših vzrokov za slabše fermentacijske lastnosti kvasovk in njihovo učinkovitost, kar lahko vodi do upočasnitve ali celo prekinitve alkoholne fermentacije (Košmerl, 2002). Poleg tega imajo dušikove spojine tudi zelo pomembno vlogo pri tvorbi aromatičnih snovi, tako pozitivnih kot negativnih (Košmerl, 2007a).

2.3 ALKOHOLNA FERMENTACIJA

Fermentacija grozdnega soka v vino je kompleksen mikrobiološki proces, ki obsega postopen razvoj in interakcije med različnimi mikroorganizmi, kot so kvasovke, bakterije, nitaste glive in njihovi virusi (Pretorius, 2002). Pri reakcijah alkoholne fermentacije imajo ključno in najpomembnejšo vlogo vinske kvasovke (Fleet in Heard, 1992), saj imajo sposobnost pretvorbe sladkorjev grozdja v etanol in ogljikov dioksid ter v ostale pomembne metabolite v manjših koncentracijah (Pretorius, 2002).

2.3.1 Mikroflora grozdja in mošta

V skupino kvasovk, ki so povezane s pridelavo vina, prištevamo približno 18 rodov (Boulton, 1996). Divje kvasovke so ne-*Saccharomyces* fermentativne kvasovke, ki so prisotne na površini grozdnih jagod in kletarske opreme (Košmerl, 2003). Kvasovke rodov *Hanseniaspora* in *Kloeckera* prevladujejo na površini grozdnih jagod in predstavljajo 50–70 % skupne populacije kvasovk. 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 *Saccharomyces cerevisiae*, ki je zelo odporna na povečano koncentracijo etanola. Tako imenovana vinska kvasovka – vrste *S. cerevisiae* nedvomno največ doprinese k alkoholni fermentaciji. Kljub selekcijskim pritiskom se lahko v moštu ali celo v vinu pojavijo kvasovke rodov *Brettanomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspora* in *Zygosaccharomyces* (Pretorius, 2002). Preživetje ne-*Saccharomyces* kvasovk med fermentacijo je v veliki meri odvisno od fermentacijskih pogojev, zlasti temperature in pH. Ne-*Saccharomyces* kvasovke so pomembne pri tvorbi sekundarnih metabolitov – arom, ostalih alkoholov, kislin in acetaldehida.

Zrelo zdravo grozdje daje začetno kvasno populacijo z 10^3 – 10^5 CFU/mL, le ta med njenim razmnoževanjem lahko doseže območja 10^8 – 10^9 CFU/mL. Številni dejavniki vplivajo na kvasno populacijo, med katere prištevamo: temperaturo, deževje in ostale klimatske razmere, stopnjo zrelosti, uporabo fungicidov, poškodbe s strani plesni, insekticidov, ptic, sorto grozdja idr. Izvor kletne kvasne mikroflore predstavlja vsa oprema, ki prihaja v stik z moštom (Košmerl, 2003).

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 (Pretorius, 2002).

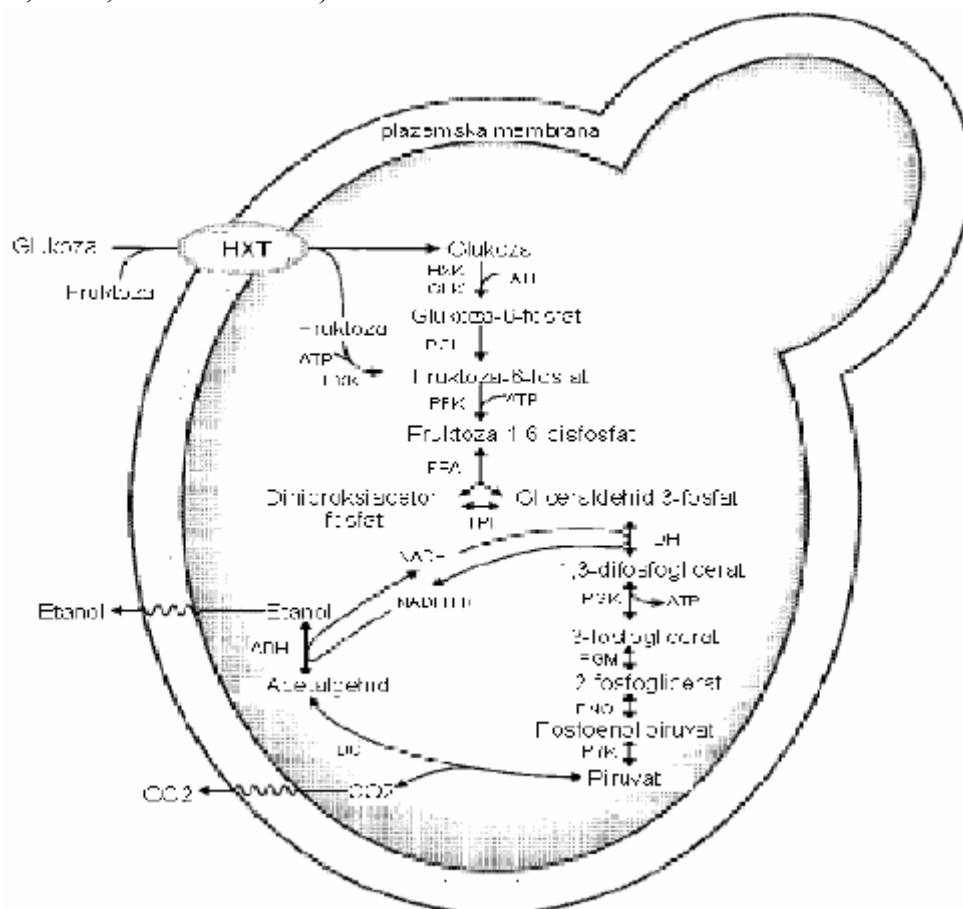
2.3.2 Metabolizem sladkorjev

Kvasovke so kemo-organotrofi. Najpomembnejši izvor energije pri kvasovkah vrste *Saccharomyces cerevisiae* je glukoza, sladkorji so torej glavni vir ogljika in energije.

Med alkoholno fermentacijo grozdnega mošta se glukoza in fruktoza presnavljata do piruvata po Embden-Meyerhof-Parnasovi poti glikolize.

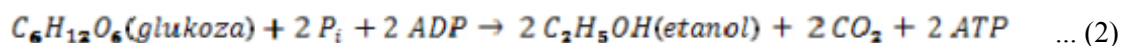
Anaerobna razgradnja sladkorjev poteka preko fruktoze-1,6-bisfosfata in 3-fosfoglicerata.

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. Med potekom glikolize vzporedno nastaja energija v obliki ATP in se tvorijo intermediati (Košmerl, 2003; Košmerl 2007a).



Slika 2: Shematski prikaz poteka glikolize oziroma metabolizem glukoze in fruktoze pri kvasovkah vrste *Saccharomyces cerevisiae* (HXT /heksozni prenašalec/, HXK /heksokinaza/, GLK /glukokinaza/, PGI /fosfoglukoza izomeraza/, PFK /fosfofruktokinaza/, FBA /aldolaza/, TPI /triozafosfat izomeraza/, TDH /glicerinaldehid 3-fosfat dehidrogenaza/, PGK /fosfoglicerat kinaza/, PGM /fosfoglicerat mutaza/, ENO /enolaza/, PYK /piruvat kinaza/, PDC /piruvat dekarboksilaza/, ADH /alkohol dehidrogenaza/) (Boulton in sod., 1996).

Celokupna reakcija alkoholne fermentacije (Seager in Slabaugh, 2011):



Volumen nastalega ogljikovega dioksida je 40- do 50-krat večji od volumna fermentirajočega mošta; 1 mol CO_2 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, medtem ko praktični izkoristek predstavlja približno 47 %. Praktični izkoristek je manjši kot teoretični, ker se 95 % sladkorja pretvori v etanol, 1 % se ga porabi za izgradnjo celičnega materiala in 4 % se porazgubi v atmosfero z izhlapevanjem. Iz 16,6–17 g/L sladkorjev se tvori okrog 1 vol.% etanola, ki gre s prosto difuzijo iz celice. Istočasno se sprosti 1,4–1,5 g CO₂ na 1 g sladkorjev. Običajne vrednosti alkohola v vinu so 8,5–14 vol.% (Košmerl, 2007a).

2.3.3 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, 2009; Košmerl, 2007a):

- glicerol, ki nastane z redukcijo dihidroksi aceton 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, glavnina jo nastane pod vplivom očetnokislinskih bakterij,
- višji alkoholi so predvsem 3-metil butanol (izoamilalkohol), 2-metil butanol (amilalkohol), 2-metil propanol (izobutilalkohol), 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 v mladih vrstah vina, ki so fermentirala pri nižjih temperaturah, povezujemo z acetatnimi estri etanola in višjih alkoholov,
- ostali produkti so: mlečna in citronska kislina, žveplov dioksid, vodikov sulfid, urea,
- partnerji vezave SO₂ = acetaldehid, piruvat, α -ketoglutarat.

2.4 VINSKE KVASOVKE IN NJIHOVA VLOGA MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO MOŠTA

2.4.1 Splošne značilnosti kvasovk

Kvasovke so enocelični evkariontski organizmi, netaksonomska kategorija gliv, definirana z ozirom na morfološke in fiziološke značilnosti. Uvrščene so v kraljestvo Fungi, in sicer v tri oddelke: Ascomycota, Basidiomycota in neklasificirane glive.

Kvasovke se nesporno praviloma množijo z brstenjem oziroma s cepljenjem. Ker so zelo odporne na sončno svetlobo in izsuševanje, so v naravi zelo razširjene. Kot enocelični organizmi lahko včasih tvorijo psevdomicelije, lahko pa tudi pravi micelij. Celice so okrogle, ovalne, podolgovate, hruškaste ali celo cilindrične oblike. Značilen je način brstenja, ki je lahko polaren, če brsti nastajajo na enem ali obeh polih ovalne ali podolgovate celice, ali lateralen, če brsti nastajajo kjerkoli. Pri nekaterih vrstah je mogoče opaziti namesto brstenja prečno delitev. Poznane so pa tudi vrste kvasovk, ki tvorijo spore. V aerobnih razmerah metabolizirajo številne sladkorje, medtem ko imajo v anaerobnih razmerah sposobnost fermentacije samo nekatere vrste.

Kvasovke rastejo v zelo širokem območju vrednosti pH, visokem odstotku etanola tudi do 18 vol.%, nekatere pa tudi ob prisotnosti 50–60 % saharoze. Znane so tudi po tvorbi različnih barvil (Adamič in sod., 2003; Raspor, 1996).

2.4.2 Vinske kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae*

Celice kvasovk rodu *Saccharomyces* spadajo v oddelek Ascomycota (Adamič in sod., 2003). Nekateri rodovi živijo v zelo vlažnem oziroma vodnem okolju, drugi pa parazitirajo na rastlinah. Spolno se razmnožujejo s sporami (askosporami), ki so v askusih (1–4 ali več askospor, ovalne oblike z gladko steno), vendar je ta način razmnoževanja industrijsko nezanimiv. Pomembnejše so vegetativne vrste razmnoževanja. Največ se razmnožujejo z brstenjem, za vrsto *Saccharomyces cerevisiae* je značilno multilateralno brstenje (Adamič in sod., 2003; Bizaj, 2004). V idealnih pogojih cikel traja dve uri. Kvasovke vrste *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 različno vino. 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 (Košmerl, 2007a).

2.4.3 Dodatek starterske kulture vinskih kvasovk

Začetki uporabe vcepka ali inokuluma v procesu alkoholne fermentacije segajo v leto 1890, ko je uspelo Müller-Thurgau prepričati nemške vinarje o prednostih, ki jih ponuja hitra spodbujena fermentacija (Pretorius, 2002).

Spontana alkoholna fermentacija je okarakterizirana s časovnim zaporedjem prisotnosti različnih vrst in sevov kvasovk. V optimalnih razmerah je rezultat mešane avtohtone populacije lahko zelo kompleksno vino z izrazito s sadnim značajem, polnostjo, zaokroženostjo in harmoničnostjo v okusu. Ker se v večini primerov na žalost pojavljajo problemi med spontano alkoholno fermentacijo, se močno priporoča dodatek čiste kulture kvasovk (Košmerl, 2007a).

Preparati suhih aktivnih kvasovk vsebujejo veliko število živih celic, in sicer $1,2-2,7 \cdot 10^{10}$ CFU/g, medtem ko je njihova preživelost 40–64 %. Ni zanemarljivo dejstvo, da so z deležem $9 \cdot 10^3-7,6 \cdot 10^6$ CFU/g prisotne tudi mlečnokislinske bakterije in do $0,1 \cdot 10^6$ CFU/g kvasovke rodov ne-*Saccharomyces*. 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).

2.4.4 Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk

Najbolj osnovne želene in neželene lastnosti vinskih kvasovk, bodisi avtohtonih bodisi selekcioniranih sevov, so prikazane v preglednici 1. Verjetno je jasno, da je vse te številne želene lastnosti skoraj nemogoče popolnoma zagotoviti. Zato se je že pred leti porodila ideja uporabe mešane kulture različnih sevov kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*, od katerih ima posamezen sev zelo različno razmerje končnih sekundarnih produktov. Tako pridelano vino je vsekakor bistveno bolj kompleksno s stališča hlapnih aromatičnih spojin. Kvasovke vplivajo na aromo vina predvsem s tvorbo različnih količin hlapnih snovi. Aromatični značaj kvasovk je odvisen predvsem od gojišča in razmer med alkoholno fermentacijo, vendar je aromatična kakovost pri določenih sortah vezana v glavnem na količino etilnih estrov, acetatnih estrov maščobnih kislin in višjih alkoholov (Košmerl, 2007a).

Preglednica 1: Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk (Košmerl, 2007a)

Želene lastnosti	Neželene lastnosti
visoka odpornost na etanol	tvorba žveplovega dioksida
poraba sladkorja v celoti	tvorba vodikovega sulfida
odpornost na žveplov dioksid	tvorba hlapnih kislin
fermentacija pri nizkih temperaturah	tvorba acetaldehida in piruvata
minimalna faza prilagajanja	sposobnost penjenja
razgradnja jabolčne kisline	tvorba prekurzorjev etilkarbamata
fermentacija pod tlakom	tvorba polifenoloksidaze
tvorba glicerola	
β -glukozidazna aktivnost	
zimocidna (killer) aktivnost	

2.5 STARTERSKE KULTURE VINSKIH KVASOVK

2.5.1 Osnovne lastnosti starterskih kultur vinskih kvasovk

Velika večina vinarjev uporablja za fermentacijo belih in rdečih vrst mošta komercialne starterske kulture, ki so selekcionirane glede na štiri osnovne kriterije: fermentacijske lastnosti, senzorične oziroma aromatične značilnosti, tehnološke lastnosti in metabolne lastnosti z zdravstvenega stališča. V okviru teh kriterijev se v praksi, odvisno predvsem od fizikalno-kemijske sestave mošta, srečamo vsaj z enim od naštetih fenomenov:

- 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, SO₂, 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 ohranjenost 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* z naslednjimi pogoji:

- zagotovitev anaerobnih razmer,
- uporaba SO₂ v koncentracijah 30–50 mg/L; včasih tudi pasterizacija ali po končani alkoholni fermentaciji in jabolčno-mlečnokislinski fermentaciji uporaba lizozima,
- fermentacijska temperatura 16–20 °C; pod 14 °C je rast kvasovk rodov ne-*Saccharomyces* hitrejša, zlasti kvasovk rodu *Kloeckera* (*Hanseniaspora*), ki v primeru prevlade tvorijo velike količine očetne kisline in etil acetata,
- dodatek starterske kulture, katerih gostota naj bo 1–5 · 10⁶ CFU/mL,
- pretok, bistrenje in uporaba SO₂ po končani alkoholni fermentaciji,
- sterilna filtracija, protimikrobna in antioksidativna sredstva pred stekleničenjem (Košmerl, 2007a).

2.5.2 Zahteve za industrijsko produkcijo starterskih kultur

Osnovne zahteve za produkcijo komercialnih startertertskih kultur kvasovk so: dokončanje alkoholne fermentacije (toleranca na alkohol), toleranca na visoke sladkorne stopnje mošta, na SO_2 , na visoke in nizke temperature ter na visok tlak (v penečem vinu), tvorba majhnih količin očetne kisline, acetaldehida, H_2S , merkaptanov, diacetila, SO_2 , omejena tvorba višjih alkoholov, majhno penjenje, flokulativnost po končani alkoholni fermentaciji (izboljšanje bistrenja) in sposobnost sušenja.

Dodatne zahteve so: tvorba zelenih sortnih arom, razgradnja jabolčne kisline, tvorba glicerola, β -glukozidazna aktivnost, zimocidna ali killer aktivnost, majhno izločanje uree, aglomeracija, tvorba estrov, proteazna aktivnost in tvorba inhibitornih snovi za druge kvarljive mikroorganizme.

Sestava rodov ali vrst kvasovk v starterski kulturi: danes starterske kulture vsebujejo po en sam sev kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*, v bližnji prihodnosti pa jo bo sestavljala kombinacija različnih sevov iste vrste *Saccharomyces cerevisiae* ali pa kombinacija vrste *Saccharomyces cerevisiae* in rodov ne-*Saccharomyces*.

Priprava zdrave starterske kulture: pri pripravi zdrave starterske kulture moramo natančno slediti navodilom proizvajalca za rehidracijo kvasovk. V inokulumu mora biti vsaj 2–5 milijonov aktivnih kvasnih celic v 1 mL (to odgovarja za 1–3 % inokuluma). V odvisnosti od mošta je potreben dodatek 15–40 g/hL suhih kvasovk. V primeru slabšega zdravstvenega stanja grozdja, kot je npr. gniloba, potrebujemo večji inokulum med 20–40 g/hL; v belih vrstah mošta iz zdravega grozdja in opravljenem bistrenju je običajni dodatek inokuluma med 15–25 g/hL.

Faza rehidracije: ko želimo rehidrirati kvasno biomaso, mora biti temperatura rehidracijske vode 35–40 °C in voda, katero uporabljamo, ne sme biti klorirana. V prvi fazi rehidracije ne dodajamo v vodo niti sladkorja niti mošta, saj osmotski stres povzroči manjšo živost kvasne populacije. Zmes mlačne vode s kvasovkami previdno premešamo in pustimo nabrekati 20–30 minut (Košmerl, 2007a).

2.6 AROMATIČNE SNOVI V VINU

Te snovi oblikujejo aromo mošta in vina. Sestavljajo jih številne različne sestavine, ki se pojavljajo v zelo zapletenih povezavah s fizikalno-kemijskimi sestavinami (Šikovec, 1993).

Aromatične snovi imajo izreden vpliv na naše čutilne organe, zaradi tega imajo pomembno vlogo v kakovosti živil. Poznanih je več kot 800 različnih hlapnih spojin, ki je odgovornih za vonj, okus in aromo vina. Koncentracija vseh aromatičnih snovi v vinu je približno 0,8–1,2 g/L. 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 in 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 sulfid, tioalkoholi, tioetri in tiolani, vendar v izredno majhnih koncentracijah (manj kot 1 mg/L) (Košmerl, 2007a).

Pri klasifikaciji aromatičnih komponent vino razlikujemo glede na (Košmerl, 2007a; Wondra, 2008):

- **primarno ali grozdno armo:** spojine, kot jih najdemo v nepoškodovani grozdni jagodi; aroma je odvisna od sorte, geoklimatskih pogojev, količine pridelka, zdravstvenega stanja in agrotehničnih ukrepov;
- **sekundarno armo:** aromatične spojine, ki se oblikujejo med predelavo grozdja (pecljanje, drozganje, maceracija, stiskanje), kjer potekajo kemijske in encimske reakcije;
- **fermentacijsko armo:** aromatične spojine, ki se oblikujejo med alkoholno fermentacijo kot proizvod kemijskih in biokemijskih reakcij metabolizma kvasovk;
- **zorilno armo:** nastala zaradi kemijskih reakcij med zorenjem vina v steklenici.

Koncentracija, intenzivnost in kakovost aromatičnih snovi v vinu je odvisna od večjih dejavnikov, ki so: klimatske in pedološke razmere, sorta grozdja, letnik, stopnja zrelosti, fermentacijske razmere (pH, temperatura, raznovrstnost kvasovk), postopki predelave grozdja (enološke metode) in zorenje ter staranje vina (zorenje v steklenici) (Prosen in sod., 2007; Košmerl, 2007a).

Aromatične snovi vina zaznamo na dva načina:

- **neposredno** z vohanjem, kar imenujemo vinska cvetica 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 za vonj. Skupek obeh vtisov imenujemo aroma vina (Košmerl, 2007a).

2.6.1 Primarna aroma

Primarna aroma izvira iz grozdja. Te arome 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 odvisne od znanja kletarja in razmer, v katerih dela.

Sorta daje 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.

Primarno armo vina sestavljajo terpenske in monoterpenske snovi, ki jih v določenih vrstah vina lahko zaznamo že v minimalnih koncentracijah (0,1 mg/L) (Nemanič, 1999).

Preglednica 2: Senzorične lastnosti monoterpenov v vinu in njihov senzorični prag zaznave (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b; Košmerl, 2007a)

Monoterpen	Aroma	Senzorični prag zaznave (µg/L)
geraniol	cvetlična, po vrtnici, po citrusih	130
citronelol	prijetno dišeča, po vrtnicah, po citrusih	18
linalool	cvetlična, sveža, po koriandru	50
nerol	cvetlična, sveža, po zelenem	400
α-terpineol	po španskem bezgu	400

2.6.2 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 in 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 vrste *S. uvarum*, *S. bayanus* in *S. chevalieri*. Pomemben vpliv na fermentacijo ima tudi aminokislinska sestava mošta. Aminokisline imajo pomemben delež pri direktni asimilaciji dušika, so pa tudi prekursorji pri sintezi nekaterih hlapnih snovi, predvsem višjih alkoholov pri alkoholni fermentaciji. Aminokisline predstavljajo 60–90 % vsega dušika v grozdnem soku. Različnost sestave aminokislin je odvisna od sorte, letnika, intenzivnosti pridelka, načina gojenja, sestave in obdelave tal, dozorelosti in zdravstvenega stanja grozdja ter mikroklimatskih razmer. Koncentracija aminokislin narašča z dozorevanjem (Košmerl, 2007a).

2.6.2.1 Aldehidi

Večina aldehidov 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).

Acetaldehid je najpomembnejši aldehyd v vinu. Pogosto predstavlja več kot 90 % vseh aldehidov (Jackson, 2008). 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 acetaldehid do etanola in jim ta uide skozi celično steno. Nastaja pa lahko tudi po končani fermentaciji s kemijsko in mikrobiološko oksidacijo etanola v acetaldehid, med zorenjem in skladiščenjem vina. Večje koncentracije acetaldehida so lahko posledica slabše kakovosti grozdja, slabše zaščite vina pred

oksidacijo med postopkom predelave grozdja, pridelave vina in med zorenjem vina. Čim krajša je predfermentativna faza in pravočasno prvo pretakanje vina, tem manjši je nastanek stranskih produktov alkoholne fermentacije, zlasti acetaldehida, saj s tem preprečimo oksidacijo etanola v acetaldehid. Na tvorbo acetaldehida vpliva tudi temperatura fermentacije – višja je, burnejša je fermentacija in s tem več molekul acetaldehida uide skozi celično steno kvasovk, preden se uspejo reducirati v etanol. Pri sekundarni fermentaciji se koncentracija acetaldehida še poveča (Košmerl, 2007a).

V mladih sortah vina znaša njegova koncentracija 75 mg/L, njegova količina pa lahko variira tudi od 10 do 300 mg/L (Lambrechts in Pretorius, 2000), v koncentracijah nad 100 do 125 mg/L ima acetaldehid že negativen vpliv na kakovost vina (Bavčar, 2009), kar povzroča večjo potrebo po dodatku žveplovega dioksida, da lahko vino ohrani sortno značilnost. Za nevtralizacijo 1 mg acetaldehida v vinu je potrebno 1,45 mg žveplovega dioksida (Košmerl, 2007a).

Drugi pomembni aldehidi so predvsem fenolni aldehidi, ki nastanejo pri razgradnji lignina lesenih posod (aldehid cimetine kisline, vanilin) kot posledica delovanja kvasovk in plesni vrste *Botrytis cinerea* (benzaldehyd), ali pa izhajajo iz grozdja (heksanali) (Bavčar, 2009).

2.6.2.2 Višji alkoholi

Višji alkoholi so alkoholi, ki vsebujejo več kot dva ogljikova atoma. Največ jih nastane med alkoholno fermentacijo (Bavčar, 2009) po Erlichovi poti z redukcijo ustreznih aminokislin po deaminaciji in α -keto kislin po dekarboksilaciji v ustrezne alkohole, iz drugih aminokislin in iz metabolizma ogljikovih hidratov. Njihova sinteza med alkoholno fermentacijo poteka vzporedno s sintezo alkohola (Košmerl, 2007a).

Višji alkoholi so prisotni tudi v samem grozdju (2-etilheksanol, 3-oktanol, 2-feniletanol in 1-okten-3-ol). Večina višjih alkoholov iz grozdja se med alkoholno fermentacijo odstrani iz posode in minimalno vplivajo na končni vonj vina.

Predstavljajo približno 50 % vseh aromatičnih snovi v vinu, pomembni so tudi pri zorenju vina, saj se iz njih tvorijo estri (Bavčar, 2009). Med fermentacijo nastane na 80–100 g etanola približno 1 g aromatičnih snovi, med katerimi prevladujejo višji alkoholi (Košmerl in Kordiš-Krapež, 1997).

Na končno koncentracijo višjih alkoholov vpliva več dejavnikov: različne kvasovke, višja temperatura, več prisotnega kisika, višja vrednost pH, prisotnost več trdih delcev v moštu, pomanjkanje amoniaka in prostega aminokislinskega dušika v moštu, kar prisili kvasovke, da izkoristijo dušik iz prostih aminokislin ter tako povečajo koncentracijo višjih alkoholov. V vinu se tako med alkoholno fermentacijo tvorijo predvsem izoamilalkohol (3-metil-1-butanol), amilalkohol (2-metil-1-butanol), izobutanol (2-metil-1-propanol) in n-propanol (Bavčar, 2009). Kvantitativno je največ izoamilalkohola, ki zavzema 50 % skupnih višjih alkoholov (Košmerl, 2007a).

Zaradi razlik v tehnoloških postopkih imajo bela vina običajno manjšo skupno koncentracijo višjih alkoholov kot rdeča. V vinu na splošno je povprečna koncentracija višjih alkoholov 100 do 300 mg/L (Bavčar, 2009).

Preglednica 3: Tvorba nekaterih višjih alkoholov iz odgovarjajočih aminokislin ter njihova koncentracija in aroma v vinu (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a; Lambrechts in Pretorius, 2000)

Višji alkohol	Aminokislina	Koncentracija (mg/L)	Aroma
3-metil-1-butanol (izoamilalkohol)	levcin	80-300	marcipan
2-metil-1-propanol (izobutilalkohol)	valin	50-150	alkoholni
2-feniletanol	fenilalanin	10-100	cvetlični, po vrtnici
1-propanol	?	10-50	/

2.6.2.3 Hlapne kisline

Hlapne kisline so predvsem očetna, propanojska, butanojska in mlečna. 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 belo vino 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 heksadekanojska in oktadekanojska kislina med fermentacijo zmanjšujeta (Košmerl, 2007a).

2.6.2.4 Estri

Od vseh poznanih funkcionalnih skupin v vinu so estri tisti, s katerimi se najbolj pogosto srečujemo. 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 kondenzacije med karboksilno skupino organskih kislin in hidroksilno skupino alkoholov ali fenolov (Jackson, 2008). Pomembnejši so estri, ki nastanejo iz alkoholov, saj je estrov, ki nastanejo iz fenolnih komponent, manj in so večinoma manj hlapni (Bavčar, 2009).

Prevladujoči estri so tisti, katere lahko senzorično določimo. Mednje spadajo acetatni estri, kateri nastanejo v reakciji med očetno kislino in višjim alkoholom in etilni estri, ki pa nastanejo v reakciji med etanolom in maščobno kislino (Jackson, 2008).

Med acetatni estri sta zelo pomembna etil acetat in izoamil acetat. Etil acetat je najbolj zastopan ester v koncentracijah med 50 in 100 mg/L. V večjih koncentracijah deluje negativno na kakovost vina (Bavčar, 2009).

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 mladega belega vina, z vonjem po banani, zelenih jabolkih, rožah in parfumu (Swiegers in sod., 2005).

2.6.2.5 Žveplove spojine

Hlapne organske žveplove spojine, ki nastajajo med alkoholno fermentacijo, so drugotnega pomena za cvetico vina, ker nastajajo v majhnih koncentracijah. Lahko imajo 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, 2009). Poleg tioetrov, kot sta dimetil sulfid in dietil sulfid, so v nekaterih vrstah vina 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).

2.6.2.6 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).

2.6.2.7 Dušikove spojine

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

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 MATERIAL

3.1.1 Mošt

Za poskus smo uporabili mošt bele vinske sorte malvazija, letnika 2007, iz vinorodnega okoliša Slovenska Istra.

3.1.2 Selekcionirane kvasovke

Pri fermentacijskem poskusu smo za inokulacijo mošta uporabili tri različne seve kvasovk. Kvasovke smo izbrali glede na sorto vina in glede na končno pričakovano aromatiko: VIN 7 proizvajalca Anchor Biotechnologies, ki je naravni hibrid; LALVIN QA 23 proizvajalca Lalvin in ENOFORM SIMI WHITE proizvajalca Enoferm.

VIN 7 (Lallemand, 2010), naravni hibrid, selekcionirana na inštitutu ARC, Nietvoorbij, Stellenbosch, Južna Afrika, je

- idealna za pridelavo belih aromatičnih vin, še posebej sauvignona in malvazije,
- zelo močno vre, tudi pri nizkih temperaturah, ne potrebuje hrane,
- možnost nastajanja hlapnih kislin, ki se na organoleptiki ne poznajo.

LALVIN QA 23 (Lallemand, 2010), selekcionirana na inštitutu UTAD, Portugalska, je

- ena od najbolj popularnih kvasovk za bele vrste vina,
- vinu daje izrazito sadne, odprte in sveže okuse,
- zelo zanesljiva – ni zahtevna po hrani, lahko vre pri nizkih temperaturah, odporna na alkohol do 16 vol.%,
- primerna za vse bele sorte grozdja.

ENOFORM SIMI WHITE (Lallemand, 2010), selekcija iz Kalifornije,

- dela sicer dosti pene, a je zelo popularna v pridelavi rose in belih vrst vina,
- je še posebej zanimiva za chardonnay, poudarjene arome, sadnost in kremasti stil.

3.1.3 Hrana za kvasovke

Pred inokulacijo mošta smo kvasovkam v rehidracijsko vodo dodali hranilo GO-FERM proizvajalca DANSTAR FERMENT AG. Z dodatkom hranila (30 g/hL) smo omogočili kvasovkam preživetje in normalen potek presnove. Prehrana kvasovk je zelo pomembna, zato jim z dodatkom hranila omogočimo preživetje in doseganje njihove maksimalne potencialne presnove (Lallemand, 2010).

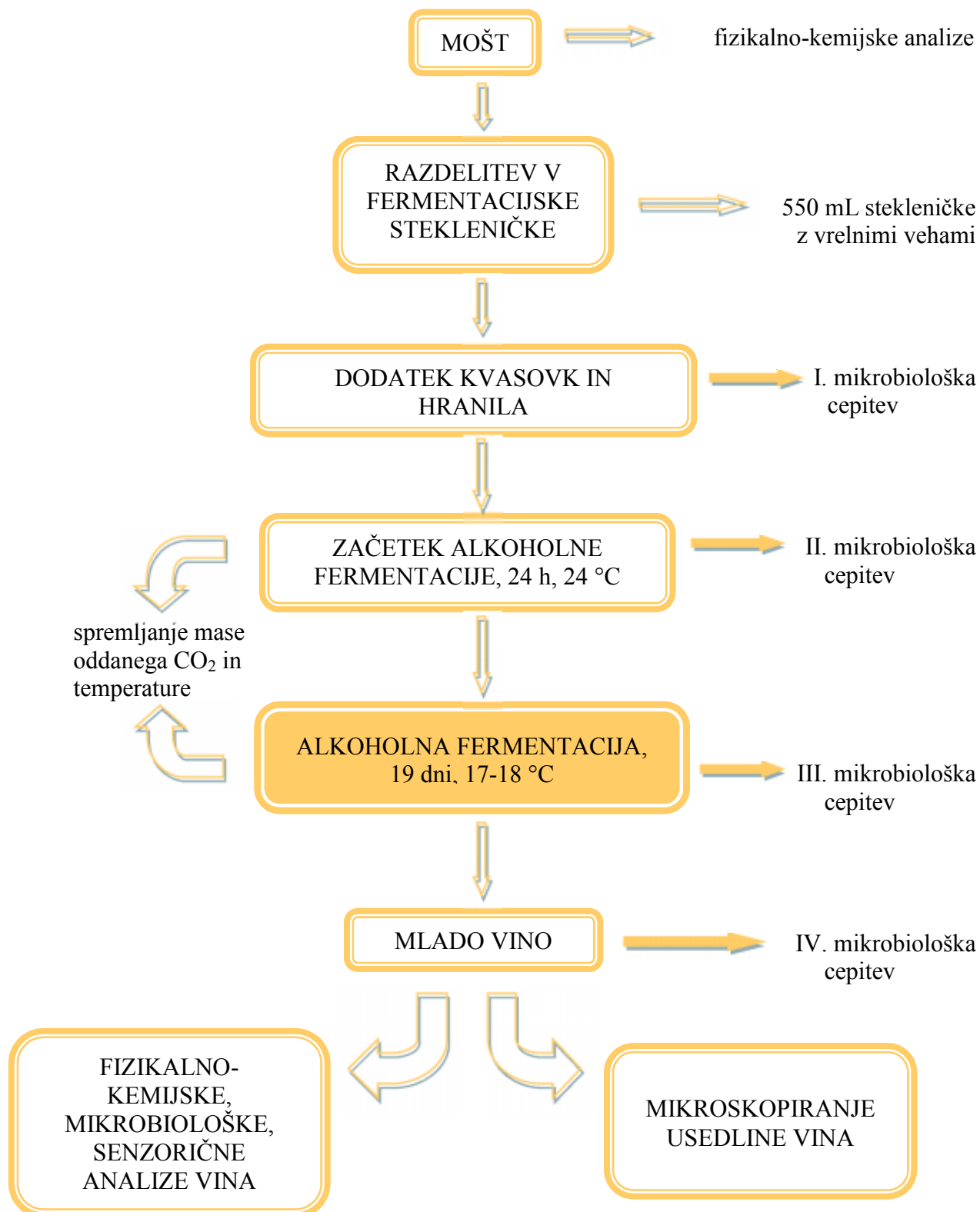
GO-FERM (Lallemand, 2010):

- inaktivne kvasovke, obogatene s steroli, nenasičenimi maščobnimi kislinami, mikroelementi in vitamini,
- poveča odpornost kvasovk na vse neugodne razmere v moštu – osmotski tlak, odpornost na alkohol, na hitro spremembo temperature,
- omogoča boljše preživetje kvasovk, boljše sposobnosti vrenja,
- manj nezaželenih spojin, manjša aktivnost divje mikroflore,
- doziranje: dodamo v vodo temperature 40–45 °C pred kvasovkami, 1,25–1,5 kg Go-ferma na 1 kg kvasovk, (oz. 30 g/hL mošta) dobro premešamo, da se popolnoma raztopi, nato dodamo kvasovke.

Preglednica 4: Oznaka vzorcev, ime selekcioniranih kvasovk in količina dodanih kvasovk in hranila

Oznaka vzorcev	Ime selekcioniranih kvasovk	Količina dodanih kvasovk (g/hL)	Količina dodanega hranila GO-FERM (g/hL)
0	/	/	/
1, 2, 3	VIN 7	25	30
4, 5, 6	QA 23	25	30
7, 8, 9	SIMI WHITE	25	30

3.2 ZASNOVA POSKUSA



Slika 3: Shematski prikaz poteka poskusa

3.3 METODE DELA

3.3.1 Postavitev fermentacijskega poskusa

Vzorec mošta smo prefiltrirali čez gazo in ga zaradi vsebnosti usedlin dodatno centrifugirali v centrifugirkah. Uporabili smo 550 mL fermentacijske stekleničke, katere smo napolnili z moštom (500 mL) in inokulirali s predhodno rehidriranimi kvasovkami in hranilom. Stekleničke smo zaprli z vrelo veho in jih za 24 ur pustili na temperaturi 24 °C (faza aklimatizacije), nato smo jih prenesli v komoro s temperaturo med 17-18 °C. Fermentacijske stekleničke smo tehtali večkrat na dan, saj smo tako lahko opazovali kinetiko alkoholne fermentacije. Fermentacija se je zaključila po 19 dneh.



Slika 4: Fermentacijski poskus po 24 urah fermentacije



Slika 5: Fermentacijski poskus po zaključeni alkoholni fermentaciji (449 h)

3.3.2 Fizikalno-kemijske analize mošta in vina

3.3.2.1 Določanje sladkorne stopnje mošta

Vsebnost sladkorja v moštu smo določili posredno oziroma fizikalno iz lomnega količnika mošta, določenega z digitalnim refraktometrom znamke REF 520, 4 skale (0–35 % Brix, AP 0–22, °Oe 0–150, *KMW 0–25), proizvajalca Silverado Trading Company, Kitajska. Točnost merilnega aparata je bila ± 1 °Oe.

3.3.2.2 Določanje pH mošta in vina

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007):

Merili smo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta bili potopljene direktno v vzorec mošta ali vina. Referenčna elektroda je imela stalen potencial, merilna elektroda pa potencial, ki je bil enak funkciji aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Za merjenje pH smo uporabili pH meter znamke Mettler Toledo DL50 Graphix s kombinirano stekleno elektrodo Mettler Toledo DG 114-SG s skalo v pH enotah.

3.3.2.3 Določanje pufrne kapacitete mošta

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007):

Merili smo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta bili potopljene direktno v vzorec mošta ali vina. Referenčna elektroda je imela stalen potencial, merilna elektroda pa potencial, ki je bil enak funkciji aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Uporabljali smo pH meter s skalo v pH enotah. Za merjenje smo uporabljali kombinirano stekleno elektrodo.

Pri dodajanju baze oziroma kisline je potekla reakcija:



Po vsakokratnem dodatku titranta potenciometrično smo določili pH.

Iz podatkov o pH in točnem volumnu dodanega titranta (0,1 M raztopina NaOH in 0,1 M raztopina HCl), ki smo ga preračunali v molarno koncentracijo v mešanici, je bilo možno narisati krivuljo pufrne kapacitete, to je odvisnost pH od spremembe koncentracije baze. Iz enačbe premice smo tako izračunali dejansko pufrno kapaciteto (mmol/L.pH) vzorca.

Iz obeh enačb premice smo določili dejansko pufrno kapaciteto vzorca:

$$\text{PK ob dodajanju kisline} = \text{pH}_z - 0,5 \quad \dots(4)$$

$$\text{PK ob dodajanju baze} = \text{pH}_z + 0,5 \quad \dots(5)$$

$$\text{Dejanska PK vzorca} = \text{PK ob dodajanju kisline} + \text{PK ob dodajanju baze} \quad \dots(6)$$

Legenda: PK – pufrna kapaciteta

pH_z – začetna vrednost pH

3.3.2.4 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v moštu in vinu

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007):

Pri kislinsko-bazni potenciometrični titraciji smo merili razliko v potencialu med elektrodama, ki sta bili potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Referenčna elektroda je imela stalen potencial, merilna elektroda pa potencial, ki je bil enak funkciji aktivnosti H₃O⁺ ionov v raztopini. pH meter s skalo v pH enotah, za meritve smo uporabljali kombinirano stekleno elektrodo.

Titracija z 0,1 M raztopino NaOH je potekala na avtomatskem titratorju do končne točke titracije pH=7,0 oziroma pH=8,2. Po dodajanju baze je potekla reakcija:



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

$$TK_1(g/L) = \frac{a_1(mL) \cdot c \cdot M(g/mol)}{v(mL) \cdot n} \quad \dots(8)$$

oziroma

$$TK_2(g/L) = \frac{a_3(mL) \cdot c \cdot M(g/L)}{v(mL) \cdot n} \quad \dots(9)$$

Za izračun skupnih kislin je potrebna celokupna porabo baze (a₃), ki predstavlja vsoto a₁ + a₂.

Legenda: a₁ – volumen porabljene baze pri titraciji do pH 7,00 (mL)

a₂ – volumen porabljene baze od pH 7,00 do pH 8,20 (mL)

a₃ – volumen porabljene baze pri titraciji do pH 8,20 (mL)

c – koncentracija baze 0,1 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)

3.3.2.5 Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu

Denzimetrija (Košmerl in Kač, 2007):

Termostatiranemu vzorcu vina (20 °C) smo izmerili relativno gostoto z denzimetrom Mettler Toledo DE45 Density Meter. Nato smo točno določen volumen (100 mL) ponovno termostatiranega vzorca predestilirali z destilacijsko napravo (D.E.E. Gibertini) v 100 mL merilno bučko. Po destilaciji vzorca smo dobljeni alkoholni destilat termostatirali in izmerili njegovo relativno gostoto z denzimetrom. Poleg relativne gostote smo odčitali tudi koncentracijo (volumski delež) alkohola.

Izračun relativne gostote in vsebnost skupnega ekstrakta:

- po AOAC smo relativno gostoto skupnega ekstrakta vina (d_{SE}) izračunali s pomočjo Tabariéjevega obrazca:

$$d_{SE} = d_V - d_A + 1,0000 \quad \dots(10)$$

Legenda: d_V – relativna gostota vzorca vina

d_A – relativna gostota alkoholnega destilata

- na podlagi znane d_{SE} smo izračunali masno koncentracijo skupnega suhega ekstrakta (g/L) s pomočjo ustrezne tabele.

3.3.2.6 Določanje reducirajočih sladkorjev v vinu po Rebeleinu

Titracijska metoda (Košmerl in Kač, 2007):

Številni reagenti so oksidirali reducirajoče sladkorje v karboksilne kisline, dvovalentni bakrovi ioni iz reakcijske zmesi pa so se reducirali do bakrovega(I) oksida. Iz raztopine se je izločila oborina netopnega bakrovega(I) oksida (Cu_2O). Preostali Cu^{2+} ioni so se v raztopini kalijevega jodida v kislem (dodatek žveplovega(VI) kisline) reducirali, nastali jod (I_2) pa smo titrimetrično določili z raztopino natrijevega tiosulfata ($Na_2S_2O_3$) s škrobovico kot indikatorjem. Koncentracijo reducirajočih sladkorjev (g/L) smo odčitali direktno z birete ob upoštevanju slepega vzorca (to vrednost odštejemo od rezultata).

3.3.2.7 Določanje žveplovega dioksida v moštu po Ripperju

Titracijska metoda (Ripperjeva metoda – jodometrična titracija) (Košmerl in Kač, 2007):

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

Za določitev koncentracije prostega SO_2 smo vzorec mošta najprej nakisali z dodatkom žveplove(VI) kisline, dodali indikator (škrobovico) in titriral s standardizirano raztopino

joda, ki je oksidirala žveplovo(IV) kislino v žveplovo (VI) kislino. V končni točki titracije je prebitna količina joda obarvala raztopino modro.

Za določitev koncentracije skupnega SO₂ smo vzorcu mošta najprej dodali 1 M raztopino NaOH za doseg hidrolize vezanega SO₂, nato je sledilo dodajanje ostalih reagentov in jodometrična titracija.

3.3.2.8 Določanje hlapnih kislin v moštu in vinu

Destilacijska metoda (Košmerl in Kač, 2007):

Hlapne kisline v vzorcu smo določili z uporabo destilacijske naprave (D.E.E. Gibertini) in generatorjem pare (VADE, Gibertini). Po destilaciji z vodno paro je sledila titracija destilata s standardno raztopino natrijevega hidroksida. Z odčitano porabo titranta (mL) je bil možen izračun koncentracije hlapnih kislin; izražamo jih kot masno koncentracijo očetne kisline (g/L):

$$HK = a \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)} \cdot \left(\frac{50}{1000} \right) \quad \dots(11)$$

Legenda: HK – koncentracija hlapnih kislin, izraženih kot očetna kislina (g/L)

a – poraba titranta (mL)

c – koncentracija NaOH (0,1 mol/L)

50 – razredčitveni faktor

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

3.3.2.9 Določanje prostega aminokislinskega dušika v moštu po Nicoliniju in sodelavcih

Spektrofotometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007):

Prosti aminokislinski dušik ali FAN v moštu smo določili tako, da smo primerno razredčenemu vzorcu mošta dodali razvijalec barve, segrevali, po ohladitvi dodali raztopino za razredčevanje, dobro premešali in posneli absorpcijski spekter v območju valovne dolžine od 450 nm do 700 nm z UV-VIS spektrofotometrom. Koncentracijo FAN v vzorcu lahko odčitamo iz umeritvene krivulje, ki jo po enakem postopku, kot analiziramo vzorec, pripravimo z raztopinami L(–)-treonina znane koncentracije ali pa koncentracijo izračunamo primerjalno iz maksimalne absorbance analiziranega vzorca in maksimalne absorbance standardnega vzorca, ki ju analiziramo na enak način. Absorbanco merimo pri valovni dolžini, kjer ima absorpcijski spekter maksimum. Rezultat izrazimo v mg N/L. Izračun absorbance iz slike absorpcijskega spektra:

$$A = \frac{x}{y} \cdot z \quad \dots(12)$$

Izračun končne koncentracije FAN v vzorcu glede na standardno raztopino:

$$c_{\text{vzorec}} = \frac{A_{\text{vzorec}}}{A_{\text{standard}}} \cdot c_{\text{standard}} \cdot R \quad \dots(13)$$

Legenda: A – absorbanca

x – delovno območje (odvisno od intenzitete vijolične barve)

y – višina grafa (cm)

z – navpična razdalja (cm) med absorpcijskim maksimumom in narisano bazno linijo, ki povezuje dolini levo in desno od merjenega maksimuma

c – koncentracija vzorca oziroma standarda (mg N/L)

R – razredčitev vzorca

3.3.2.10 Določanje fenolnih spojin v vinu po Singletonu in Rossiju

Spektrofotometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007):

Fenolne spojine v vinu smo določili z UV-VIS spektrofotometrom, saj so absorbirale svetlobo UV iz vidnega spektra. Z odčitano vrednostjo absorbance smo lahko določili njihovo koncentracijo.

Za določanje koncentracije skupnih fenolnih snovi smo dodali v vino Folin-Ciocalteujev (F.C.) reagent, ki v alkalni raztopini (dodatek natrijevega karbonata) oksidira fenolne snovi. Absorbanco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm.

Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin odčitamo iz umeritvene krivulje, ki smo jo pripravili z galno kislino in rezultat izrazimo kot mg galne kisline/L.

3.3.2.11 Določanje barve vina

Spektrofotometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007):

Obarvanost belih vin smo izmerili direktno (brez razredčitve) z UV-VIS spektrofotometrom. Izmerili smo absorbanco vzorca pri valovni dolžini 420 nm. V širšem spektru svetlobe od 400–440 nm smo lahko izmerili tudi odtenke rjave barve vina.

Intenziteta barve belih vin: $I = A_{420}$... (14)

3.3.2.12 Določanje motnosti v moštu in vinu

Fizikalna metoda (Compendium..., 2006):

Motnost mošta in vina smo določili s 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. Motnost smo izmerili z nefelometrom znamke HACH 2100AN TURBIDIMETER. Enota za merjenje motnosti je NTU (nephelometric turbidity unit).

3.3.2.13 Določanje hlapnih spojin in višjih alkoholov v vinu

Koncentracijo višjih alkoholov v vzorcih smo določili s plinsko kromatografijo (GC) (Amerine in Ough, 1988). Vzorcem smo po destilaciji alkohola na destilacijski napravi D.E.E. Gibertini določili koncentracijo hlapnih spojin v alkoholnem destilatu na plinskem kromatografu Agilent Technologies 6890N.

Kromatografski pogoji:

- kolona: ZB-WAX, dimenzije $60\text{ m} \times 320\text{ }\mu\text{m} \times 1\text{ }\mu\text{m}$,
začetna temperatura: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (6 min),
temperaturni gradient: $25\text{ }^{\circ}\text{C/min}$,
končna temperatura: $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ (6 min),
- injektor: razdelitev 1:20, $180\text{ }^{\circ}\text{C}$,
volumen injiciranja: $1,0\text{ }\mu\text{L}$,
tlak: $1,285\text{ bar}$,
pretok N_2 : 55 mL/min ,
- detektor: FID, $250\text{ }^{\circ}\text{C}$,
pretok H_2 : 40 mL/min ,
pretok zraka: 400 mL/min ,
- nosilni plin: He, pretok $2,5\text{ mL/min}$,
- obdelava signala in podatkov: programska oprema GC Chem Station.

3.3.3 Mikrobiološka analiza mošta in vina

3.3.3.1 Določanje skupnega števila kvasovk

Za določitev skupnega števila kvasovk v vzorcu vina smo uporabili klasično metodo kvantitativne mikrobiološke preiskave s štetjem kolonij na agar ploščah (Smole Možina, 2003).

Priprava gojišča

Za nacepitev kulture smo uporabili selektivno gojišče OGY agar, katero smo pripravili po recepturi proizvajalca. Po sterilizaciji v avtoklavu (20 min , $121\text{ }^{\circ}\text{C}$) smo gojišče ohladili na približno $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ in mu dodali oksitetraciklin, nato smo agar enakomerno razlili v petrijeve plošče, ki so bile pred uporabo shranjene v hladilniku (Smole Možina, 2000).

Priprava fiziološke raztopine

Fiziološko raztopino smo pripravili po recepturi in jo sterilizirali v avtoklavu (20 minut , $121\text{ }^{\circ}\text{C}$). Po pripravi smo jo z avtomatskim pipetorjem razdelili v epice po $0,9\text{ mL}$.

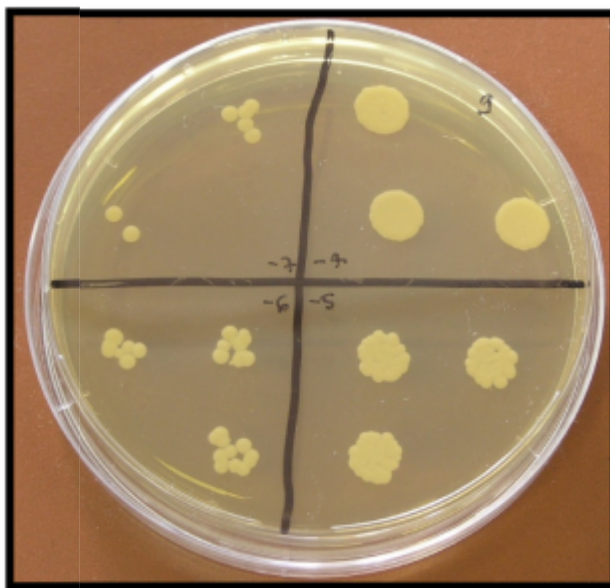
Priprava vzorca

S fiziološko raztopino smo petkrat razredčili vzorce vina na način razredčitve do razredčevalnega faktorja 10^{-5} . Postopek je potekal tako, da smo ob gorilniku, da ne bi prišlo do kontaminacije, z avtomatskim pipetorjem odpipetirali 100 μL vzorca vina in ga prenesli v prvo epico z 900 μL fiziološke raztopine. Vzorec smo nato zaprli, pretresli na stresalnik, ponovno odprli in iz njega ponovno odpipetirali 100 μL vzorca v novo epico s fiziološko raztopino. Slednji postopek smo ponovili petkrat.

Nanos razredčenih vzorcev na petrijeve plošče z OGY agarjem in inkubacija

Petrijeve plošče je treba vzeti iz hladilnika vsaj eno uro pred uporabo, da se agar segreje na sobno temperaturo. Petrijeve plošče smo razdelili na štiri dele z vodoodpornim flomastrom, tako da smo na hrbtno stran vsake narisali dve črti. Na vsako četrtino plošče smo nato nanесли trikrat po 10 μL vzorca ustrezne razredčitve (razredčitve 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} in 10^{-5}), tako, da na vsaki četrtini plošče so bile po 3 paralelne ene razredčitve vzorca. Končne razredčitve vzorcev na petrijevi plošči so bile 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} (slika 6).

Tako pripravljene plošče so bile inkubirane dva dni pri 28 °C.



Slika 6: Prikaz rasti kvasovk na petrijevi plošči z OGY agarjem (48 h, 28 °C)

Štetje kolonij in določanje skupnega števila kvasovk

Po inkubaciji smo prešteli kolonije. Števne petrijeve plošče so bile tiste, ki so vsebovale od 5 do 25 kolonij. Skupno število kvasovk smo izračunali s formulo:

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1 \times n_2) \times d} \quad \dots(15)$$

Legenda: N – CFU/mL oz. CFU/g

$\sum c$ – vsota kolonij na vseh ploščah

n_1 – število prešteti plošč 1. razredčitve

n_2 – število prešteti plošč 2. razredčitve

d – razredčitveni faktor (Smole Možina, 2003).

3.3.3.2 Mikroskopiranje usedline vina

Po zaključeni alkoholni fermentaciji in opravljenih vseh fizikalno-kemijskih analizah so bili vzorci mladega vina shranjeni v 500 mL plastenkah v hladilnici pri 4 °C.

Usedlino vina smo s kapalko prenesli na objektno stekelce (eno kapljico), jo prekrili s krovnim stekelcem in si tako pripravljen preparat ogledali pod svetlobnim mikroskopom MOTIC BA 300 pri 400-kratni povečavi. Nato smo s pomočjo računalniškega programa MOTIC IMAGE PLUS 2.0 fotografirali kvasne celice pri enaki povečavi.

3.3.4 Senzorična analiza vina

3.3.4.1 Deskriptivna analiza po lastni presoji

Opisna analiza je postopek opisovanja zaznanih senzoričnih lastnosti izdelka. Je popoln senzorični opis, ki upošteva vse občutke, zaznane med ocenjevanjem izdelka (vidne, vohalne, okusne, itd.). Senzorični vtis, ki ga pri ocenjevanju vzorca zazna preskuševalec opišemo z deskriptorjem, tj. definiran izraz, s katerim preskuševalec opiše zaznavo. Značilnost deskriptorja je, da omogoča ocenjevanje na neki intenzivnostni lestvici. Analize lahko izvajajo le visoko izšolani senzorični preskuševalci, saj morajo biti njihove ocene objektivne (Golob in sod., 2006).

Po zaključeni alkoholni fermentaciji smo mlado vino analizirali tudi senzorično z deskriptivno analizo po lastni presoji. Najprej smo opisali videz vina. Vino smo pogledali pod kotom 35–45°, nato smo ga obrnili proti svetlobi ali proti beli podlagi. Ločeno smo opazovali bistrost, ton barve, globino barve, viskoznost in penjenje. Vonj vina smo ocenili tako, da smo vino povohali v mirujočem kozarcu pred vrtenjem, pri čemer smo bili pozorni predvsem na vrsto in intenzivnost vonjav. Nato smo kozarec z vinom zavrteli, da smo pospešili sproščanje aromatičnih sestavin ter smo vino povohali (nos je globlje v kozarcu). Na takšen način smo lahko primerjali vrsto in intenzivnost vonjav v primerjavi s prvo zaznavo. Sledilo je okušanje vina oziroma zaznava v ustih, pri katerem smo okušali manjše količine vina (6–10 mL) v ustih; sledilo je gibanje vina, tako da 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. Sledila je 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 še posebno pozorni na vrsto, razvoj in trajanje intenzivnosti vonjav v primerjavi samo z vohanjem vina. Sledila je zaznava pookusa vina, ko po 15–30 sekundah smo vdihnili zrak v pljuča, popili ali izpljunili požirek vina ter izdihnili ogrete hlape skozi nos. Vonj, ki smo ga pri tem zaznali, imenujemo pookus vina in je značilen pri nežnih, elegantnih ali aromatičnih vrstah vina (Košmerl, 2007b).

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 REZULTATI ANALIZ MOŠTA

V spodnji tabeli so prikazani izmerjeni rezultati analiz mošta sorte malvazija, letnik 2007. Sledeče analize so bile opravljene pred začetkom alkoholne fermentacije.

Preglednica 5: Rezultati analiz mošta malvazija

Parameter	Enota	Izmerjena vrednost
sladkorna stopnja	°Oe	81,0
pH	/	3,60
kislinska PK	mmol/L.0,5 pH	19,91
bazična PK	mmol/L.0,5 pH	20,99
dejanska PK	mmol/L.pH	40,9
titrabilne kisline (pH=7,0)	g/L kot vinska kislina	4,47
skupne kisline (pH=8,2)	g/L kot vinska kislina	4,69
prosti SO ₂	mg/L	2
skupni SO ₂	mg/L	16
hlapne kisline	g/L kot očetna kislina	0,19
motnost	NTU	357
FAN	mg N/L	55,9

4.1.1 Sladkorna stopnja

Relativna gostota je praviloma razmerje med volumensko maso mošta ali vina pri 20 °C in volumensko maso vode pri 20 °C. Mošt sorte malvazija vsebuje od 18 do 22 % sladkorja (sladkorna stopnja) (Šikovec, 1996).

Izmerjena sladkorna stopnja mošta je bila 81,0 °Oe.

Relativna gostota je bila 1,081.

Iz podatka o relativni gostoti grozdnega mošta oziroma o sladkorni stopnji v °Oe lahko ocenimo približno vsebnost sladkorja v moštu po formuli (Košmerl in Kač, 2007):

$$\% \text{ sladkorja} = \frac{^{\circ}\text{Oe}}{4} - 2 \quad \dots(16)$$

Delež sladkorja v moštu je bil 18,25 %.

Koncentracijo sladkorja v g/L lahko določimo po sledeči formuli (Košmerl in Kač, 2007):

$$\text{sladkor (g/L)} = ^{\circ}\text{Oe} \cdot 2,25 \quad \dots(17)$$

Koncentracija sladkorja je torej 182,25 g/L.

Iz sledečih rezultatov je razvidno, da je mošt vseboval normalno količino sladkorjev.

4.1.2 pH

V bioloških sistemih je vrednost pH določitev koncentracije oziroma aktivnosti H_3O^+ ionov. Vpliv H_3O^+ ionov se kaže v selektivnem delovanju na mikroorganizme, v intenzivnosti in odtenku barve, okusu, oksidacijsko-redukcijskem potencialu, razmerju med prostim in vezanim žveplovim dioksidom ter v občutljivosti na pojav motnosti. Vrednosti mošta normalnih trgatev so med 3,1 in 3,6 pH (Košmerl in Kač, 2007).

Izmerjena vrednost pH v moštu je bila 3,60, torej spada v vrednost pH normalnih trgatev.

4.1.3 Pufrna kapaciteta

Pufrno kapaciteto (PK) lahko opišemo kot lastnost mošta ali vina, da se njegov pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz bistveno ne spremeni. Definirana je kot množina (število molov) H_3O^+ ali OH^- ionov, ki jih moramo dodati 1 L vzorca, da se njegov pH spremeni za eno enoto.

Običajno je pufrna kapaciteta od 35 do 50 mmol/L.pH, v ekstremnih primerih pa lahko le 25 mmol/L.pH ali celo do 60 mmol/L.pH (Košmerl in Kač, 2007).

Izmerjene vrednosti pufrne kapacitete so naslednje:

- kislinska PK = 19,91 mmol/L.0,5 pH
- bazična PK = 20,99 mmol/L.0,5 pH
- dejanska PK = 40,9 mmol/L.pH

Iz dobljenih rezultatov lahko opazimo, da ima mošt PK vrednost v skladnosti z običajnimi vrednostmi.

4.1.4 Koncentracija skupnih (titrabilnih kislin)

Grozdje vsebuje znatne količine različnih šibkih karboksilnih kislin, njihovo vsebnost 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 kisline. Med dozorevanjem je značilno zmanjševanje koncentracije različnih kislin in s tem posledično večanje pH. Prevladujoče organske kisline grozdnega soka in mošta so: vinska, jabolčna in citronska 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 (Košmerl in Kač, 2007).

Za sorto malvazija je značilno pozno dozorevanje. Če grozdje prezori ali odvisno od vremenskih razmer, zlasti pa od dnevnih temperatur med dozorevanjem, ima od 5 do 8 g/L skupnih kislin (Šikovec, 1996).

Izmerjena vsebnost titrabilnih kislin je bila 4,47 g/L, skupnih kislin pa 4,69 g/L. Značilno je, da se koncentracija skupnih kislin z dozorevanjem grozdja zmanjšuje, predvsem v zelo

vročih letih v vinorodni deželi Primorska. Glede na vsebnost skupnih kislin lahko sklepamo, da je bilo grozdje med trgatvijo že zelo zrelo, saj je dobljeni rezultat nekoliko manjši od običajne vsebnosti skupnih kislin za sorto malvazija.

4.1.5 Koncentracija SO₂

Žveplo uporabljamo v vinarstvu zaradi antioksidativnega (preprečevanje oksidacije) in protimikrobnega delovanja (preprečevanje rasti in razmnoževanja neželenih kvasovk in bakterij).

Prosti SO₂ je definiran kot nevezana oblika SO₂ v vinu, in sicer kot žveplov dioksid, ki ni vezan na acetaldehid, druge aldehyde ali organske spojine. Skupni SO₂ pa je definiran kot vsota vseh zvrsti žveplovega dioksida v vinu, bodisi v prosti ali vezani obliki. Vina običajno vsebujejo 5–40 mg prostega SO₂/L vina (Košmerl in Kač, 2007).

Žveplov dioksid se v vinu nahaja kot sekundarni produkt metabolizma kvasovk (v skupni obliki) in zaradi dodatkov med kletarjenjem. Že same kvasovke tvorijo žveplov dioksid v koncentracijah 15 mg/L. Še večje koncentracije pa so posledica uporabe enoloških sredstev (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

Vzorec mošta je vseboval 2 mg/L prostega SO₂ in 16 mg/L skupnega SO₂. Iz izmerjenih rezultatov lahko sklepamo, da je bil v grozdje ali mošt dodan žveplov dioksid v minimalni količini za preprečitev oksidacije ali za sanacijo morebitne gnilobe grozdja.

4.1.6 Koncentracija hlapnih kislin

Hlapne kisline v vinu so predvsem mravljična, očetna in butanojska kislina, slednje nastanejo kot posledica alkoholne fermentacije (do 0,3 g očetne kisline/L), biološkega razkisa in pri napakah ter boleznih vina (Košmerl in Kač, 2007).

Koncentracija hlapnih kislin v moštu in vinu je zakonsko določena, in sicer ne sme presegati 1,0 g očetne kisline/L (Pravilnik o pogojih ..., 2004).

Izmerjena količina hlapnih kislin v moštu je bila 0,187 g/L. Dobljeni rezultat ne presega dovoljene zakonske vrednosti.

4.1.7 Motnost

Motnost mošta in vina povzročajo kemijske in mikrobiološke napake ter bolezni vina.

Med kemijske napake prištevamo: beljakovinsko in koloidno motnost, kovinsko in fenolno motnost ter kristalizacijo. Med mikrobiološke napake prištevamo aerobni in anaerobni kvar. Pri stabilizaciji vina na omenjene komponente in navezujoči filtraciji lahko dobimo kristalno bistra vina, sicer pa je možna tudi meglica, opalescenca in motnost vina, z ali brez usedline. Za določanje motnosti ni predpisana nobena analitska metoda, niti največja dovoljena vrednost, kot npr. v Kanadi, kjer je lahko motnost belih vin največ 5 NTU (Košmerl in Wondra, 2007).

Izmerjena motnost mošta je bila 357 NTU. Mošt je bil izredno moten in je vseboval veliko usedlin, saj ni bil predhodno tretiran s tehnološkimi postopki, kot sta bistenje ali čiščenje, ki sta namenjena preprečevanju in odpravi motnosti ter usedanju motnih delcev.

4.1.8 Koncentracija FAN

Aminokislinska sestava mošta je skupaj s koncentracijo sladkorjev in skupnih kislin glavni kakovostni parameter kemijske sestave mošta. Aminokisline so med alkoholno fermentacijo pomemben vir dušika za kvasovke, ki jih izkoriščajo za izgradnjo lastnih strukturnih in funkcijskih beljakovin. Tako posledično delujejo na rast kvasne biomase, normalen potek fermentacije in sodelujejo pri tvorbi aromatičnih snovi vina.

Med fermentacijo se koncentracija posameznih aminokislin različno hitro zmanjšuje, odvisno tudi od metabolne aktivnosti posameznih sevov kvasovk. S skupnim imenom FAN označujemo dušikove spojine, ki sodelujejo v metabolizmu kvasovk. Pomanjkanje prostih aminokislin je pogost vzrok za počasne ali nepopolne alkoholne fermentacije. Fermentacija je najintenzivnejša pri skupni koncentraciji FAN 800–900 mg N/L (Košmerl in Kač, 2007).

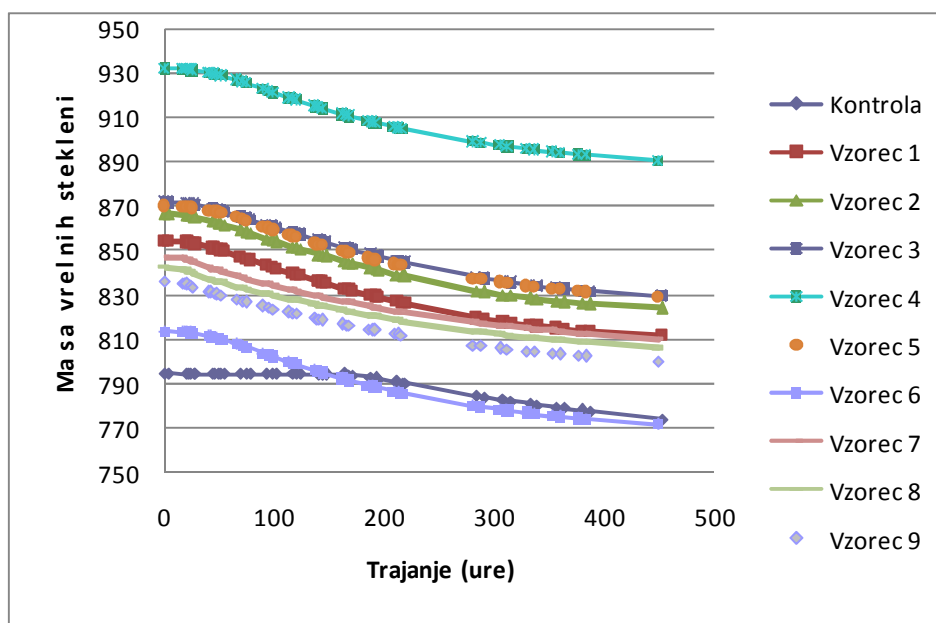
Izmerjena vsebnost FAN v moštu je bila 55,9 mg N/L. Vsebnost FAN je bila izredno majhna, torej je za optimalen potek alkoholne fermentacije obvezen dodatek hrane za kvasovke, saj le na takšen način lahko zagotovimo kvasovkam vse potrebne hranilne snovi za izgradnjo lastnih funkcijskih in strukturnih beljakovin in tako zagotovimo optimalen potek nadaljnjih reakcij.

4.2 FERMENTACIJSKE KRIVULJE

Tekom alkoholne fermentacije so fermentacijske steklenice izgubljale maso na račun oddanega CO₂, ki nastane v reakciji v kateri se sladkor pretvori v etanol.

Hitrost alkoholne fermentacije in s tem količina sproščenega CO₂ je odvisna od fizikalno-kemijske sestave mošta, inokuliranega seva kvasovk in temperature, pri kateri poteka alkoholna fermentacija (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

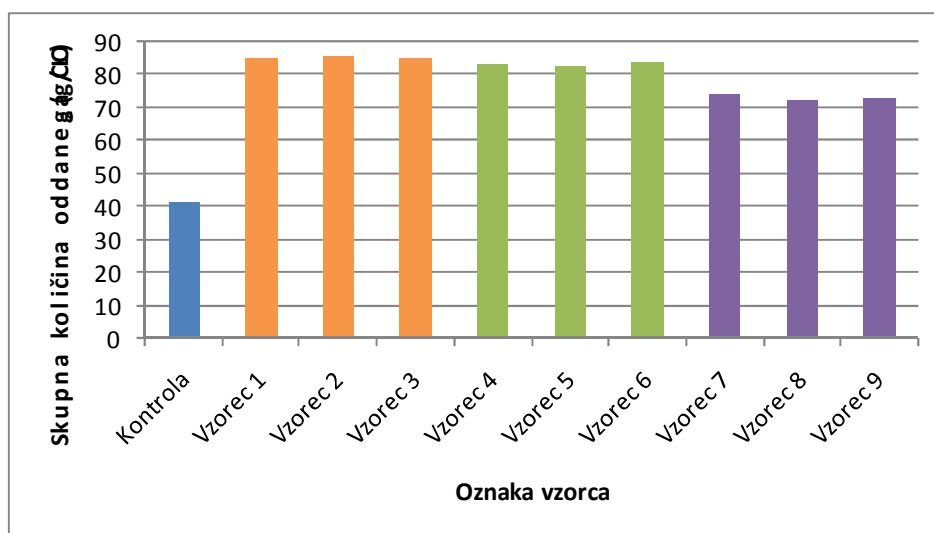
4.2.1 Masa vrelnih steklenic



Slika 7: Sprememba mase vrelnih steklenic (g) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije

Slika 7 prikazuje zmanjšanje mase vrelnih steklenic med celotnim potekom alkoholne fermentacije. Sprememba v masi steklenic je bila opazna že po prvih 17 urah po inokulaciji mošta, kar nakazuje na delovanje selekcioniranih kvasovk in uspešen začetek alkoholne fermentacije. Iz slike je razvidno eksponentno upadanje mase vzorcev v prvih 230 urah, nato so se izgube mase nekoliko upočasnile. Izjemoma je pri kontroli opazno, da je masa steklenice začela upadati šele po 170 urah, torej je bila hitrost zniževanja mase veliko počasnejša kot pri ostalih vzorcih.

4.2.2 Skupna količina oddanega CO₂



Slika 8: Skupna količina oddanega CO₂ (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Slika 8 prikazuje skupno količino oddanega CO₂ v posameznih vzorcih pridelanega mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji. Skupno količino oddanega CO₂ smo izmerili tako, da smo tekom alkoholne fermentacije tehtali vrelna steklenice, v katerih je potekala fermentacija in razlika v začetni in končni masi steklenic je predstavljala količino oddanega CO₂ (g/L). Vzorci 1, 2 in 3 so imeli največje količine oddanega CO₂, sledili so jim vzorci 4, 5 in 6 ter vzorci 7, 8 in 9, kateri so imeli najmanjšo skupno količino oddanega CO₂, kljub temu pa skoraj dvakrat večjo v primerjavi s kontrolo.

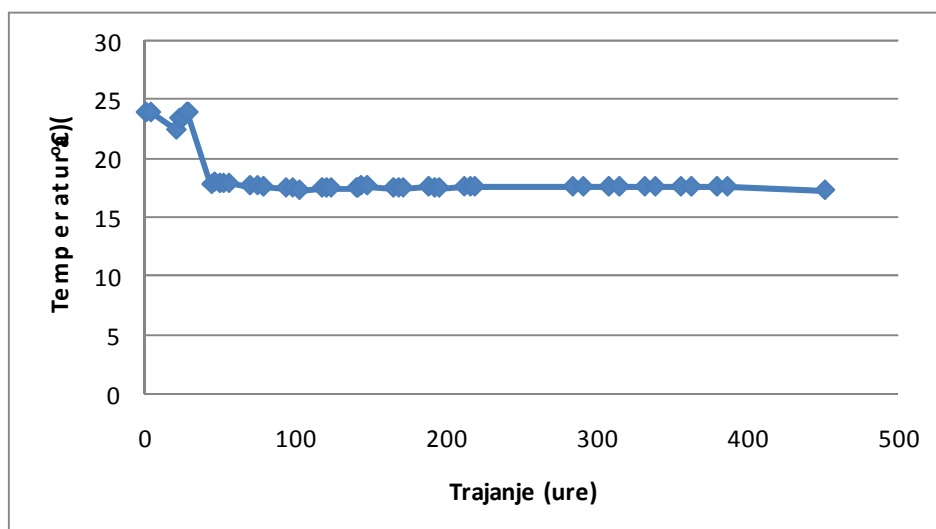
Kontrola je imela najmanjšo skupno količino oddanega CO₂, saj pri njej je alkoholna fermentacija kasneje potekla kot pri ostalih vzorcih in posledično ob prekinitvi fermentacije je kontrola še vedno fermentirala, torej sproščala CO₂.

4.2.3 Temperatura fermentacije

Temperatura vpliva direktno in indirektno na metabolizem kvasovk. Kontrola temperature omogoča najenostavnejšo možnost uravnavanja procesa alkoholne fermentacije.

Tako previsoke kot prenizke temperature povzročijo prekinitev aktivnosti kvasovk. Pri alkoholni fermentaciji je zaželen hiter začetek in nadaljnja enakomerna fermentacija z uspešnim povretjem sladkorjev do zaželenega ostanka nepovretega sladkorja.

Bela vina se ponavadi fermentira pri nižjih temperaturah, od 15 do 17 °C, kajti pri takšnih temperaturah se povečuje sadnost belih vin, ki je zelo zaželen in je posledica sinteze sadnih estrov. Pozitivna je tudi tvorba etanola in višjih alkoholov (Bavčar, 2009).

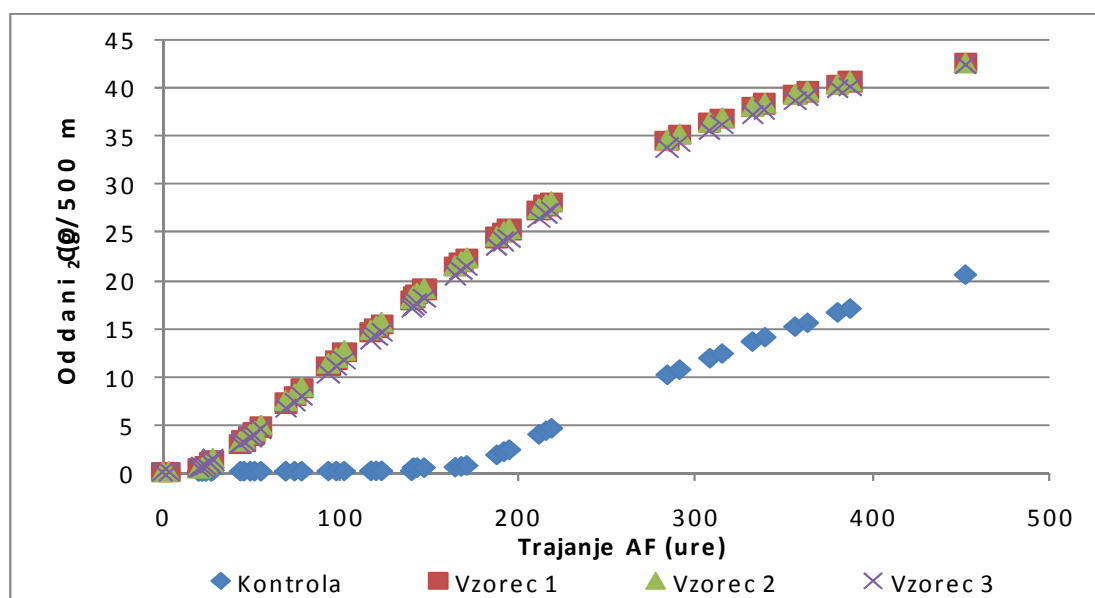


Slika 9: Sprememba temperature (°C) med potekom alkoholne fermentacije

Slika 9 prikazuje nihanje temperature med potekom celotne alkoholne fermentacije. Začetna temperatura fermentacije je bila 24 °C, nato se je čez noč znižala na 22,5 °C ter se ponovno zvišala na 24 °C. Slednje spremembe temperature niso vplivale na začetek alkoholne fermentacije.

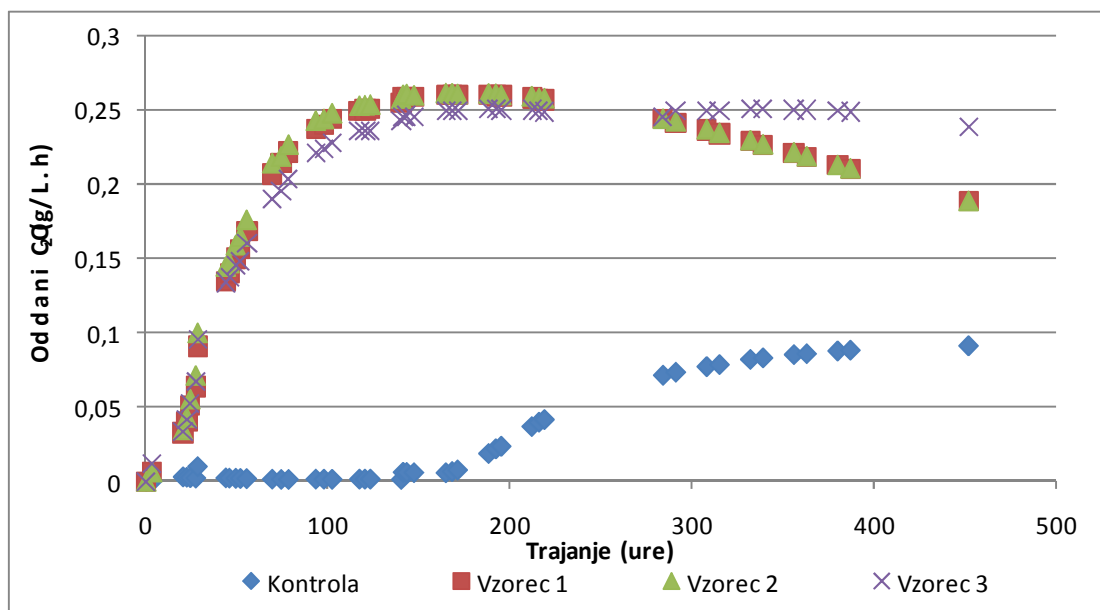
Po 28,25 urah so bile vrelnе steklenice prenesene v hladilno komoro s temperaturo med 17 in 18 °C. Temperatura je tekom alkoholne fermentacije ostala konstantna, oziroma je nihala za ± 1 °C, saj bi v nasprotnem primeru lahko negativno vplivala na sam potek fermentacije.

4.2.4 Selekcionirana kvasovka VIN 7



Slika 10: Količina oddanega CO₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko VIN 7

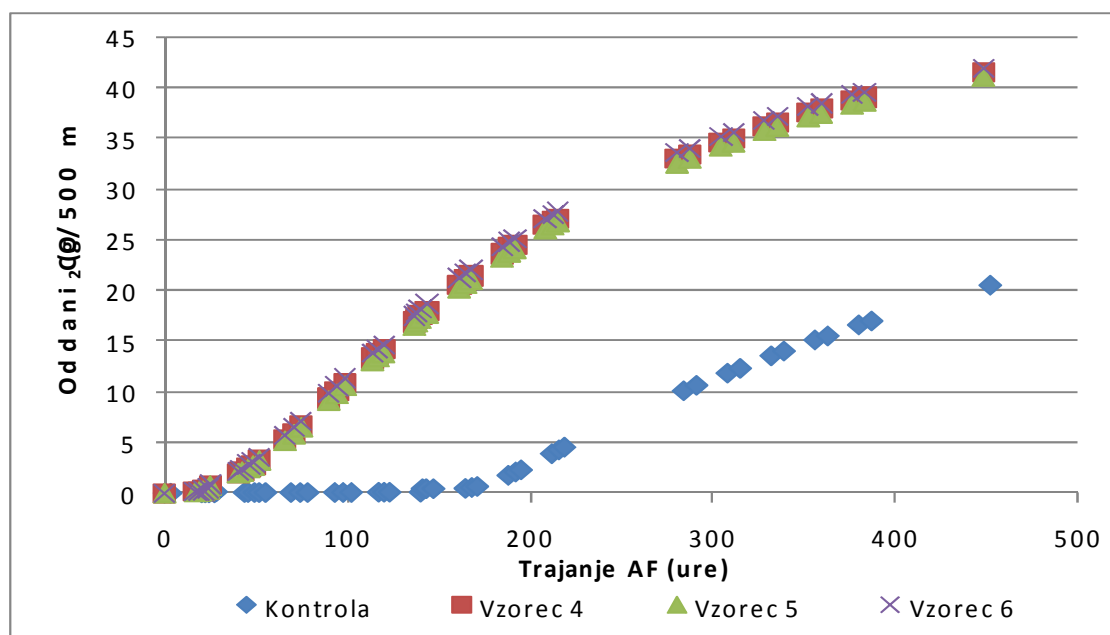
Slika 10 prikazuje količino oddanega CO₂ kvasovke VIN 7 med potekom alkoholne fermentacije. Količina oddanega CO₂ je med posameznimi vzorci selekcionirane kvasovke primerljiva. Faza pospešene rasti je bila linearna in ne tako intenzivna. Iz slike je tudi razvidno, da se stacionarna faza rasti še ni zaključila, torej kvasovke še rahlo fermentirajo.



Slika 11: Kinetika oddanega CO₂ (g/L.h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko VIN 7

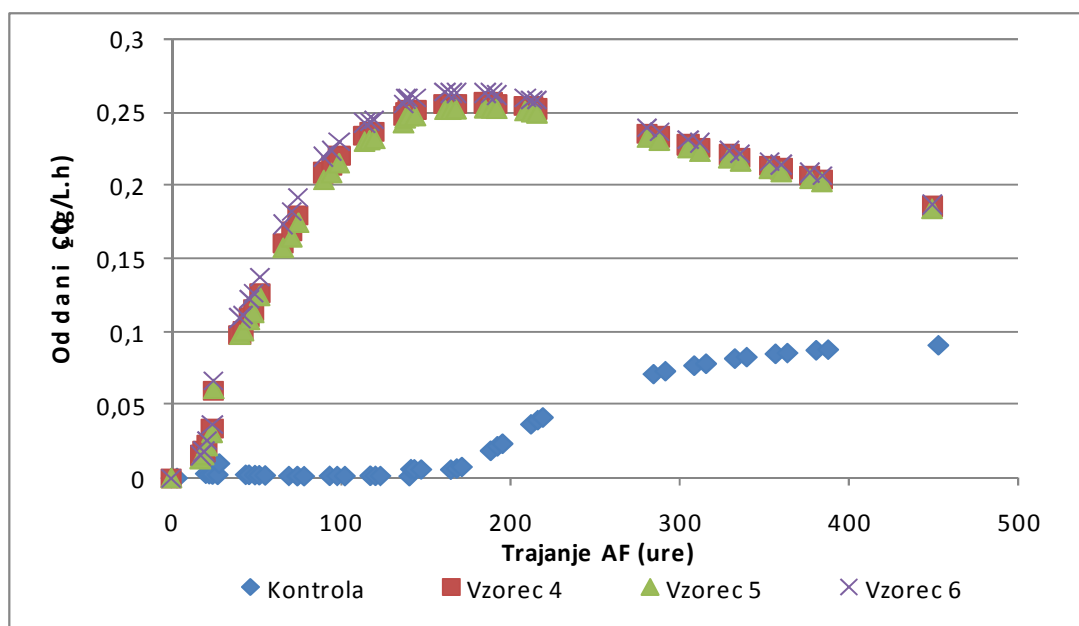
Slika 11 prikazuje kinetiko oddanega CO₂ kvasovke VIN 7 med alkoholno fermentacijo. Vzorca 1 in 2 imata primerljivo kinetiko izločenega CO₂ (g/L.h), ki je potekala enakomerno do 219. ure fermentacije, nato je njuna količina oddanega CO₂ začela enakomerno upadati. Kinetika oddanega CO₂ pri vzorcu 3 je potekala po pričakovanjih, le da se je v zadnjih treh dneh fermentacije količina oddanega CO₂ zelo malo zmanjšala, kar nakaže na to, da se alkoholna fermentacija v vzorcu 3 še ni zaključila.

4.2.5 Selekcionirana kvasovka QA 23



Slika 12: Količina oddanega CO₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko QA 23

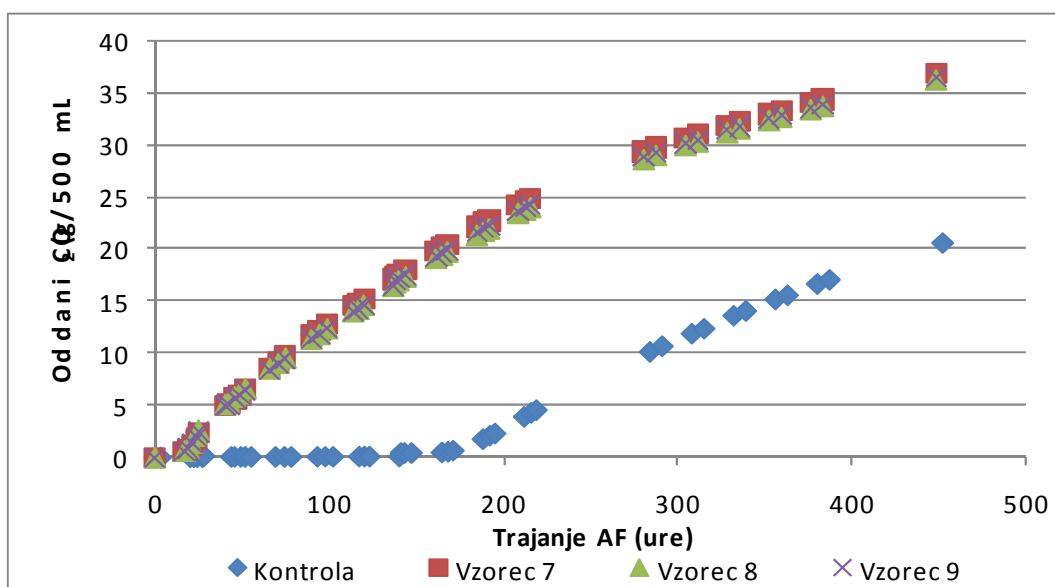
Slika 12 prikazuje količino oddanega CO₂ kvasovke QA 23 med potekom alkoholne fermentacije. Selekcionirane kvasovke VIN 7 in QA 23 imajo izredno podobne količine oddanega CO₂. Iz slike 12 je prav tako razvidna enakomerna faza prilagajanja kvasovk na fermentacijske razmere, nato je iz naklona premice razvidna eksponentna faza rasti in stacionarna faza. Faza odmiranja se še ni začela, torej fermentacija še rahlo poteka.



Slika 13: Kinetika oddanega CO₂ (g/L.h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko QA 23

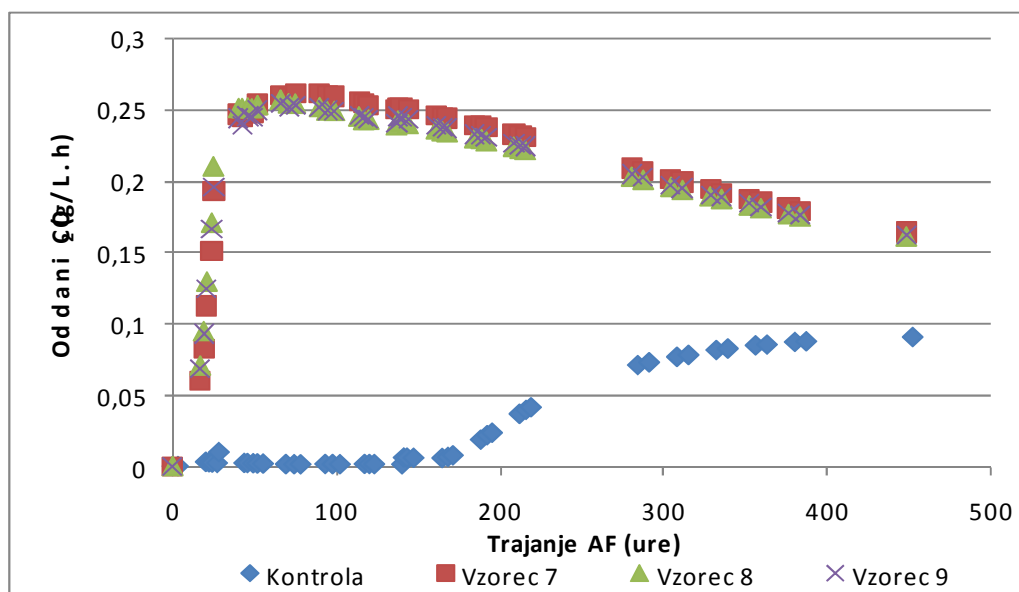
Slika 13 prikazuje kinetiko oddanega CO₂ kvasovke QA 23. Količina oddanega CO₂ (g/L.h) je primerljiva v vseh treh vzorcih fermentirajočega vina. Količina CO₂ je začela enakomerno upadati, ko se je alkoholna fermentacija upočasnila. Vzorci so dosegli maksimalno sproščanje CO₂ po 189 urah fermentacije.

4.2.6 Selekcionirana kvasovka SIMI WHITE



Slika 14: Količina oddanega CO₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko SIMI WHITE

Iz slike 14 je prav tako razvidna količina oddanega CO₂ kvasovke SIMI WHITE med potekom alkoholne fermentacije. Iz slike lahko opazimo, da je imela selekcionirana kvasovka SIMI WHITE nekoliko krajšo fazo prilagajanja. Pri vzorcu 7 lahko opazimo, da je fermentiral nekoliko burnejše kot vzorca 8 ali 9. Ob pogledu naklona premice v eksponentni fazi lahko opazimo, da je imela kvasovka SIMI WHITE najburnejše vretje, katero se ni zaključilo, torej je ob prekinitvi alkoholne fermentacije selekcionirana kvasovka še fermentirala. Iz slike je razvidno, da krivulja ni prešla še v stacionarno fazo rasti, torej lahko sklepamo, da se kvasovke še razmnožujejo.



Slika 15: Kinetika oddanega CO₂ (g/L.h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije mošta sorte malvazija s kvasovko SIMI WHITE

Slika 15 prikazuje kinetiko oddanega CO₂ kvasovke SIMI WHITE. Iz slike je razvidno eksponentna oblika krivulje glede na veliko količino sproščenega CO₂ takoj na začetku alkoholne fermentacije. Količina oddanega CO₂ (g/L.h) je primerljiva predvsem v vzorcih 8 in 9. Vsi vzorci so dosegli istočasno maksimalno sproščanje CO₂ po 66 urah poteka fermentacije, medtem ko je imel vzorec 7 največjo količino oddanega CO₂ (0,26 g/L.h). Po izredno strmi eksponentni fazi je iz slike 15 razviden linearen začetek upadanja količine sproščenega CO₂ v vseh vzorcih.

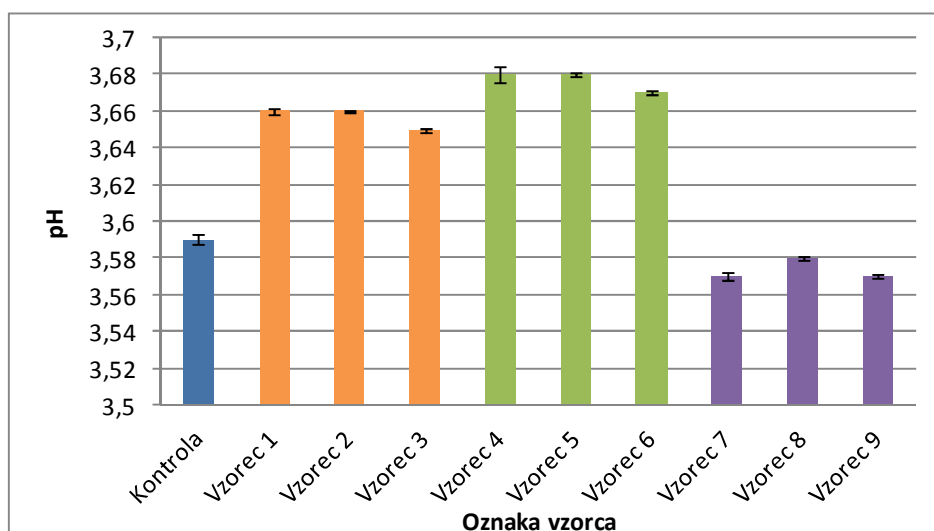
Iz slik 10, 12 in 14 je razvidna tudi količina oddanega CO₂ kontrolnega vzorca, kateremu nismo dodali seva selekcioniranih kvasovk. Pri kontroli je opazna izredno dolga faza prilaganja avtohtone mikroflore, medtem ko se je faza razmnoževanja pričela šele po 168,25 urah (7 dni) poteka fermentacije. Slike 11, 13 in 15 prikazujejo kinetiko oddanega CO₂ med fermentacijo kontrole. Iz slik je razvidno, da se je šele po 200 urah fermentacije količina sproščenega CO₂ (g/L.h) povečala in začela počasi naraščati. Pri kontroli se vsebnost sproščenega CO₂ ni zmanjševala kot pri ostalih vzorcih, saj se alkoholna fermentacija še zdaleč ni zaključila.

4.3 REZULTATI ANALIZ MLADEGA VINA

4.3.1 pH

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).

Vrednost pH lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 0,10$ (Navodilo o ..., 2001).



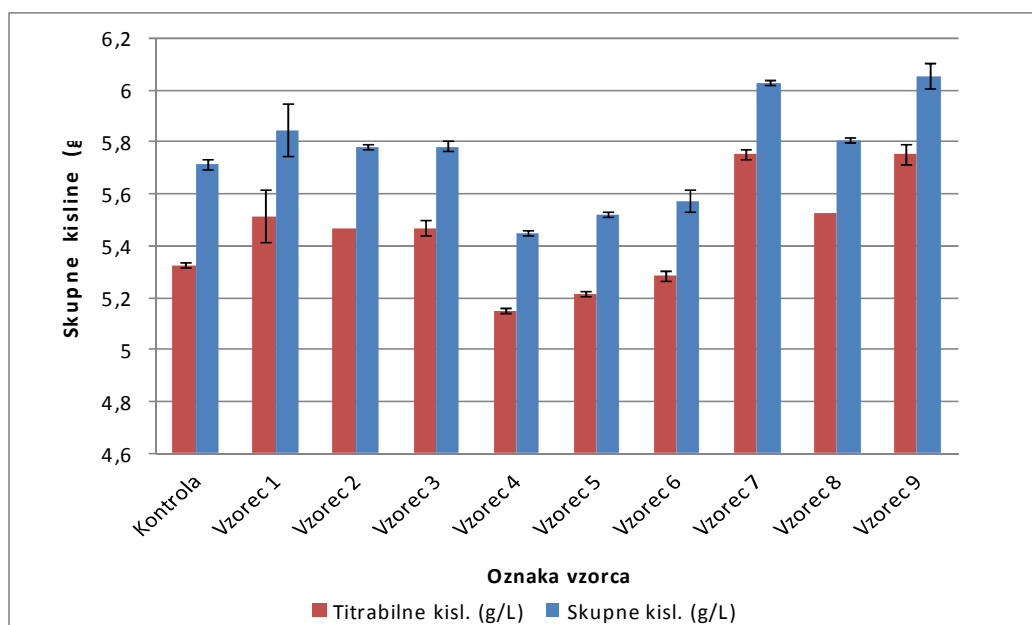
Slika 16: Vrednost pH v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 16 je razvidno, da je v prvih šestih vzorcih vrednost pH narasla, torej je bila skladno s pričakovanji večja od pH mošta (3,60), sicer pa se izmerjena vrednost pri sledečih vzorcih ni ujemala z običajno vrednostjo pH vina, ki je bil manjši od 3,60. Pri kontroli in zadnjih treh vzorcih se je vrednost pH med fermentacijo nekoliko znižala, kar pa se ujema z vrednostjo skupnih kislin, ki se je pri slednjih vzorcih povečala. Povečanje vrednosti pH je lahko tudi posledica izločanja vinske soli. Vzorec z najvišjim pH je vzorec 4, medtem ko je vzorec z najnižjo vrednostjo vzorec 9. σ je bil zanemarljivo majhen pri vseh vzorcih razen pri kontroli, vzorcu 4 in 7.

4.3.2 Koncentracija skupnih (titrabilnih) kislin

Med alkoholno fermentacijo in po njej nastajajo poleg vinske, jabolčne in citronske kisline 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, je med 6 in 9 g/L (Košmerl in Kač, 2007).

Najmanjša zahtevana koncentracija skupnih kislin, izraženih kot g vinske kisline/L vzorca je 3,5 g/L (Pravilnik o pogojih ..., 2004). Koncentracija skupnih kislin lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 0,8$ g vinske kisline/L (Navodilo o ..., 2001).



Slika 17: Koncentracija skupnih (titrabilnih) kislin v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 17 je razvidno, da so se skupne kisline tekom alkoholne fermentacije povečale, njihova koncentracija je bila v vseh vzorcih mladega vina v predvidenem območju za sorto malvazija (5–8 g/L), bila pa je za 1 g/L nižja od običajnega območja (6–9 g/L). Vzorec 4 je imel najmanjšo koncentracijo skupnih kislin (5,45 g/L), medtem ko je imel vzorec 9 največjo (6,06 g/L). Prav tako so imeli vzorci 7, 8 in 9 največje koncentracije kislin, kar je verjetno posledica neprilagojenosti kvasovk na fermentacijske razmere in s tem tvorbo novih kislin v ciklusu trikarboksilnih kislin, kar potrjuje tudi njihova nizka vrednost pH (slika 16).

Večje koncentracije tako titrabilnih kot skupnih kislin v mladem vinu glede na njihovo koncentracijo v moštu so verjetno posledica novonastalih kislin med alkoholno fermentacijo.

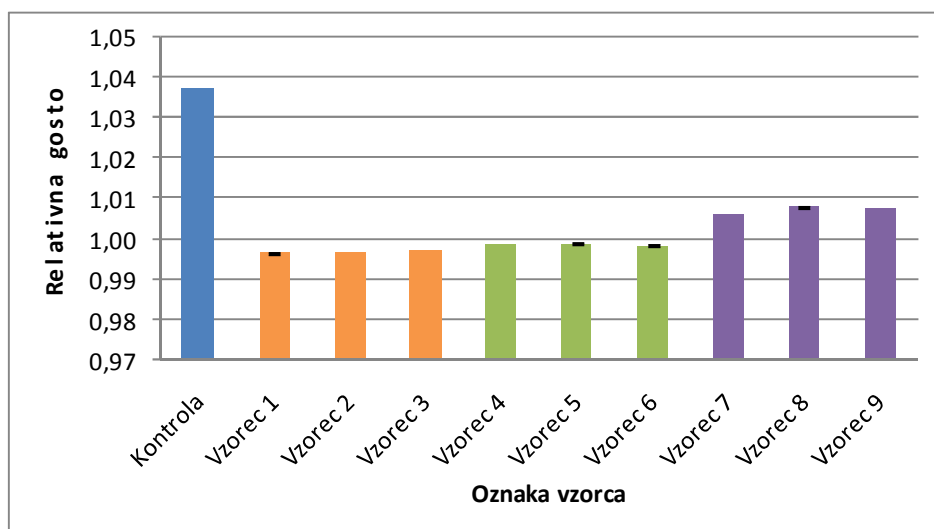
Vsi vzorci vina so imeli manjšo koncentracijo titrabilnih kislin v primerjavi s skupnimi.

σ je bil nekoliko večji pri vzorcih 1, 6 in 9, medtem ko je bil pri ostalih zanemarljivo majhen.

4.3.3 Relativna gostota

Relativna gostota je razmerje med gostoto mošta ali vina pri 20 °C in gostoto vode pri isti temperaturi. Suha vina imajo relativno gostoto blizu 1. Mošt in vina s preostankom sladkorja imajo praviloma relativno gostoto večjo od 1. Na gostoto mošta in vina vplivajo vse raztopljene snovi. Te bodisi specifično težje (sladkorji, kisline, glicerol) ali specifično lažje od vode (alkohol) (Košmerl in Kač, 2007).

Relativna gostota lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 0,00050$ (Navodilo o ..., 2001).



Slika 18: Vsebnost relativne gostote v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 18 je razvidno, da je imel kontrolni vzorec največjo relativno gostoto (1,03779), kar je v skladu z veliko vsebnostjo reducirajočih sladkorjev. Najmanjšo vrednost je imel vzorec 1, kar pa ni v skladu z reducirajočimi sladkorji, vendar upoštevajoč eksperimentalne napake, lahko upoštevamo kot najmanjšo vrednost vzorec 2, ki pa je v skladu z reducirajočimi sladkorji.

Vzorci 7, 8 in 9 so imeli nekoliko povečano vsebnost relativne gostote, saj so poleg visokega ostanka nepovretega sladkorja imeli tudi povišane skupne kisline.

Med vzorci vsakega posameznega seva kvasovk skorajda ni bilo odstopanja v vrednosti relativne gostote.

σ so bili med ponovitvami posameznih vzorcev mladega vina zanemarljivo majhni.

4.3.4 Koncentracija skupnega in sladkorja prostega ekstrakta

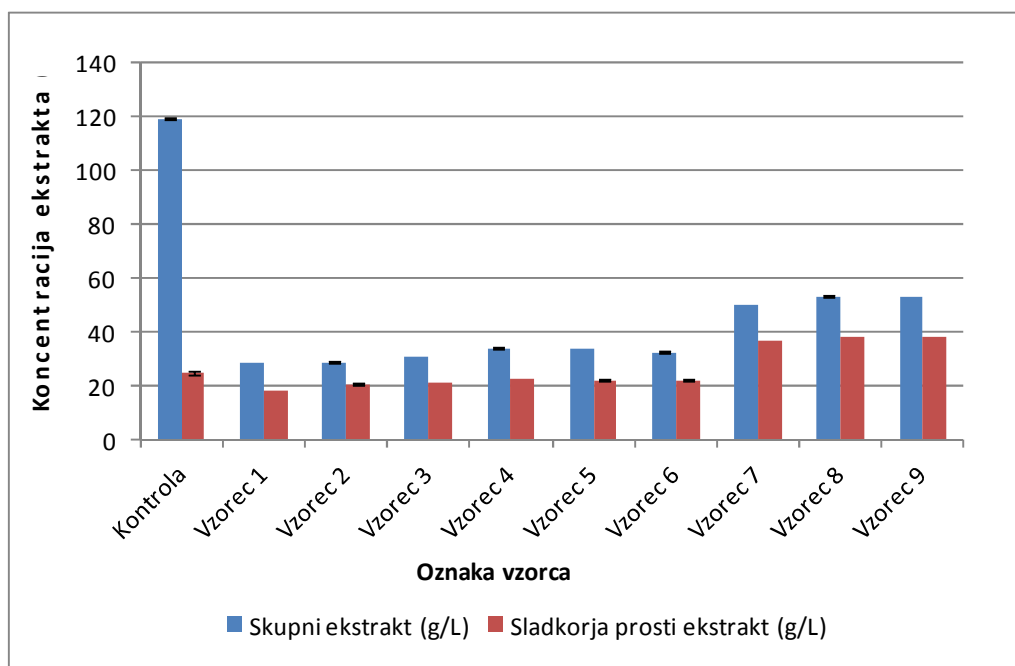
Skupni ekstrakt vina sestavljajo po definiciji O.I.V. pri 100 °C nehlapne komponente vina (sladkorji, fiksne kisline, organske soli idr.). Na osnovi vsebnosti ekstrakta vina lahko sklepamo na vsebnost sladkorja v moštu, iz katerega je bilo vino pridelano.

Sladkorja prosti ekstrakt (SPE) je po definiciji razlika med skupnim ekstraktom in reducirajočimi sladkorji.

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 literaturnih podatkih ni statistično značilen.

Vsebnost SPE je 7–30 g/L (povprečje 20 g/L); minimalne vrednosti so zakonsko predpisane (Pravilnik o pogojih ..., 2004) (Košmerl in Kač, 2007).

SPE lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 1,5$ g/L (Navodilo o ..., 2001).



Slika 19: Koncentracija skupnega in sladkorja prostega ekstrakta (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 19 je razvidno, da je bil vzorec z največjo koncentracijo skupnega ekstrakta kontrola (119,44 g/L), ki je imela tudi največjo vsebnost reducirajočih sladkorjev (94,5 g/L), ki vplivajo na vsebnost skupnega ekstrakta v vinu. Še nekoliko veliko vsebnost skupnega ekstrakta so imeli vzorci 7, 8 in 9, okoli 50–55 g/L, ki so imeli tudi nekoliko povečano koncentracijo reducirajočih sladkorjev. Vzorci z najmanjšo koncentracijo skupnega ekstrakta so bili vzorci 1, 2 in 3, okoli 30 g/L.

σ med ponovitvami posameznih vzorcev so bili zanemarljivo majhni.

Iz slike 19 je razvidna tudi koncentracija sladkorja prostega ekstrakta, ki je bila največja pri vzorcih 7, 8 in 9, okoli 38 g/L, kar presega vrednosti SPE v pričakovanem območju (7–30 g/L). Ostali vzorci pa so vsi imeli koncentracijo sladkorja prostega ekstrakta večjo od zakonsko minimalne dovoljene vrednosti, ki za kakovostna bela vina znaša 18 g/L (Pravilnik o pogojih ..., 2004) in v pričakovanem območju (Košmerl in Kač, 2007).

Pri kontroli je bila izjemno razvidna razlika v koncentraciji skupnega ekstrakta in sladkorja prostega ekstrakta, kar je posledica vsebnosti še velike količine reducirajočih sladkorjev v skupnem ekstraktu.

σ med ponovitvami posameznih vzorcev so bili zanemarljivo majhni.

4.3.5 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. Koncentracija etanola v vinu je odvisna od sorte, načina trgatve (ročna ali mehanska), vsebnosti fermentativnih sladkorjev (zrelost in zdravstveno

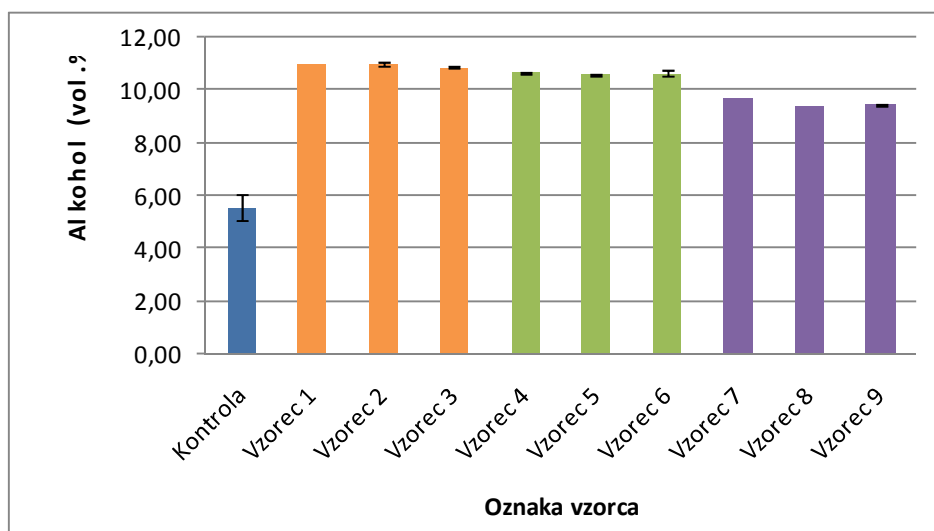
stanje grozdja), seva kvasovk, fermentacijske temperature, vsebnosti hranilnih snovi v grozdnem moštu ter razmer med alkoholno fermentacijo.

Običajno ves razpoložljiv sladkor v moštu ne povre v etanol, zato je njegoa koncentracija manjša od pričakovane (Košmerl in Kač, 2007).

Po vsebnosti alkohola razdelimo vina v (Šikovec, 1996):

- lahka s 60 do 80 g/L – okrog 7,5 do 10 vol.% etanola,
- srednje težka 80 do 100 g/L – okrog 10 do 12,5 vol.% etanola,
- težka nad 100 g/L – nad 12,5 vol.% etanola.

Dejanski alkohol (vol.%) lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 0,40$ (Navodilo o ..., 2001).



Slika 20: Koncentracija alkohola (vol.%) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 20 je razvidno, da so največjo koncentracijo etanola vsebovali vzorci 1, 2 in 3, sledijo jim vzorci 4, 5 in 6 ter vzorci 7, 8 in 9. Koncentracije alkohola vzorcev se skladajo z njihovo vsebnostjo reducirajočih sladkorjev. Vzorec z največjo koncentracijo je bil vzorec 1 (11,01 vol.%), medtem ko je imela kontrola najmanjšo koncentracijo alkohola (5,53 vol.%), saj je tudi vsebovala največjo koncentracijo nepovretega sladkorja (slika 21). σ je bil le pri kontroli nekoliko večji, vendar še vedno v okviru dovoljene eksperimentalne napake po Pravilniku o pogojih ... (2004), ki dovoljuje do $\pm 0,5$ vol.% odstopanja med ponovitvami.

Glede na vsebnost alkohola lahko prvih šest vzorcev uvrstimo v kategorijo srednje težkih vin, saj je bila njihova vsebnost alkohola med 10 in 12,5 vol.%, medtem ko vzorce 7, 8 in 9 lahko uvrstimo v kategorijo lahkinih vin, saj so vsebovali med 7,5 in 10 vol.% alkohola.

4.3.6 Koncentracija reducirajočih sladkorjev

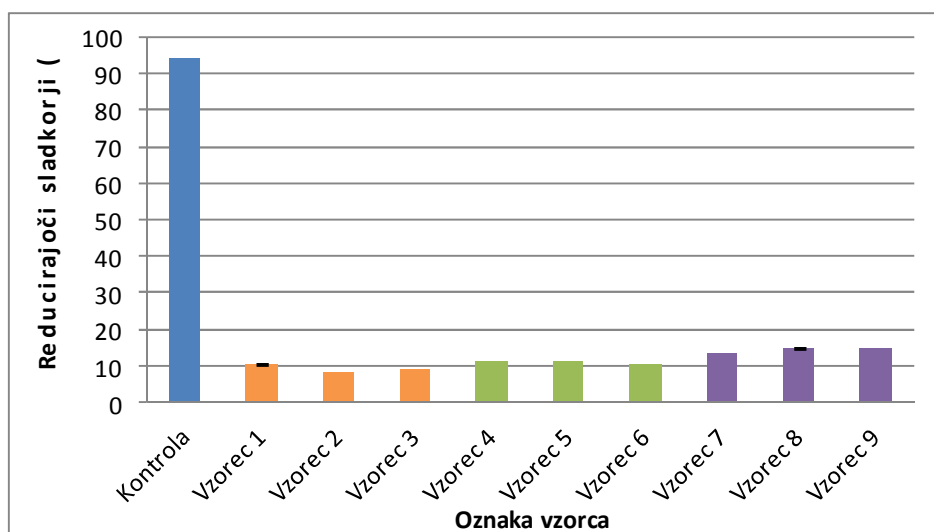
Prevladujoča sladkorja v grozdju, moštu in vinu sta glukoza in fruktoza, manj je saharoze in ostalih sladkorjev, posebno nefermentabilnih pentoz.

Reducirajoči sladkorji so definirani kot ogljikovi hidrati, ki imajo prosto aldehydno skupino in zato redukcijske lastnosti, lahko reducirajo kovinske ione (Boyer, 2005).

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

- suho vino, katerega koncentracija reducirajočih sladkorjev ne presega 9 g/L, pod pogojem, da koncentracija skupnih kislin, izražena v g vinske kisline/L, 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 12 g/L ali v primeru, da je koncentracija skupnih kislin, izražena v g vinske kisline/L, več kot 7 g/L, ne presega 18 g/L,
- 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.

Koncentracija reducirajočih sladkorjev lahko v okviru eksperimentalne napake pri suhih vrstah vina odstopa največ za 1 g/L (Pravilnik o pogojih ..., 2004).



Slika 21: Koncentracija reducirajočih sladkorjev (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 21 je razvidno, da je kontrola vsebovala največjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev (94,5 g/L). Vzorec 2 je vseboval najmanjšo koncentracijo sladkorjev (8,13 g/L), vendar je imel najvišji σ , torej je edini vzorec, ki spada v kategorijo suhega vina, vsi ostali spadajo v kategorijo polsuhih vin. Vzorci 1, 2 in 3 so vsebovali najmanjše koncentracije reducirajočih sladkorjev, sledili so jim vzorci 4, 5 in 6 ter vzorci 7, 8 in 9, ki so vsebovali tudi do 14 g/L nepovretega sladkorja. Iz sledečih rezultatov lahko sklepamo, da imajo

uporabljene kvasovke v prvih treh vzorcih najboljše fermentacijske sposobnosti, medtem ko ob rezultatu kontrole ugotovimo, da je vino po zaključeni alkoholni fermentaciji še vedno fermentiralo. To je opazno tudi na sliki 20, kjer je razvidno, da vsebuje najmanjšo koncentracijo alkohola.

σ med ponovitvami vzorcev kontrole ter vzorcev 3 in 7 ni bilo. Tudi pri ostalih vzorcih je bil σ zanemarljivo majhen.

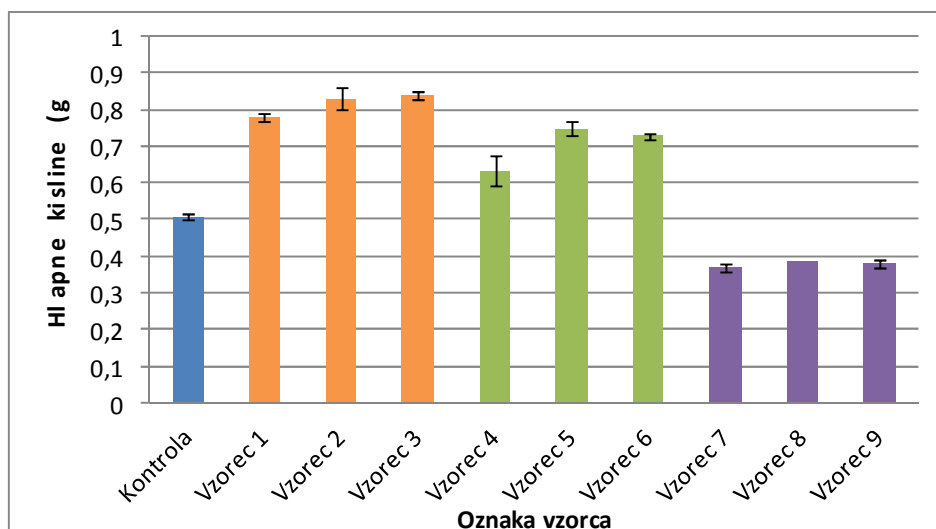
4.3.7 Koncentracija hlapnih kislin

Običajno vsebujejo mlada vina manj hlapnih kislin kot stara. Prav tako je tvorba le-teh bistveno manjša v vinu, pridelanem iz mošta z manjšo oziroma normalno koncentracijo sladkorja, v primerjavi s poznimi trgatvami (Košmerl in Kač, 2007).

Manjše količine hlapnih kislin (do 0,3 g očetne kisline/L) nastajajo kot stranski produkt med čisto alkoholno fermentacijo vina s kvasovkami. Pri biološkem razkisu tvorijo mlečnokislinske bakterije tudi manjše količine očetne kisline 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 očetne kisline/L (Bavčar, 2009).

Koncentracija hlapnih kislin je v vinu zakonsko določen, in sicer ne sme presegati 1,0 g očetne kisline/L (Pravilnik o pogojih ..., 2004).

Koncentracija hlapnih kislin lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 0,15$ g očetne kisline/L (Navodilo o ..., 2001).



Slika 22: Koncentracija hlapnih kislin (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 22 je razvidno, da vzorci ne presegajo zakonsko določeno koncentracijo hlapnih kislin. Vzorci 1, 2 in 3 so vsebovali največjo koncentracijo hlapnih kislin, med njimi je imel vzorec 3 največjo koncentracijo kislin (0,847 g/L). Vzorci z najmanjšo koncentracijo kislin so vzorci 7, 8 in 9 okoli 0,370 g/L ($\pm 0,01$ g/L).

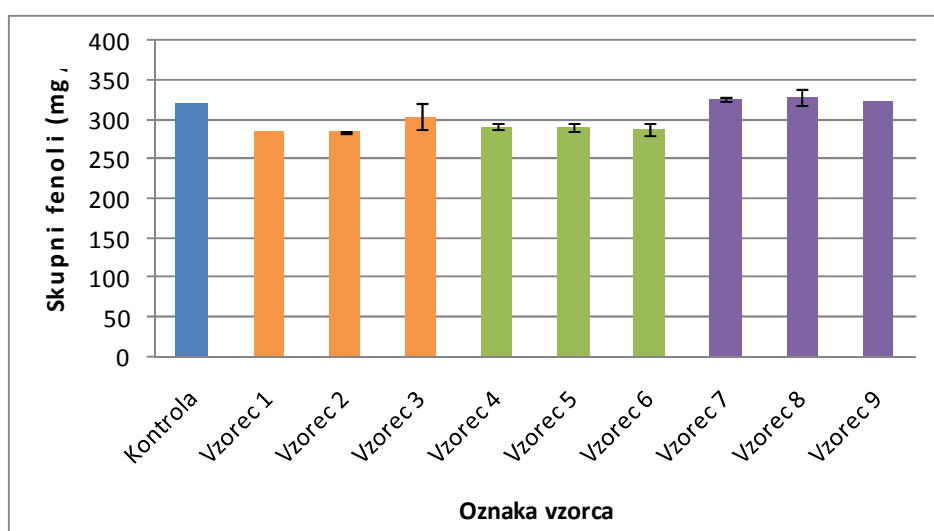
Vzorci z enakim sevom selekcionirane kvasovke imajo med sabo primerljive vrednosti hlapnih kislin, le vzorec 4 ima nekoliko manjšo vrednost glede na vzorce 5 in 6.

σ je bil zanemarljivo majhen v vseh vzorcih, razen v vzorcih 2 in 4 je bil nekoliko večji.

4.3.8 Koncentracija skupnih fenolnih spojin

Fenolne spojine delimo na enostavne in kompleksne (tanini). Pomembne so zaradi prispevka k barvi in stabilnosti vina, v večjih koncentracijah so odgovorne za trpkost in grenkobo okusa; v prisotnosti kisika hitro oksidirajo in povzročajo porjavitev vina. V prisotnosti kisika zaradi oksidacije povzročijo porjavitev vina.

Povprečna koncentracija fenolnih spojin v belem vinu je 225 mg skupnih fenolnih spojin/L (razpon od 150 do 400 mg/L). Fenolne spojine preidejo v mošt in vino iz grozdnih jagod, na koncentracijo skupnih fenolnih snovi v vinu vplivajo številni dejavniki: čas kontakta grozdnega soka s kožicami in pečkami, koncentracija etanola, temperatura fermentacije, mešanje soka in kožic, intenzivnost stiskanja, sorta vinske trte, idr. (Košmerl in Kač, 2007).



Slika 23: Koncentracija skupnih fenolnih spojin (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

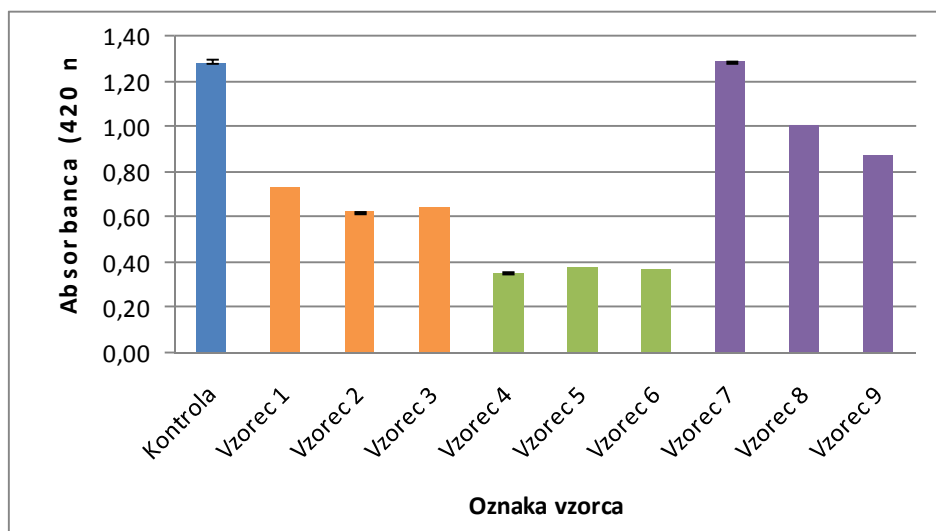
Iz slike 23 je razvidno, da so kontrola, vzorci 7, 8 in 9 in vzorec 3 vsebovali največjo koncentracijo skupnih fenolov (320-340 mg/L). Vzorec 3 je imel tudi največjo vrednost σ . Ostali vzorci 1 in 2, ter vzorci 4, 5 in 6 so vsebovali nekoliko manjšo koncentracijo skupnih fenolov (280-295 mg/L). σ slednjih so bili med ponovitvami vzorcev zanemarljivo majhni, medtem ko so bili σ vzorcev 3 in 8 nekoliko večji.

4.3.9 Barva vina

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).

Bela vina lahko vsebujejo barvila kot: klorofil, karoten, ksantofil. 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.

Intenziteta barve je pri belih vrstah vina enaka izmerjeni absorbanci pri 420 nm. Z naraščanjem vrednosti pH, večanjem koncentracije SO_2 in večanjem koncentracije alkohola se zmanjšuje absorbanca pri 420 nm, saj poleg pH vplivata na barvo vina tudi žveplov dioksid in alkohol (Košmerl in Kač, 2007).



Slika 24: Intenziteta barve pri A 420 nm v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

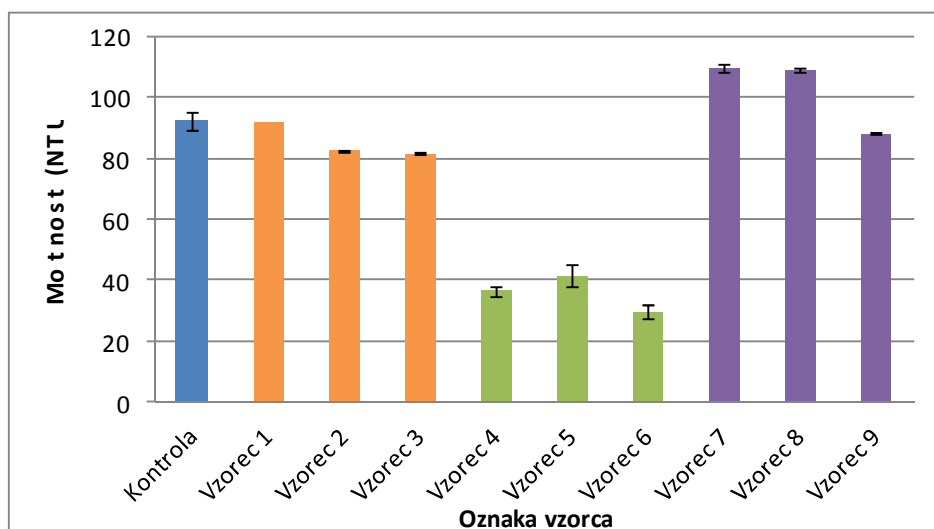
Iz slike 24 je razvidno, da so imeli kontrola in vzorci 7, 8 in 9 v povprečju največjo intenziteto barve, kar je v skladu s pričakovanji, saj so slednji vzorci v povprečju imeli tudi najnižje vrednosti pH in koncentracijo alkohola. Tudi vzorci od 1 do 6 so v skladu s pričakovanji, saj se je posledično z večanjem pH vrednosti in koncentracije alkohola njihova intenziteta barve zmanjšala (sliki 16 in 20).

σ med ponovitvami posameznih vzorcev so bili zanemarljivo majhni.

4.3.10 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 končani alkoholni fermentaciji. 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).

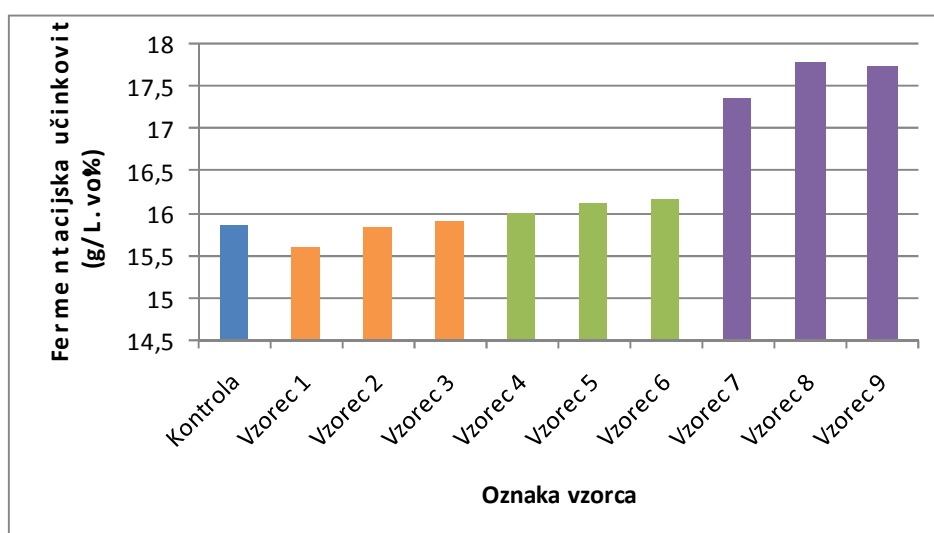
Za motnost ni predpisane največje dovoljene vrednosti, kot npr. v Kanadi, kjer je lahko motnost belih vin največ 5 NTU.



Slika 25: Motnost (NTU) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 25 je razvidno, da so bili vzorci z največjo motnostjo vzorci 7, 8 in 9, najvišjo vrednost med njimi pa je imel vzorec 7 (110 NTU), medtem ko so bili vzorci z najmanjšo motnostjo vzorci 4, 5 in 6, kjer je imel vzorec 6 najnižjo vrednost (29,8 NTU). Glede na izmerjeno vrednost motnosti v moštu (357 NTU) se je njena vrednost tekom alkoholne fermentacije občutno zmanjšala, vendar ob upoštevanju kanadskega predpisa noben vzorec ne bi ustrežal zakonskim merilom za stekleničeno vino v prometu. Glede na izmerjene motnosti lahko opazimo, da imajo vzorci z manjšo motnostjo večjo vrednost pH in obratno. σ pri posameznih ponovitvah vzorcev 4, 5 in 6 ter kontroli so bili nekoliko večji, medtem ko so bili σ v ostalih vzorcih zanemarljivo majhni.

4.3.11 Fermentacijska učinkovitost



Slika 26: Fermentacijska učinkovitost (g/L.vol.%) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 26 je razvidno, da je bila največja fermentacijska učinkovitost pri vzorcih 7, 8 in 9 (med 17 in 18 g/L.vol.%), sledili so jim vzorci 4, 5 in 6 ter vzorci 1, 2 in 3. Vzorec 1 je imel najmanjšo fermentacijsko učinkovitost (15,87 g/L.vol.%). Vzorci 1, 2 in 3 so imeli največjo koncentracijo alkohola in najmanjšo koncentracijo reducirajočih sladkorjev, nakar bi lahko sklepali, da so imeli tudi največjo fermentacijsko učinkovitost, vendar se tako ni izkazalo. Vzorec 3 je kljub majhni fermentacijski učinkovitosti vseboval predpisano koncentracijo alkohola (10,87 vol.%), glede na začetno koncentracijo sladkorja v moštu (182,25 g/L). Vzorci 7, 8 in 9 so imeli največjo fermentacijsko učinkovitost, iz slik 20 in 21 pa je razvidno, da imajo najmanjšo koncentracijo alkohola in posledično največjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev, torej lahko sklepamo, da selekcionirani sevi kvasovk v sledečih vzorcih so najbolj fermentacijsko učinkoviti, vendar zaradi prezgodnjega zaključka alkoholne fermentacije kvasovke niso dokončno povreli vseh reducirajočih sladkorjev.

4.3.12 Koncentracija hlapnih spojin in višjih alkoholov

Hlapne spojine in višji alkoholi so spojine, ki nastanejo tekom alkoholne fermentacije in oblikujejo tako imenovano fermentacijsko aromo vina. Njihov nastanek je pripisan v prvi vrsti kvasovkam in aminokislinski sestavi mošta.

Višji alkoholi so prisotni v različnih koncentracijah in razmerjih, nastanejo iz aminokislin in α -keto kislin. Njihova skupna koncentracija v vinu se giblje v povprečju 140–420 mg/L (Košmerl, 2007a). Zaradi tehnoloških postopkov je značilno, da imajo bela vina manjšo skupno koncentracijo višjih alkoholov kot rdeča vina (Bavčar, 2009).

Acetaldehid

V mladem vinu po končani alkoholni fermentaciji ga je v povprečju okrog 75 mg/L, prag zaznave v vinu pa je 100–120 mg/L. V še večjih koncentracijah povzroči oksidacijo vina, in sicer pride do tipične spremembe vonja vina zaradi aldehidne note (vonj po naribanih jabolkih, po oksidaciji) in porjavitve belih vin (Košmerl, 2007b; Bavčar, 2009).

Etil acetat

Običajno se v vinu nahaja v koncentracijah 30–60 mg/L, čeprav je prag zaznave bistveno nižji (12,3 mg/L). V koncentracijah 150–200 mg/L, torej v pokvarjenem vinu, ga lahko opišemo kot vonj po lepilu, laku za nohte ali acetonu (Košmerl, 2007b).

Metanol

Koncentracija metanola v belih vrstah vina dosega 40–120 mg/L. Metanol ne vpliva na senzorične lastnosti vina in minimalno reagira z drugimi spojinami v vinu. Po slovenski zakonodaji je največja dovoljena koncentracija metanola v belih in rose vinih 150 mg/L (Bavčar, 2009).

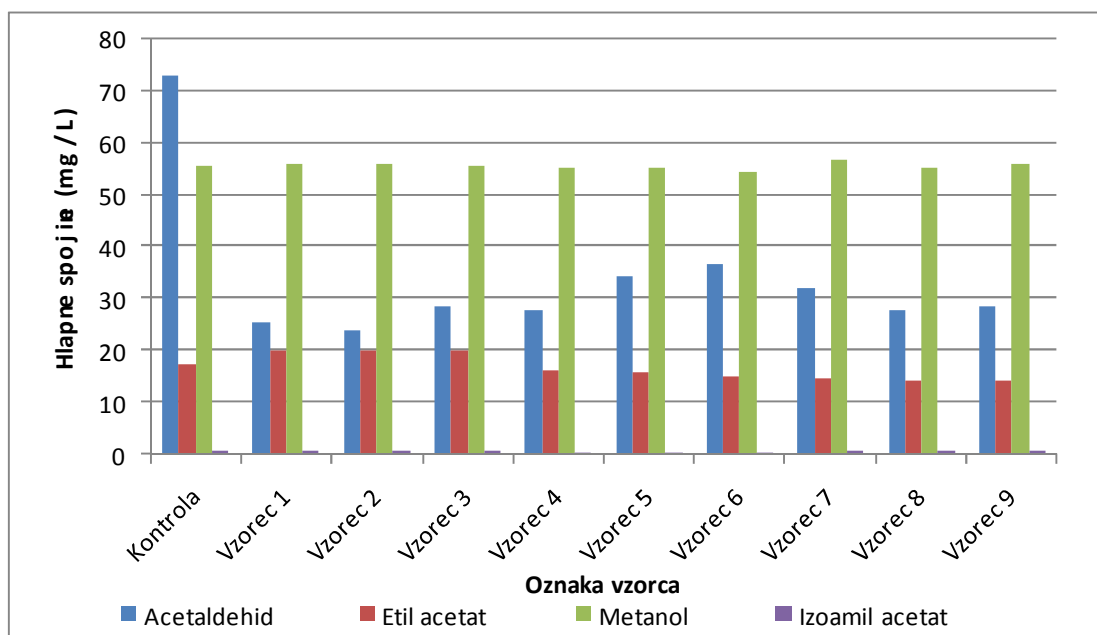
Izoamil acetat

Izoamil acetat je produkt kvasovk med alkoholno fermentacijo, njegova končna koncentracija v vinu se giblje med 0,03 in 8,1 mg/L (Lambrechts in Pretorius, 2000). Vzrok za njegov nastanek je predvsem karbonska maceracija in nizka temperatura

fermentacije belih vin. Senzorično ga zaznamo že pri koncentraciji 0,65 mg/L, vonj ima po banani in hruški (Košmerl, 2007b).

1-propanol, izobutanol, izoamilalkohol in 2-feniletanol

So višji alkoholi, ki smo jih določili v naših vzorcih mladega vina. 1-propanol se v vinu nahaja v koncentracijah 10–50 mg/L, izobutanol v koncentracijah 50–150 mg/L in ima vonj po alkoholu. Izoamilalkohol predstavlja več kot 50 % vseh višjih alkoholov, ima vonj po marcipanu in se giblje v koncentracijah 80–300 mg/L. 2-feniletanol je med naštetimi višji alkohol edini, ki je prisoten že v grozdju, ima značilen cvetlični vonj po vrtnicah in se giblje v koncentracijah 10–100 mg/L (Bavčar, 2009; Košmerl, 2007a).



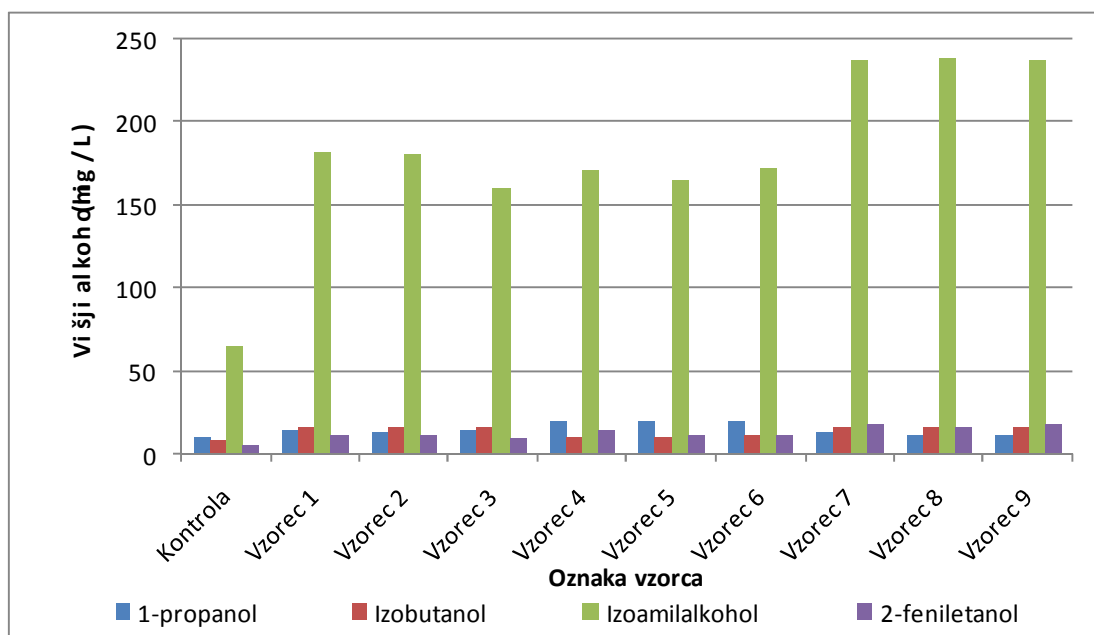
Slika 27: Koncentracija hlapnih spojin (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 27 je razvidna koncentracija različnih hlapnih spojin, ki so nastale tekom alkoholne fermentacije. Kontrola je vsebovala največjo koncentracijo acetaldehida (73 mg/L), vzorci 5 in 6 so vsebovali še nekoliko povečane koncentracije (30–40 mg/L), vendar noben vzorec ni dosegel prag zaznave acetaldehida (100–120 mg/L).

Vzorci 1, 2 in 3 so dosegli največjo koncentracijo etil acetata (19,9 mg/L), vzorcem 7, 8 in 9 pa smo določili najmanjšo vsebnost etil acetata (14 mg/L). Kljub majhnim koncentracijam bi lahko vzorci imeli blag vonj po lepilu ali acetonu, saj je prag zaznave spojine 12,3 mg/L.

Delež acetaldehida in etil acetata v alkoholu (%) je prikazan v prilogi G, v kateri je razvidno, da, delež acetaldehida v alkoholu je večji od deleža etil acetata.

Vsi vzorci so vsebovali primerljive in razmeroma majhne koncentracije metanola, 54–57 mg/L, kar po slovenski zakonodaji ne presega največje dovoljene vrednosti (150 mg/L). Kontrola vsebuje največjo koncentracijo izoamil acetata (0,89 mg/L), sledijo ji vzorci 7, 8 in 9 ter vzorci 1, 2 in 3; pri vseh omenjenih vzorcih mladega vina bi začutili nežen vonj po banani, saj imajo vsi vzorci koncentracijo izoamil acetata večjo od 0,65 mg/L.



Slika 28: Koncentracija višjih alkoholov (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi kvasovk

Iz slike 28 je razvidno, da vzorci 4, 5 in 6 vsebujejo največjo koncentracijo 1-propanola (20 mg/L), kar pa je v skladu z običajnimi vrednostmi.

Vzorec 7 vsebuje največjo koncentracijo izobutanol (17 mg/L), kar pa ne dosega niti običajne vsebnosti tega višjega alkohola.

Največje koncentracije izoamilalkohola vsebujejo vzorci 7, 8 in 9, okoli 238 mg/L (± 1 mg/L), kar je v skladu z običajnimi vrednostmi. Koncentracije ostalih vzorcev se gibljejo med 160–182 mg/L.

Koncentracija 2-feniletanola je bila v vzorcih mladega vina razmeroma majhna (9–18 mg/L), vina torej ne vsebujejo intenzivne značilne cvetlične note. Vzorec 7 je vseboval največjo koncentracijo 2-feniletanola. Iz slike 28 je torej razvidno, da so vzorci 7, 8 in 9 vsebovali največje koncentracije vseh določenih višjih alkoholov, razen 1-propanola.

Kontrola vsebuje najmanjše koncentracije vseh analiziranih višjih alkoholov, to pa zato, ker je bila njena fermentacija pre zgodaj zaključena in se višji alkoholi niso dokončno oblikovali.

V prilogah F in H je prikazan delež nastalih hlapnih spojin in višjih alkoholov (%) v alkoholu mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selecioniranih kvasovk. Iz prilog je razvidno, da je delež nastalih višjih alkoholov v alkoholu v vseh vzorcih mladega vina večji od deleža nastalih hlapnih spojin v alkoholu mladega vina. Izjemoma pri kontroli je delež hlapnih spojin večji.

4.4 REZULTATI MIKROBIOLOŠKIH ANALIZ

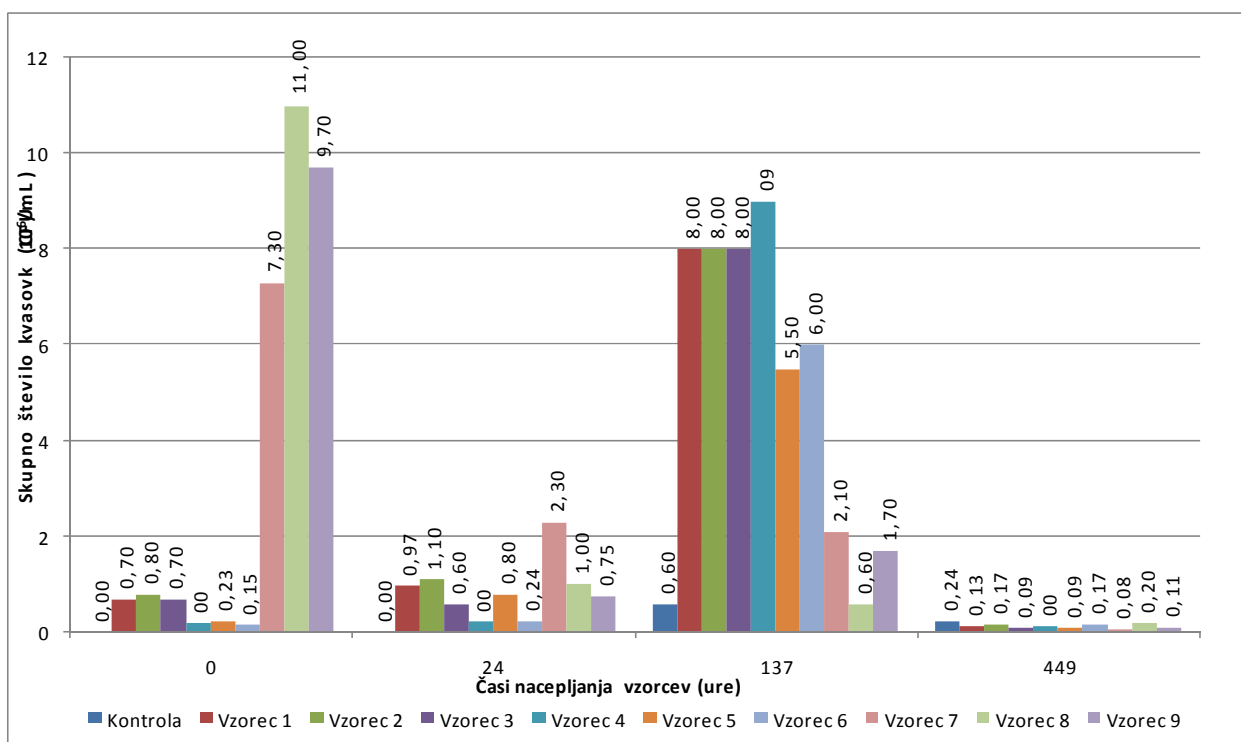
4.4.1 Skupno število kvasovk

Na začetku procesa fermentacije mošta je razpoložljivost hranil največja in upada proti koncu, ko se jih večina porabi. Nasploh pri takšni obliki fermentacije kvasovke rastejo po krivulji, ki jo imenujemo tudi rastna krivulja, katera prikazuje število celic s časom rasti.

Alkoholno fermentacijo in posledično rastno krivuljo lahko razdelimo na štiri faze rasti, glede na število kvasovk, to so lag faza ali faza prilagajanja, sledi ji log faza ali faza razmnoževanja, stacionarna faza in faza odmrtja.

V lag fazi je število celic 10^5 – 10^6 CFU/mL, v fazi razmnoževanja pa njihova koncentracija naraste tudi do 10^8 CFU/mL. V stacionarni fazi se število kvasovk ne spremeni, medtem ko se v fazi odmrtja, ko se zmanjša količina hranil in s tem število kvasovk, njihovo število zniža do 10^5 CFU/mL (Bavčar, 2009).

Skupno število kvasovk v vzorcih smo določili štirikrat, in sicer takoj po zastavitvi fermentacijskega poskusa, po 24 urah oziroma po prenosu vrelnih steklenic v hladilno celico, po zaključenem prvem tednu fermentacije ter po zaključeni alkoholni fermentaciji.



Slika 29: Skupno število kvasovk (CFU* 10^6 /mL) v vzorcih mladega vina v različnih časovnih obdobjih alkoholne fermentacije

Ob inokulaciji vzorcev mošta s tremi različnimi sevi kvasovk lahko iz slike 29 opazimo, da je bila v vzorcih 7, 8 in 9 koncentracija kvasovk največja, sledijo vzorci 1, 2 in 3 ter vzorci 4, 5 in 6.

Po prvem dnevu fermentacije lahko opazimo zmanjšanje koncentracije kvasovk v zadnjih treh vzorcih ter njihovo delno povečanje v ostalih vzorcih. Pri kontroli je razvidno, da fermentacija še ni začela potekati.

Po petih dneh poteka fermentacije je sledila očitna faza razmnoževanja kvasnih celic, saj se je njihovo število izredno povečalo, predvsem v vzorcih od 1 do 6. Število kvasovk v zadnjih treh vzorcih se od prvih 24 ur poteka fermentacije ni bistveno spremenilo. Pri kontroli je opazen začetek fermentacije.

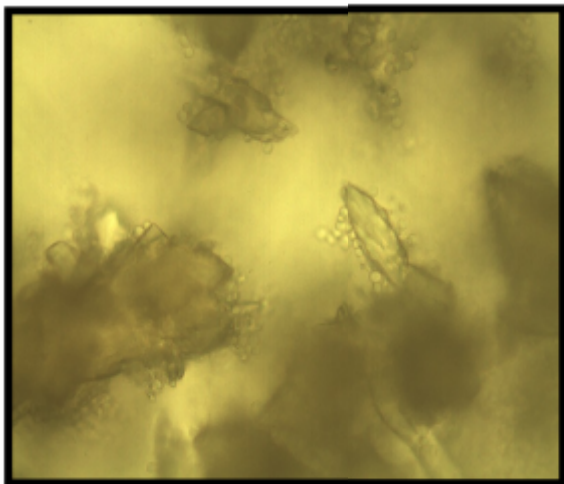
Po zaključeni alkoholni fermentaciji se je število kvasovk vidno zmanjšalo pri vseh vzorcih.

4.4.2 Mikroskopiranje usedline vina

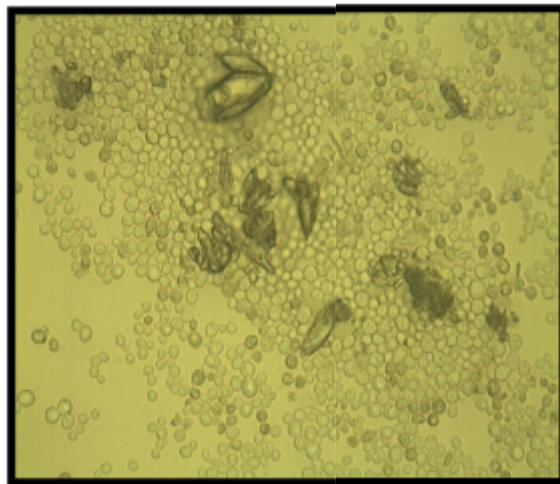
V mladem vinu po končani alkoholni fermentaciji je vidna zelo fina usedlina, v kateri pod mikroskopom lahko opazimo sledi kvasovk, mlečnokislinskih bakterij (oblika daljše verižice) in kristale vinskega kamna (kalijev hidrogentartrat) (Košmerl, 2007a).

Po zaključeni alkoholni fermentaciji in opravljenih fizikalno-kemijskih ter mikrobioloških analizah smo naredili še mikroskopske posnetke usedlin mladega vina pri 400-kratni povečavi.

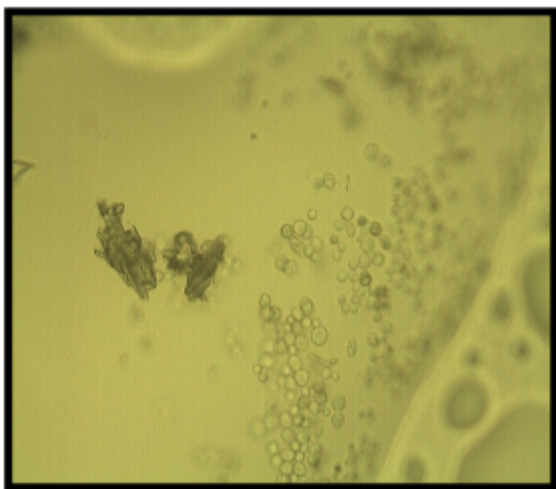
V spodnjih slikah so prikazani posnetki vseh vzorcev vina.



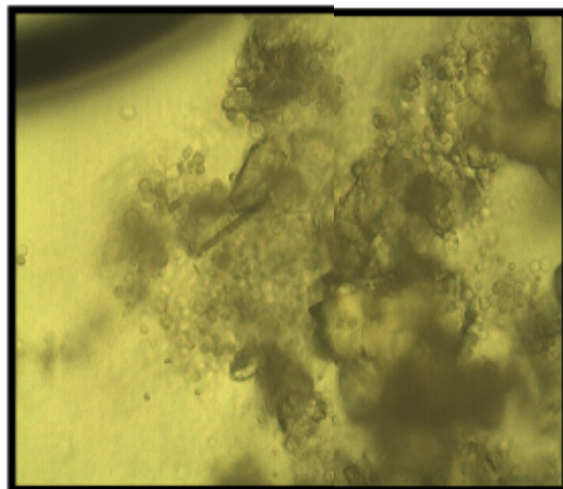
Slika 30: Mikroskopski posnetek usedline kontrole 400-kratni povečavi



Slika 31: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 1 pri 400-kratni povečavi

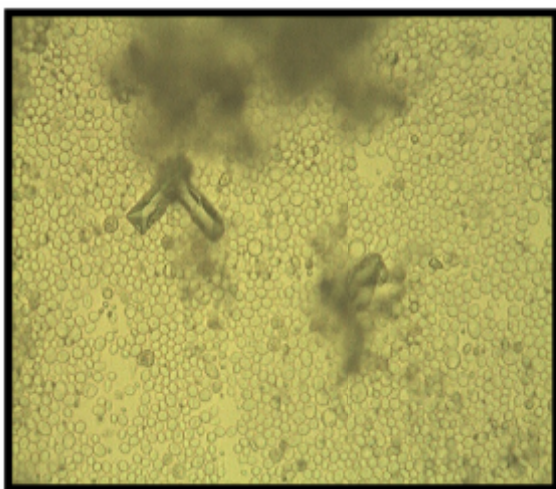


Slika 32: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 2 pri 400-kratni povečavi

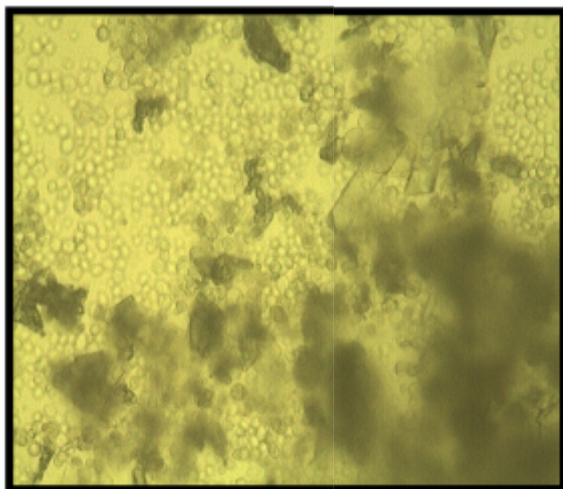


Slika 33: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 3 pri 400-kratni povečavi

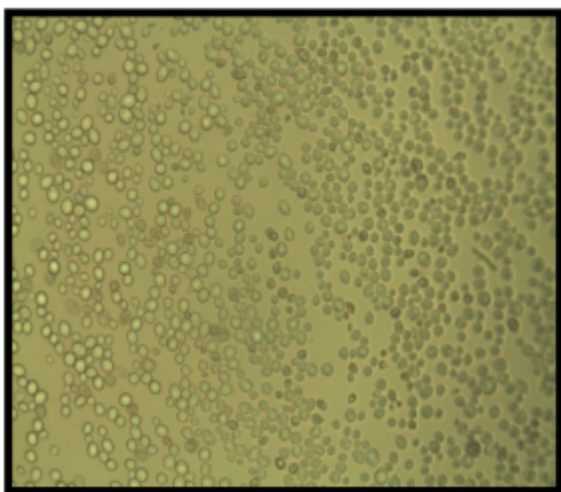
Iz slike 30 lahko opazimo manjšo populacijo skupkov kvasnih celic, ki obkrožajo večje količine kristalov vinskega kamna (temne lise na sliki). Na slikah 31 in 32 lahko opazimo večjo združbo kvasnih droži. Kvasovke so limonaste (elipsoidne) oblike in pri določenih je opazno brstenje. Preparati vsebujejo nekoliko manjše kristale vinskega kamna, medtem ko jih je na sliki 33 mnogo več.



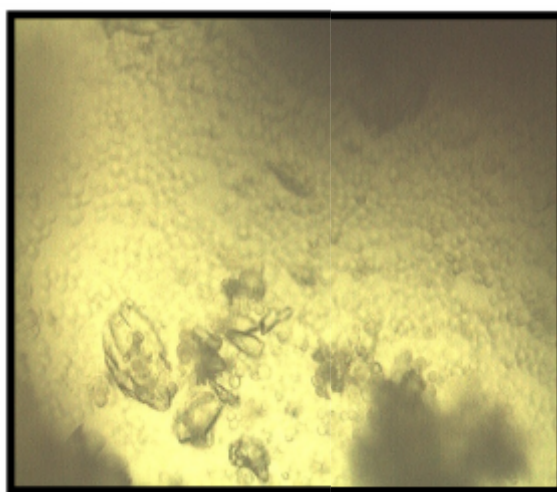
Slika 34: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 4 pri 400-kratni povečavi



Slika 35: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 5 pri 400-kratni povečavi

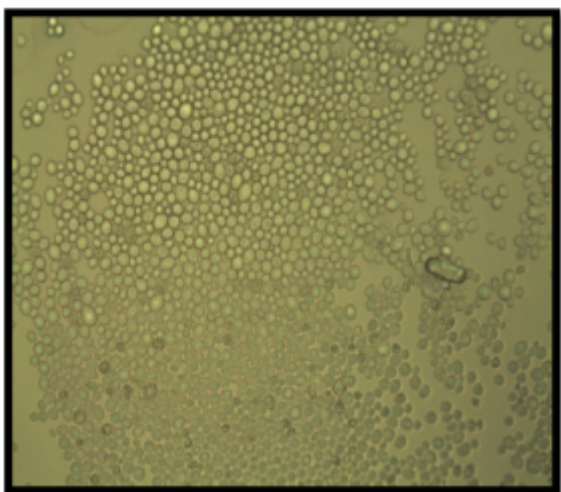


Slika 36: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 6 pri 400-kratni povečavi

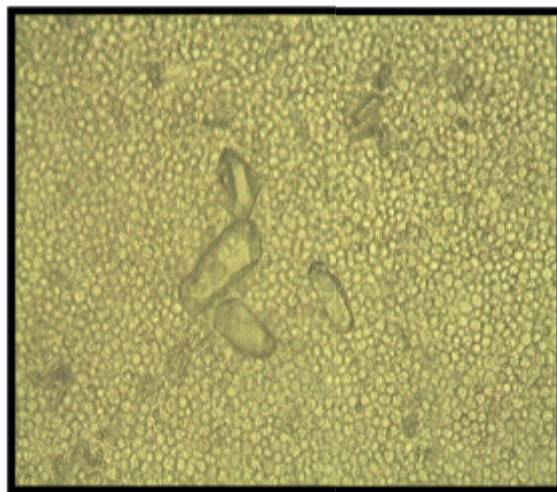


Slika 37: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 7 pri 400-kratni povečavi

Na slikah 34, 35 in 36 je vidna številčna populacija kvasnih celic in manjše količine kristalov vinskega kamna. Kvasne celice so okrogle in limonaste oblike, kar je najbolj razvidno na sliki 34. Slika 36 je nekoliko motna zaradi velike populacije kvasnih celic v nasprotju s sliko 35, ki vsebuje večje količine vinskega kamna, ki je tudi po velikosti večji in je onemogočal izostritev številnih kvasnih celic v ozadju.



Slika 38: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 8 pri 400-kratni povečavi



Slika 39: Mikroskopski posnetek usedline vzorca 9 pri 400-kratni povečavi

Iz slik 37, 38 in 39 je razvidna čista kultura kvasnih celic, le v sredini slike 39 so opazni manjši kristali vinskega kamna. Združba kvasovk na sliki 39 je izjemno gosta, kvasovke se med seboj prekrivajo, tako, da ni mogoče razbrati njihove oblike ali brstenja. Iz slik 37 in 38 lahko opazimo kvasne celice limonaste, okrogle in elipsoidne oblike, celice so neaktivne.

4.5 REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE MLADEGA VINA

4.5.1 Deskriptivna analiza po lastni presoji

Po zaključeni alkoholni fermentaciji in fizikalno-kemijskih analizah smo vzorce mladega vina še senzorično ocenili z metodo deskriptivne analize po lastni presoji.

Kontrola

Kontrola je bila izjemno motna in rjave barve. V vonju je bila zaznavna intenzivna aldehydna nota, vino je imelo vonj po naribanih jabolkah, kar je tipičen vonj oksidacije. V okusu pa je bila sadna, kar je delno razkrilo sortnost. Fermentacijska aroma je bila dokaj intenzivna in začutil se je preostanek sladkorja, saj vzorec ni dokončno fermentiral.

Vzorec 1

Vzorec 1 je bil nekoliko moten, vendar bolj bister od kontrole, tudi v barvi je bil svetlejši z zlatimi odtenki. V vonju je bil aldehyden, hlapne kisline pa niso bile prisotne. Vino ni vsebovalo preostankov reducirajočih sladkorjev.

Vzorec 2

Vzorec 2 je bil prav tako moten kot vzorec 1. V vonju je bilo poleg aldehydne note moč zaznati rahlo merkaptansko noto. Tudi v okusu je bil vzorec rahlo nečist.

Vzorec 3

Vzorec 3 je bil ravno tako moten kot prejšnja dva vzorca. V okusu je vseboval še nekaj reducirajočih sladkorjev, torej pri zaključeni alkoholni fermentaciji ni povrel do konca vseh sladkorjev. Poleg tega je bil poln v okusu in vseboval je rahlo merkaptansko noto.

Vzorec 4

Vzorec 4 je bil manj moten, v barvi bolj zlat in bolj bister od prejšnjih vzorcev. V vonju je bil manj aldehyden in v okusu bolj poln.

Vzorec 5

Vzorec 5 je izredno podoben vzorcu 4. V vzorcu je bila prisotna rahla oksidativna nota, medtem ko je bil v okusu dokaj sprejemljiv.

Vzorec 6

Vzorec 6 je bil ravno tako moten kot vzorca 4 in 5. V vonju je bil rahlo oksidativen. V okusu je bil poln, občutila se je najboljša sortnost in polnost. Vzorec ni bil ne trpek ne grenek.

Vzorec 7

Vzorec 7 je bil najbolj moten, sicer pa v barvi nekoliko svetlejši z zlatimi odtenki. V vonju je bil manj oksidativen od vzorcev 1, 2 in 3. V okusu je bila intenzivno zaznavna bananina in tropska aroma, vseboval je največjo količino preostanka reducirajočih sladkorjev.

Vzorec 8

Vzorec 8 je bil prav tako moten kot vzorec 7. V vonju je bil bolj oksidativen in v okusu bolj povret kot vzorec 7.

Vzorec 9

Vzorec 9 je bil nekoliko manj moten od vzorcev 7 in 8. V vonju je bil rahlo oksidativen, medtem ko je bil v okusu zadovoljiv, občutila se je intenzivna bananina in tropska aroma.

5 SKLEPI

Z diplomsko nalogo smo poskušali ugotoviti, kako različni sevi selekcioniranih kvasovk vplivajo na potek alkoholne fermentacije in na kakovost mladega vina.

Na podlagi opravljene preiskave smo prišli do naslednjih sklepov:

- Starterska kultura v vzorcih 1, 2 in 3 je imela najboljše fermentacijske sposobnosti pri danih razmerah alkoholne fermentacije.
- Starterska kultura v vzorcih 7, 8 in 9 je imela najšibkejše fermentacijske sposobnosti v slednjih razmerah alkoholne fermentacije.
- Vrednost pH v vzorcih od 1 do 6 je večja od pH mošta (3,6), v ostalih vzorcih je pH nižji in spada v pričakovana območja (manj od 3,6).
- Koncentracija skupnih kislin vseh vzorcev mladega vina je v pričakovanem območju za sorto malvazija (5–8 g/L). Vzorci 7, 8 in 9 imajo nekoliko večje koncentracije skupnih kislin, kar je v skladu z nižjo vrednostjo pH.
- Vrednosti relativne gostote so bile večje od običajne vrednosti (blizu 1) v kontroli in vzorcih 7, 8 in 9. Ostali vzorci so imeli običajne vrednosti.
- Kontrola in vzorci 7, 8 in 9 so ekstraktno bolj bogati kot preostali vzorci. Koncentracija sladkorja prostega ekstrakta v vzorcih 7, 8 in 9 presega običajne vrednosti (7–30 g/L).
- Največjo koncentracijo alkohola je tvoril sev kvasovke v vzorcih 1, 2 in 3 (okoli 11 vol.%), najmanjšo količino pa sev kvasovke v vzorcih 7, 8 in 9. Kontrola je nasploh vsebovala najmanjšo koncentracijo alkohola.
- Največjo koncentracijo nepovretega sladkorja je vsebovala kontrola (nad 90 g/L) in vzorci 7, 8 in 9 (13–15 g/L). Najmanjšo koncentracijo reducirajočih sladkorjev so imeli vzorci 1, 2 in 3, ki so prevreli večino sladkorjev.
- Koncentracija hlapnih kislin je v vseh vzorcih v pričakovanem območju (pod 1 g/L), vzorec 3 je vseboval največjo vsebnost kislin (0,84 g/L).
- Koncentracija skupnih fenolnih spojin je bila primerljiva v vseh vzorcih, le nekoliko povečana je bila v vzorcih 7, 8 in 9, tudi na račun večje vsebnosti reducirajočih sladkorjev, ki reagirajo s Folin-Ciocalteu reagentom. Koncentracija v vseh vzorcih je bila v predvidenih območjih (150–400 mg/L).
- Intenziteta barve je bila največja pri kontroli (1,289) in vzorcih 7, 8 in 9. Intenziteta ostalih vzorcev se je gibala med 0,300 do 0,700.
- Motnost se je v vzorcih mladih vin izredno razlikovala. Vzorec 7 je imel največjo motnost (110 NTU), sledili so mu kontrola ter vzorci 1, 2, 3, 8 in 9. Najmanjšo motnost so imeli vzorci 4, 5 in 6 (30–40 NTU).
- Fermentacijska učinkovitost je bila največja v vzorcih 7, 8 in 9 (17-18 g/L.vol.%), najmanjša pa je bila v kontroli in vzorcih 1, 2 in 3 (15-16 g/L.vol.%).
- Koncentracija acetaldehida je bila največja v kontroli (72,98 mg/L), sicer pod pragom zaznave, vendar smo ga senzorično vseeno zaznali. Acetaldehid je še nekoliko povečan v vzorcih 5, 6 in 7. Koncentracija etil acetata je med posameznimi sevi kvasovk primerljiva in nekoliko povečana v vzorcih 1, 2 in 3. V koncentracijah metanola in izoamil acetata se vzorci med sabo niso bistveno razlikovali.

- Vsebnost višjih alkoholov 1-propanola je bila nekoliko povečana v vzorcih 4, 5 in 6, medtem ko imajo nekoliko manjšo vsebnost izobutanola, glede na ostale vzorce. Izoamilalkohol je povečan v vzorcih 7, 8 in 9, prav tako tudi 2-feniletanol.
- V fazi prilaganja so imeli vzorci 7, 8 in 9 največje skupno število kvasovk, ki pa se je v nadaljnjem poteku fermentacije intenzivno znižalo. V fazi eksponentne rasti je vzorec 4 vseboval največjo količino kvasovk, poleg vzorcev 1, 2, 3, 5 in 6. Po zaključeni fermentaciji je bilo število kvasovk primerljivo pri vseh vzorcih.
- Z različnimi sevi kvasovk smo iz istega mošta pridelali senzorično med seboj zelo različna vina. Vina so se predvsem razlikovala v motnosti, vsebnosti hlapnih spojin in sadnosti.
- Kvasovke v vzorcih 4, 5 in 6 so s senzoričnega vidika pridelale najboljše mlado vino.

6 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti vpliv različnih sevov selekcioniranih kvasovk na potek alkoholne fermentacije in na končno izoblikovanje kakovostnih parametrov vina.

Za izvedbo poskusa smo uporabili mošt sorte malvazija letnika 2007. Mošt smo razdelili v steklene fermentorje (po 500 mL) in vzorce inokulirali s tremi različnimi selekcioniranimi sevi kvasovk, na takšen način, da smo vsak posamezen sev kvasovke dodali v tri vzorce mošta in tako dobili po tri paralelke za vsak sev. Alkoholna fermentacija je potekala pri temperaturi 17-18 °C.

Med samim potekom alkoholne fermentacije smo spremljali poleg temperature tudi količino in kinetiko oddanega CO₂ v vsakem vzorcu.

Po zaključeni alkoholni fermentaciji smo opravili fizikalno-kemijske, mikrobiološke in senzorične analize mladega vina. Iz dobljenih rezultatov smo lahko ugotovili, da različni sevi kvasovk značilno vplivajo na kakovost mladega vina.

Kontrolo je predstavljal vzorec, v katerega nismo dodali selekcioniranega seva kvasovk. Alkoholna fermentacija je torej potekala z avtohtono mikrofloro. Zaradi tega je fermentacija potekla počasneje in ob njenem zaključku kvasovke še niso povrele vseh sladkorjev, kar je bilo razvidno tudi v majhni koncentraciji alkohola. Kontrola je bila motna in je imela rjave odtenke barve. Kljub nedokončani fermentaciji je bila koncentracija acetaldehida že velika in tudi senzorično zaznavna. Koncentracija višjih alkoholov je bila majhna.

Sev kvasovk, prisotnih v vzorci 1, 2 in 3, je imel najboljše fermentacijske lastnosti. Sama fermentacija je potekla hitro, vendar ne burno. Vzorci so imeli najmanjšo koncentracijo reducirajočih sladkorjev in največjo koncentracijo alkohola, kar pomeni, da je fermentacija potekla do konca. Kljub temu so imeli vzorci najslabšo fermentacijsko učinkovitost. Vzorci so bili ekstraktno manj bogati in imeli so najmanjšo vrednost relativne gostote. Imeli so največjo koncentracijo hlapnih kislin.

Kljub zaključeni fermentaciji so bili vzorci motni in zlate barve ter so vsebovali najmanjšo koncentracijo skupnih fenolnih spojin. Vzorci so vsebovali najmanjšo koncentracijo acetaldehida in največjo etil acetata, ki pa senzorično ni bil zaznaven. Mlado vino vzorcev je bilo polno in intenzivnega okusa. Od višjih alkohol so vzorci imeli največjo koncentracijo izobutanola in najmanjšo 2-feniletanola.

Sev kvasovk prisotnih v vzorcih 4, 5 in 6 je imel tudi zelo dobre fermentacijske lastnosti, vendar so kvasovke nekoliko počasneje fermentirale sladkorje glede na prvi sev, saj so po zaključeni fermentaciji vzorci vsebovali nekoliko večjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev in posledično nekoliko manjšo vsebnost alkohola. Fermentacijska učinkovitost je tudi tukaj bila nekoliko slabša. Vzorci so vsebovali najvišjo vrednost pH in najmanjšo koncentracijo skupnih kislin, kar je posledica dobre prilagojenosti kvasovk na fermentacijske razmere. Vzorci so bili najmanj motni, tudi barva je bila najmanj intenzivna (najnižja absorbanca) in bila je svetlo zlate barve. Vsebnost acetaldehida je bila po kontroli največja, imeli so pa najmanjšo koncentracijo izoamil acetata. Vzorci so vsebovali največjo

koncentracijo 1-propanola in najmanjšo izobutanola ter izoamilalkohola, koncentracija 2-feniletanola je bila nekoliko povečana.

Senzorično je bila oksidacija rahlo zaznavna, vzorci niso bili trpki ali grenki, zaradi njihove polnosti so bili senzorično najboljše ocenjeni.

Sev kvasovk, prisotnih v vzorcih 7, 8 in 9, je najbolj izstopal, saj je imelo pridelano mlado vino značilno različne fizikalno-kemijske, mikrobiološke in posledično senzorične parametre, kar pa je predvsem posledica nedokončane alkoholne fermentacije. Vzorci so začeli takoj po inokulaciji, torej prej kot vsi ostali vzorci, burno fermentirati. Po izredno burnem začetku pa se je hitrost fermentacije upočasnila. Vsi trije vzorci, vendar predvsem vzorec 7, so imeli največji preostanek sladkorja in posledično najmanjšo koncentracijo alkohola. Fermentacijska učinkovitost pa je bila v primerjavi z ostalimi vzorci najboljša. Vsebovali so najnižjo vrednost pH, največjo vsebnost skupnih kislin in najmanjšo koncentracijo hlapnih kislin, kar je posledica nadaljnje neprilagojenosti kvasovk na razmere alkoholne fermentacije. Vzorci so bili ekstraktno najbolj bogati, imeli so tudi največje vrednosti relativne gostote. Vzorci so bili najbolj motni z največjo izmerjeno intenziteto barve in največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin.

Tekom alkoholne fermentacije se je v vzorcih tvorila manjša količina acetaldehida in etil acetata, največja količina pa metanola in izoamil acetata. Od višjih alkohol so vsebovali najmanj 1-propanola, največ izobutanola, izoamilalkohola in 2-feniletanola. Vsebnost hlapnih spojin je bilo tudi senzorično zaznavna, saj vzorci so bili malo oksidirani z izredno intenzivno bananino in tropsko aromo.

Z dodatkom treh različnih sevov selekcioniranih kvasovk v mošt smo kot po pričakovanjih dobili zelo različne rezultate pri kinetiki alkoholne fermentacije, pri fizikalno-kemijskih, mikrobioloških in senzoričnih analizah ter pri nastanku hlapnih spojin in višjih alkoholov, saj delež nastalih aromatičnih spojin v vinu ustreza.

Iz sledečih rezultatov lahko sprejememo postavljene hipoteze.

Uporaba različnih sevov kvasovk, vseh primerno selekcioniranih za bela vina, nam je omogočilo spoznati njihov različen vpliv na pridelavo mladega vina. Spoznanje vpliva različnih sevov je lahko izjemnega pomena ljubiteljem in pridelovalcem vina, saj le s primerno izbiro seva lahko pridobimo vino po našem okusu.

7 VIRI

- Adamič J., Smole Možina S., Jeršek B. 2003. Vloga in pomen mikroorganizmov v živilih in taksonomija. V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Smole Možina S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1–45
- Amerine M. A., Ough C. S. 1988. Methods for analyses of must and wines. New York, John Wiley & Sons: 377 str.
- Bavčar D. 2009. Kletarjenje danes. 2. izd. Ljubljana, ČZD Kmečki glas d.o.o.: 295 str.
- Berovič M., Pivec A., Košmerl T., Wondra M., Čelan Š. 2007. Influence of heat shock on glycerol production in alcohol fermentation. Journal of Bioscience and Bioengineering, 103, 2: 135–139
- Bizaj E. 2004. Seminarska naloga pri predmetu Biotehnologija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 7–9
- Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, Chapman & Hall: 102–192
- Boyer R. 2005. Temelji biokemije. 2. izd. Ljubljana, Knjižna zbirka Scripta: 179–205
- O.I.V. 2006. Compendium of international methods of wine and must analysis. Vol.1. Paris, O.I.V. – International Organisation of Vine and Wine: 78–84
- Fleet G.H., Heard G.M. 1992. Yeasts: Growth during fermentation. V: Wine microbiology and biotechnology. Fleet G.H. (ed.). Camberwell, Harwood Academic Publishers: 27–54
- Golob T., Bertoncelj J., Doberšek U., Jamnik M. 2006. Senzorična analiza živil. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 81 str.
- Henick-Kling T. 1992. Malolatic fermentation. V: Wine microbiology and biotechnology. Fleet G. H. (ed.). Camberwell, Harwood Academic Publisher: 289–326
- Henschke P.A., Jiranek V. 1992. Yeasts: Metabolism of nitrogen compounds. V: Wine microbiology and biotechnology. Fleet G.H. (ed.). Camberwell, Harwood Academic Publishers: 77–164
- Hrček L., Korošec-Koruza Z. 1996. Sorte in podlage vinske trte: ilustrirani prikaz trsnega izbora za Slovenijo. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas, d.d.: 79–81
- Jackson R.S. 2008. Wine science: Principles and applications. 3rd ed. Amsterdam, Academic Press: 751 str.

- Klenar I. 2002. Ali lahko starterske kulture kvasovk pripomorejo h kakovostni fermentaciji? V: Pomen mikrobiologije in biotehnologije v proizvodnji vina. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 21–29
- Košmerl T., Kordiš-Krapež M. 1997. Aromatične snovi v vinu. V: Tehnologija, hrana, zdravje. Knjiga del. 1. Slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo, Bled, 21.–25. april 1996. Vol. II. Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 877–887
- Košmerl T. 2002. Metabolizem dušikovih spojin in vzroki za upočasnitev ali zaustavitev alkoholne fermentacije. V: Vinarski dan. Ljubljana, 16. april 2002. Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 34–52
- Košmerl T. 2003. Pomen hranilnih snovi za optimalen potek alkoholne fermentacije in jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. V: Vinarski dan. Ljubljana, 12. junij 2003. Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 13–35
- Košmerl T. 2007a. Alkoholna fermentacija mošta: izbrana poglavja pri predmetu Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 95 str.
- Košmerl T. 2007b. Senzorične lastnosti mošta in vina: študijsko gradivo za pokuševalce vina, mošta in drugih proizvodov iz grozdja in vina. 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 60 str.
- 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., Wondra M. 2007. Senzorično in kemijsko ovrednotenje bistrosti vina. V: Vinarski dan. Ljubljana, 6. junij 2007. Čuš F. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 5–14
- Lallemant. 2010. Selekcionirano iz narave. Maribor, Jurana d.o.o.: 12 str.
- Lambrechts M. G., Pretorius I.S. 2000. Yeast and its importance to wine aroma: A review. South African Journal of Enology and Viticulture, 21, Special Issue: 97–129
- Navodilo o fizikalnokemijskih analizah mošta in vina. 2001. Uradni list Republike Slovenije. 11, 43: 4788–4806
- Nemanič J. 1999. Spoznajmo vino: vinske arome v sortah in zvrste, degustacija in ocenjevanje, vino in hrana. Dopolnjena izdaja. Ljubljana, Kmečki glas: 200 str.
- Plahuta P., Korošec-Koruza Z. 2009. 2 x sto vinskih trt na Slovenskem. 1. izd. Ljubljana, Prešernova družba d.d.: 145–145

- Povhe Jemec K., Čadež N., Zagorc T., Bubić V., Župec A., Raspor P. 2002. Dinamika populacije kvasovk med spontano fermentacijo mošta sorte 'malvazija'. V: Pomen mikrobiologije in biotehnologije v proizvodnji vina. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 101–109
- 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
- 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
- Prosen H., Strlič M., Rusjan D., Košmerl T., 2007. Aroma grozdja in vina-razvoj kemijske analitike za kontrolo kvalitete. V: Vinarski dan. Ljubljana, 6. junij 2007. Čuš F. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 75–84
- Raspor P. 1996. Kvasovke. V: Biotehnologija: osnovna znanja. Raspor P. (ur.). Ljubljana, BIA, d.o.o.: 69–93
- Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donéche B., Lonvaud A. 2000a. Handbook of enology. Vol. 1. The microbiology of wine and vinifications. 2nd ed. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd.: 1–79
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2000b. Handbook of enology. Vol. 2. The chemistry of wine stabilization and treatments. 2nd ed. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd.: 4–269
- Seager S.L., Slabaugh M.R. 2011. Chemistry for today: General, organic, and biochemistry. 7th ed. Belmont, Brooks/Cole-Cengage Learning: 696–717
- Smole Možina S. 2003. Metode mikrobiološke preiskave živil. V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Smole Možina S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 87–113
- Smole Možina S. 2000. Eksperimentalne vaje iz živilske mikrobiologije. Splošna mikrobiološka tehnika: Skripta in delovni zvezek za študente I. letnika živilstva. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 28 str.
- Swiegers J.H., Bartowsky E.J., Henschke P.A., Pretorius I.S. 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. Australian Journal of Grape and Wine Research, 11: 139–173
- Škofca M. 2008. Parametri kakovosti vina sorte modra frankinja vinorodne dežele Posavje. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 83 str.

Šikovec S. 1987. Za vsakogar nekaj o vinu. Ljubljana, ČZP, Kmečki glas: 204 str.

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

Šikovec S. 1996. Vino pijača doživetja. Ljubljana, ČZP, Kmečki glas: 76–321

Vinistra. 2011. Malvazija istarska. Poreč, Vinistra: people and wine: 1 str.

<http://vinistra.com/wines/malvazija-istarska> (september 2011)

Vršič S., Lešnik M. 2005. Vinogradništvo. 2. natis. Ljubljana, Kmečki glas: 60–69

Wondra M. 2008. Tehnologije pridelave vin v povezavi s senzoriko. Zapiski s predavanj pri predmetu Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo.

ZAHVALA

V prvi vrsti bi se rada zahvalila mentorici prof. dr. Tatjani Košmerl, za njeno pomoč, svetovanje, podporo in potrpežljivost pri nastajanju diplomske naloge.

Zahvaljujem se recenzentu prof. dr. Rajku Vidrihu za pregled diplomskega dela.

Za pomoč in potrpežljivost pri laboratorijskem delu se zahvaljujem Zdenki Zupančič.

Za tehnično in strokovno pomoč se zahvaljujem doc. dr. Mojmirju Wondra.

Hvala ge. Lini Burkan in Barbari Slemenik za prijaznost in pomoč pri iskanju literature in strokovnega pregleda navedenih virov.

Iskreno se zahvaljujem mami in očetu, ker sta mi omogočila študij in me stalno podpirala. Hvala tudi sestri Viti, ki tudi v težkih časih mi je stala ob strani.

Posebna zahvala gre še Primožu, ki me je vedno podpiral v boljših in slabših trenutkih, ter Kim, Tanji in Lenki za moralno podporo.

PRILOGE

Priloga A: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji v kontroli

Parameter	Enota	Vrednost/koncentracija v kontroli
pH	/	3,59±0,00
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	5,33±0,01
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	5,72±0,10
relativna gostota	/	1,03779±0,00030
skupne ekstrakt	g/L	119,44±0,54
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	24,94±0,54
alkohol	vol. %	5,53±0,50
reducirajoči sladkorji	g/L	94,5±0,0
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,51±0,01
skupne fenolne spojine	mg galne kisline/L	321±0
barva	/	1,289±0,010
motnost	NTU	92,2±0,1
fermentacijska učinkovitost	g/L.vol. %	15,87

Priloga B: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s selekcionirano kvasovko VIN 7

Parameter	Enota	Vrednost/koncentracija v vzorcih		
		1	2	3
pH	/	3,66±0,00	3,66±0,00	3,65±0,00
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	5,52±0,10	5,47±0,00	5,47±0,03
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	5,85±0,10	5,79±0,01	5,79±0,02
relativna gostota	/	0,99647±0,00010	0,99651±0,00004	0,99739±0,00003
skupne ekstrakt	g/L	28,90±0,08	28,96±0,22	30,87±0,02
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	18,33±0,20	20,83±0,40	21,57±0,02
alkohol	vol. %	11,01±0,02	10,99±0,04	10,87±0,03
reducirajoči sladkorji	g/L	10,58±0,10	8,13±0,20	9,30±0,00
hlapne kisline	g ocetne kisline/L	0,78±0,01	0,83±0,03	0,84±0,01
skupne fenolne spojine	mg galne kisline/L	286±0	284±1	304±16
barva	/	0,731±0,000	0,621±0,002	0,644±0,001
motnost	NTU	92,2±0,1	82,6±0,3	81,9±0,1
fermentacijska učinkovitost	g/L.vol. %	15,59	15,84	15,91

Priloga C: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s selekcionirano kvasovko QA 23

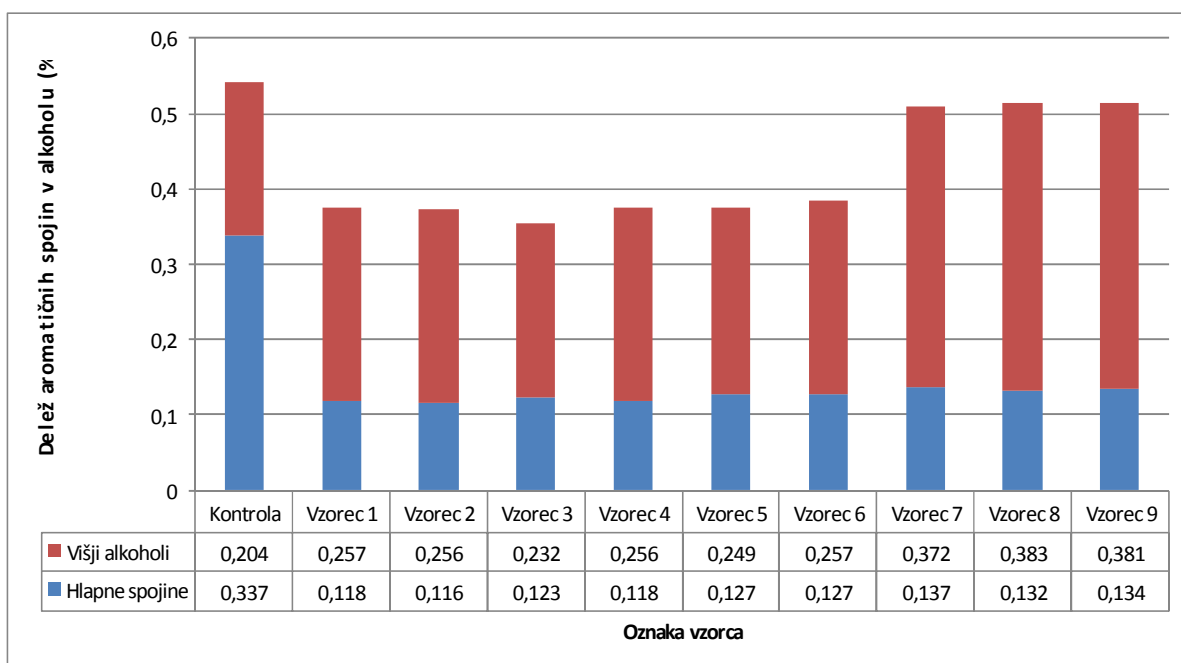
Parameter	Enota	Vrednost/koncentracija v vzorcih		
		4	5	6
pH	/	3,68±0,00	3,68±0,00	3,67±0,00
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	5,15±0,01	5,22±0,01	5,29±0,02
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	5,45±0,01	5,52±0,01	5,58±0,04
relativna gostota	/	0,99891±0,00010	0,99894±0,00003	0,99839±0,00010
skupne ekstrakt	g/L	34,19±0,04	34,02±0,10	32,79±0,40
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	22,69±0,10	22,40±0,15	22,47±0,40
alkohol	vol. %	10,67±0,02	10,58±0,02	10,64±0,10
reducirajoči sladkorji	g/L	11,50±0,10	11,63±0,04	10,33±0,04
hlapne kisline	g ocetne kisline/L	0,63±0,04	0,75±0,02	0,73±0,01
skupne fenolne spojine	mg galne kisline/L	291±4	290±4	289±8
barva	/	0,351±0,002	0,376±0,001	0,363±0,00
motnost	NTU	36,5±1,4	41,6±3,7	29,8±2,3
fermentacijska učinkovitost	g/L.vol. %	16,00	16,13	16,16

Priloga D: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s selekcionirano kvasovko SIMI WHITE

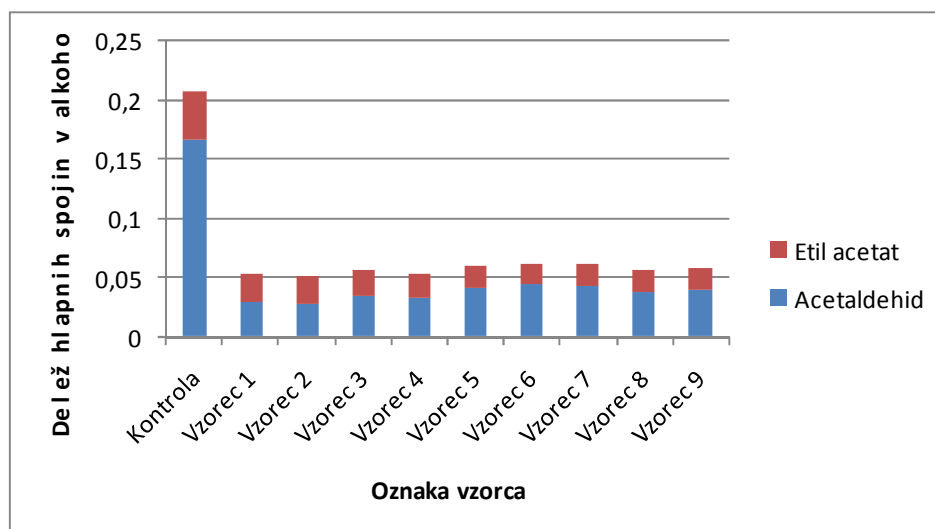
Parameter	Enota	Vrednost/koncentracija v vzorcih		
		7	8	9
pH	/	3,57±0,00	3,58±0,00	3,57±0,00
titrabilne kisline (pH=7,0)	g vinske kisline/L	5,76±0,02	5,53±0,00	5,76±0,04
skupne kisline (pH=8,2)	g vinske kisline/L	6,03±0,01	5,81±0,01	6,06±0,05
relativna gostota	/	1,00637±0,00020	1,00790±0,00004	1,00768±0,00002
skupne ekstrakt	g/L	50,57±0,06	53,50±0,10	53,03±0,20
sladkorja prosti ekstrakt	g/L	37,07±0,06	38,52±0,03	38,18±0,24
alkohol	vol. %	9,72±0,00	9,41±0,02	9,44±0,02
reducirajoči sladkorji	g/L	13,50±0,00	14,98±0,10	14,85±0,10
hlapne kisline	g očetne kisline/L	0,37±0,01	0,39±0,00	0,38±0,01
skupne fenolne spojine	mg galne kisline/L	326±2	329±10	322±0
barva	/	1,290±0,004	1,006±0,003	0,873±0,001
motnost	NTU	110±1,4	109,5±0,7	88,5±0,4
fermentacijska učinkovitost	g/L.vol. %	17,36	17,78	17,73

Priloga E: Rezultati hlapnih spojin in višjih alkoholov v mladem vinu sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selekcioniranih kvasovk

Spojina (mg/L)	Oznaka vzorca									
	kontrola	1	2	3	4	5	6	7	8	9
acetaldehid	73,00	25,45	23,88	28,75	27,67	34,21	36,54	32,15	27,85	28,60
etil acetat	17,38	19,95	19,92	19,95	16,13	16,01	15,05	14,81	14,14	14,24
metanol	55,73	56,10	55,88	55,76	55,36	55,20	54,66	56,96	55,16	56,01
izoamil acetat	0,89	0,69	0,74	0,65	0,54	0,51	0,43	0,80	0,85	0,87
1-propanol	10,81	13,56	13,33	14,30	20,20	20,23	20,02	12,64	11,84	11,80
izobutanol	7,69	16,61	16,77	16,31	10,95	10,52	11,08	17,06	16,45	16,29
izoamilalkohol	64,71	181,64	180,94	160,12	170,74	165,07	172,68	237,60	238,99	238,19
2-feniletanol	5,67	11,18	11,42	8,65	13,45	11,79	12,03	18,23	16,86	17,73



Priloga F: Delež aromatičnih spojin (%) v alkoholu mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selecioniranih kvasovk



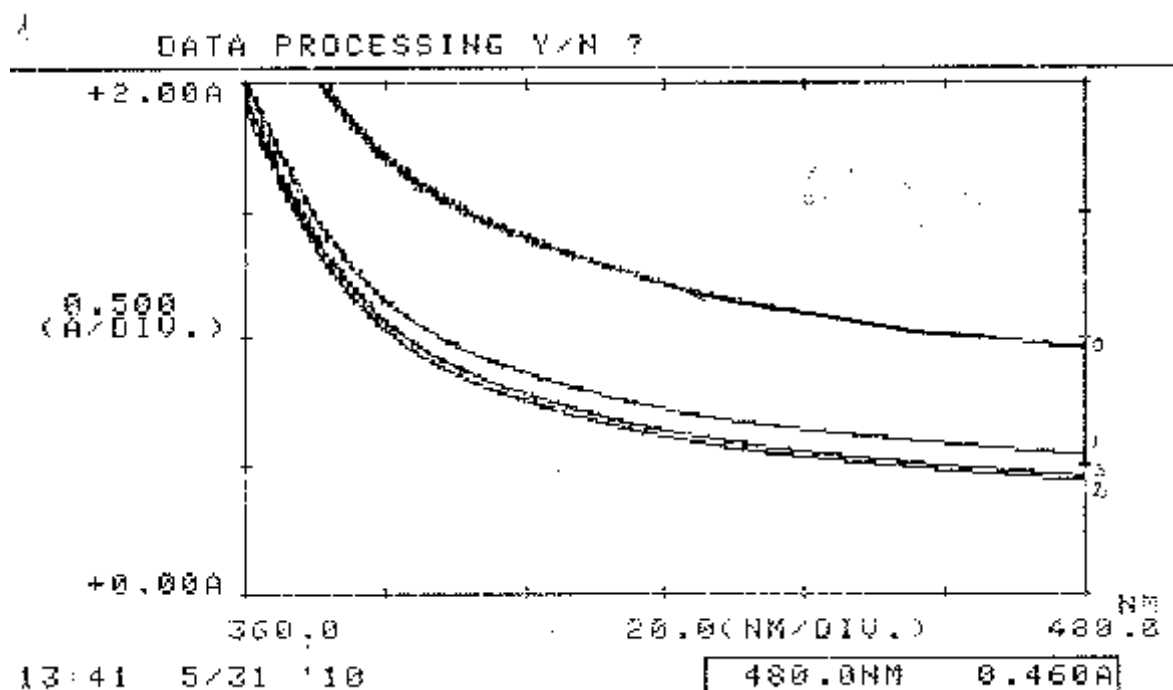
Priloga G: Delež hlapnih spojin (%) v alkoholu mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selecioniranih kvasovk

Priloga H: Delež hlapnih spojin in višjih alkoholov (%) v alkoholu mladega vina sorte malvazija po zaključeni alkoholni fermentaciji s tremi različnimi sevi selecioniranih kvasovk

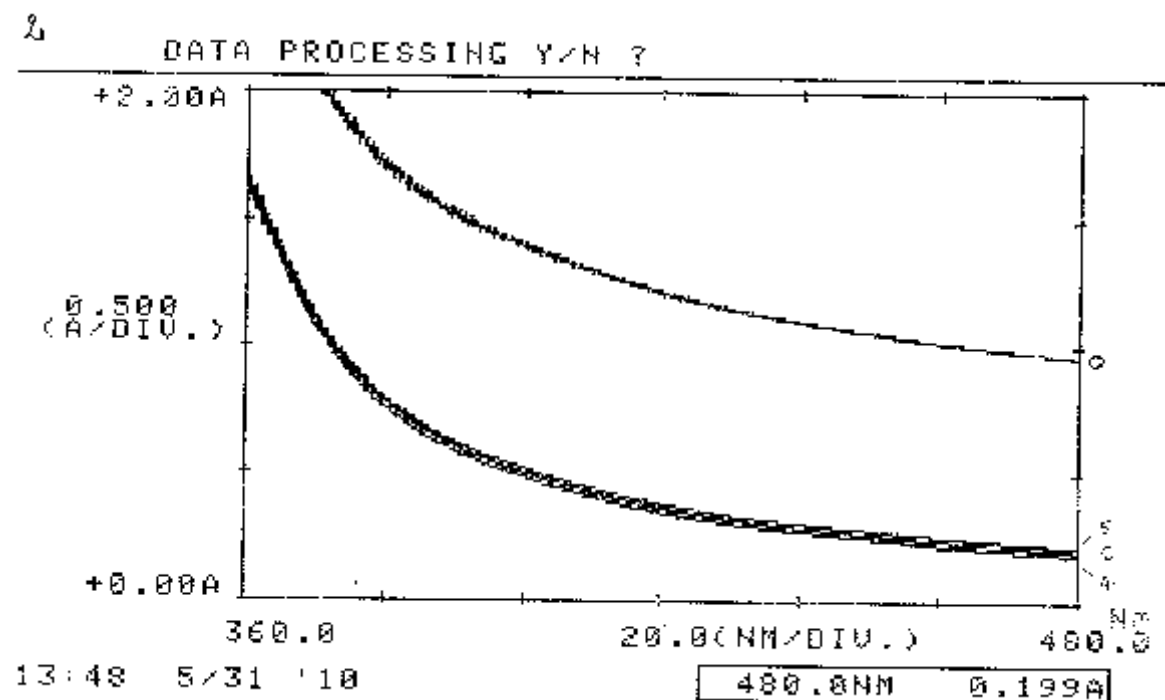
Spojina (%)	Oznaka vzorca									
	kontrola	1	2	3	4	5	6	7	8	9
acetaldehid	0,167	0,029	0,028	0,034	0,033	0,041	0,044	0,042	0,037	0,038
etil acetat	0,040	0,023	0,023	0,023	0,019	0,019	0,018	0,019	0,019	0,019
metanol	0,128	0,065	0,064	0,065	0,066	0,066	0,065	0,074	0,074	0,075
izoamil acetat	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
1-propanol	0,025	0,016	0,015	0,017	0,024	0,024	0,024	0,016	0,016	0,016
izobutanol	0,018	0,019	0,019	0,019	0,013	0,013	0,013	0,022	0,022	0,022
izoamilalkohol	0,148	0,209	0,209	0,187	0,203	0,198	0,206	0,310	0,322	0,320
2-feniletanol	0,013	0,013	0,013	0,010	0,016	0,014	0,014	0,024	0,023	0,024

Priloga I: Skupno število kvasovk v mladih vinih po postavitvi fermentacijske poskusa, po 24 urah, po prvem tednu fermentacije ter po zaključeni alkoholni fermentaciji

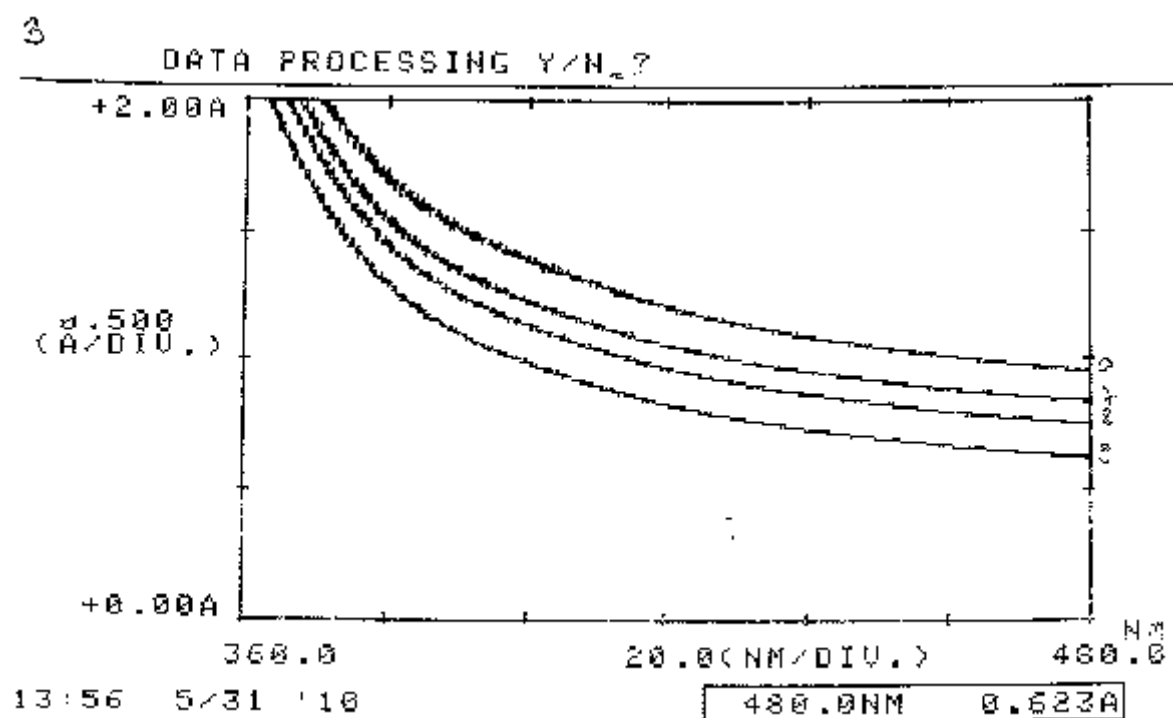
Skupno število kvasovk v vzorcih (CFU*10 ⁶ /mL)	Časi nacepljanja (ure)			
	0	24	137	449
Kontrola	0,0	0,0	0,6	0,24
1	0,7	0,97	8	0,13
2	0,8	1,1	8	0,17
3	0,7	0,6	8	0,087
4	0,19	0,22	9	0,13
5	0,23	0,8	5,5	0,093
6	0,15	0,24	6	0,17
7	7,3	2,3	2,1	0,077
8	11,0	1,0	0,6	0,2
9	9,7	0,75	1,7	0,11



Priloga J1: Absorpcijski spekter pri kontroli in vzorcih 1, 2, 3 mladega vina sorte malvazija v območju valovne dolžine 360 nm in 480 nm



Priloga J2: Absorpcijski spekter pri kontroli in vzorcih 4, 5, 6 mladega vina sorte malvazija v območju valovne dolžine 360 nm in 480 nm



Priloga J3: Absorpcijski spekter pri kontroli in vzorcih 7, 8, 9 mladega vina sorte malvazija v območju valovne dolžine 360 nm in 480 nm