UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Pavel VIDMAR

VPLIV BIOLOŠKEGA RAZKISA NA KAKOVOST VINA MERLOT

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Pavel VIDMAR

VPLIV BIOLOŠKEGA RAZKISA NA KAKOVOST VINA MERLOT

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

THE INFLUENCE OF MALOLACTIC FERMENTATION ON QUALITY OF MERLOT WINE

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2012

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

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Mojmirja Wondro in za somentorja doc. dr. Denisa Rusjana.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc BATIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Mojmir WONDRA
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Član: doc. dr. Denis RUSJAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: izr. prof. dr. Zora KOROŠEC-KORUZA
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

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

Pavel Vidmar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn

DK UDK 663.2: 634.8 (034.2)

KG vino / merlot/ biološki razkis/ selekcionirane kulture/ mlečnokislinske bakterije/ fizikalno-kemijske lastnosti/ senzorične lastnosti

KK AGRIS Q01

AV VIDMAR, Pavel

SA WONDRA, Mojmir (mentor)/RUSJAN, Denis (somentor)

KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

LI 2012

IN VPLIV BIOLOŠKEGA RAZKISA NA KAKOVOST VINA MERLOT

TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)

OP XII, 39 str., 2 pregl., 18 sl., 31 vir.

IJ sl

JI sl/en

AI Namen poskusa je bil ugotoviti vpliv biološkega razkisa pri vinu merlot na fizikalno-kemijske in senzorične lastnosti vina, pridelanega v vinorodnem okolišu Vipavska dolina. Grozdje smo najprej specljali in zdrozgali. Sledila je osem dnevna-maceracija z alkoholnim vrenjem v vinifikatorju. Po končani alkoholni fermentaciji smo mlado vino razdelili na šest enakih volumnov. Za vodenim biološkim razkisom smo uporabili dva različna seva mlečnokislinskih bakterij vrste *Oenococcus oeni* (ENOFERUM BETA in LALVIN VP41) ter uporabili hrano za MKB (ACTI-ML) in te vzorce primerjali s kontrolo (brez biološkega razkisa) in z vzorcem spontanega biološkega razkisa. S poskusom smo ugotovili, da so bila vina, pri katerih je potekel biološki razkis kemijsko in senzorično boljše ocenjena. Imela so ustreznejši pH (3,70), manj titrabilnih (5,25 g/L) in skupnih (5,85 g/L) kislin ter so bila bolj harmonična zaradi pretvorbe jabolčne kisline v mlečno. Kot najboljša kombinacija se je tako izkazal voden biološki razkis z uporabo MKB LALVIN VP41 in hrane ACTI-ML, za MKB, ki je bila senzorično najbolje ocenjena z 17,4 točke. Uporaba hranil za MKB se je izkazala kot pomemben dejavnik pri vodenih bioloških razkisih. Vzorci so bili ocenjeni za 0,2 točki več od vzorcev brez dodatka hrane za MKB. Z vodenim biološkim razkisom dobimo v povprečju bolšo kakovost vina merlot. Tako pridelana vina so bolj sadna in bogatejša na aromi, kislinsko uravnotežena ter polnejšega in zaokroženega okusa.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC UDK 663.2: 634.8 (034.2)

CX wine/ merlot/ malolactic fermentation/ lactic bacteria/ physical-chemical characteristics/ sensory characteristics

CC AGRIS Q01

AU VIDMAR, Pavel

AA WONDRA, Mojmir (supervisor)/RUSJAN, Denis (co-advisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of Agronomy

PY 2012

TI THE INFLUENCE OF MALOLACTIC FERMENTATION ON QUALITY OF MERLOT WINE

DT Graduation Thesis (University studies)

NO XII, 39 p., 2 tab., 18 fig., 31 ref.

LA sl

AL sl/en

AB The aim of the experiment was to observe the effects the malolactic fermentation has on the physical, chemical and sensory characteristics of the Merlot wine produced in the winegrowing region Vipavska dolina. The grapes were first destemmed and crushed. Than the pulp was left in an eight day carbonic maceration complete with alcoholic fermentation in the vinificator. After the fermentation the wine was divided into six equal parts. For the guided malolactic fermentation we used two different strains of lactic bacteria of the type *Oenococcus oeni* (ENOFERUM BETA in LALVIN VP41) combined with the MKB (ACTI-ML) nutrition. We then compared this sample to the control sample and to the sample with natural malolactic fermentation. The experiment showed us that the wines that were subject to guided malolactic fermentation got a better rating. Their pH (3.70) was increasingly adequate, they had less titrabilic (5.25g/L) and total (5.85 g/L) acids, and furthermore they were more harmonic because of the transformation of malic acid into lactic acid. The best results were produced by the controlled fermentation using MKB LALVIN VP41 and the ACT-ML nutrition, for the MKB, which resulted in a rating of 17.4 points. The addition of the MKB nutrition proved as a deciding factor in the process. Samples without the MKB nutrition were rated at an average 0.2 points lower than samples containing MKB nutrition. Using the controlled malolactic fermentation we can produce a better average Merlot wine. The wines have a richer fruity aroma with more balanced acid profile and a fuller rounded flavor.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA IV
KEY WORDS DOCUMENTATION V
KAZALO VSEBINE VI
KAZALO PREGLEDNIC IX
KAZALO SLIK X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI XII

1 UVOD 1
1.1 NAMEN NALOGE 1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE 1

2 PREGLED OBJAV 2
2.1 Kemijska sestava mošta in vina 2
2.1.1 Voda 2
2.1.2 Ogljikovi hidrati 2
2.1.3 Organske kisline 2
2.1.3.1 Vinska kislina 3
2.1.3.2 Jabolčna kislina 3
2.1.3.3 Mlečna kislina 3
3.1.3.4 Citronska kislina 3
3.1.3.5 Hlapne kisline 4
2.1.4 Etanol 4
2.1.5 Fenolne snovi 4
2.1.6 Mineralne snovi 5
2.1.7 Aromatične snovi 5
2.1.8 Žveplove spojine 6
2.2 Biološki razkis 6
2.2.1 Mlečnokislinske bakterije (MKB) 6
2.2.2 Dejavniki, ki vplivajo na biološki razkis 7
2.2.3 Vodenje biološkega razkisa z dodatkom MKB 8
2.2.4 Zaviranje in prekinitev biološkega razkisa: 8
2.2.5 Posledice biološkega razkisa 9
2.2.5.1 Kisline in pH 9
2.2.5.2 Sprememba vonja in okusa 9
2.2.5.3 Mikrobiološka stabilnost 9

3 MATERIAL IN METODA DELA **10**

3.1 MATERIAL 10
3.1.1 Vino **10**
3.1.2 Enološka sredstva **10**
3.1.2.1 Kvasovke UVAFERUM 229 10
3.1.2.2 Hrana za kvasovke FERMAIND 10
3.1.2.3 Mlečnokislinske bakterije LAVIN VP41 11
3.1.2.4 Mlečnokislinske bakterije ENOFERUM BETA 11
3.1.2.5 Hrana za mlečnokislinske bakterije ACTI-ML 11

3.2 SORTA 'MERLOT' 11

3.3 ZASNOVA POSKUSA 12

3.4 METODA DELA 14
3.4.1 Fizikalne in kemijske analize mošta in vina **14**
3.4.1.1 Merjenje pH vina 14
3.4.1.2 Merjenje titrabilnih in skupnih kislin 14
3.4.1.3 Merjenje orientacijske puferne kapacitete 15
3.4.1.4 Merjenje relativne gostote, skupnega ekstrakta in alkohola 15
3.4.1.5 Merjenje vsebnost reducirajočih sladkorjev v moštu in vinu 15
3.4.1.6 Merjenje hlapnih kislin v vinu 15
3.4.1.7 Merjenje barve vina 16
3.4.1.8 Merjenje žveplovega dioksida v vinu po Ripperju 16
3.4.1.9 Merjenje fenolnih snovi v vinu 16
3.4.1.10 Merjenje vsebnosti vinske, jabolčne in mlečne kisline s papirno kromatografijo 17
3.4.2 Senzorične analize mošta in vina **17**
3.4.3 Statistična analiza **18**

4 REZULTATI **19**

4.1 REZULTATI KEMIJSKIH ANALIZ VINA 19
4.1.1 Vrednosti pH vina **19**
4.1.2 Vsebnost titrabilnih in skupnih kislin **19**
4.1.3 Orientacijska puferna kapaciteta vina **21**
4.1.4 Vsebnost hlapnih kislin v vinu **21**
4.1.5 Vsebnost alkohola **22**
4.1.6 Vsebnost skupnih ekstraktov **23**
4.1.7 Vsebnost reducirajočih sladkorjev **24**
4.1.8 Vsebnost prostega in skupnega žveplovega dioksida **25**
4.1.9 Vsebnost skupnih fenolov **27**
4.1.10 Barva vina **27**

4.1.11 Rezultati spremljanja biološkega razkisa s papirno kromatografijo 29

4.2 Senzorična analiza vina merlot 30

5 RAZPRAVA 31

5.1 KEMIJSKA ANALIZA VINA 31
5.1.1 Vrednost pH 31
5.1.2 Vsebnost titrabilnih in skupnih kislin 31
5.1.3 Orientacijska puferna kapaciteta 31
5.1.4 Hlapne kisline 32
5.1.5 Alkohol in reducirajoči sladkorji 32
5.1.6 Skupni ekstrakt 32
5.1.7 Prosti in skupni žveplov dioksid 33
5.1.8 Skupni fenoli 33
5.1.9 Barva vina 33
5.1.9.1 Intenziteta barve 33
5.1.9.2 Ton barve 33

5.2 SENZORIČNA ANALIZA VINA 34

6 SKLEPI 35

7 POVZETEK 36

8 VIRI 37

ZAHVALA

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Uporabljena enološka sredstva glede na obravnavanje pri poskusu vinifikaciji vina merlot pridelanega v Vipavski dolini leta 2010. 10

Preglednica 2: Obravnavanja pri poskusu z biološkim razkisom vina merlot pridelanega v Vipavski dolini leta 2010..... 12

KAZALO SLIK

Slika 1: Prikaz poteka poskusa z biološkim razkisom. 13

Slika 2: Povprečni pH s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini glede na način biološkega razkisa. 19

Slika 3: Povprečna vsebnost titrabilnih kislin (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini glede na način biološkega razkisa. 20

Slika 4: Povprečna vsebnostskupnih kislin (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini glede na način biološkega razkisa. 20

Slika 5: Povprečna orientacijska puferna kapaciteta (mmol/L/pH) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini glede na trajanje biološkega razkisa. 21

Slika 6: Povprečna vsebnost hlapnih kislin (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu. 22

Slika 7: Povprečna vsebnost alkohola (vol.%) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanju biološkega razkisa. 23

Slika 8: Povprečna vsebnost skupnega ekstrakta (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu. 24

Slika 9: Povprečna vsebnost reducirajočih sladkorjev (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu. 25

Slika 10: Povprečna vsebnost prostega žvepla (mg/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu. 26

Slika 11: Povprečna vsebnost skupnega žvepla (mg/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu. 26

Slika 12: Povprečna vsebnost skupnih fenolov (mg/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu. 27

Slika 13: Povprečna intenziteta barve v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred in po končanem biološkem razkisu. 28

Slika 14: Povprečni ton barve vina merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred in po končanem biološkem razkisu. 28

Slika 15: Kromatogram organskih kislin po prvem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini. 29

Slika 16: Kromatogram organskih kislin po drugem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini. 29

Slika 17: Kromatogram organskih kislin po tretjem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini. 30

Slika 18: Povprečna senzorična ocena vina merlot po metodi Bouxbaum, pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini 30

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

O.I.V.	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin – Mednarodna organizacija za trto in vino
MKB	mlečnokislinske bakterije
MKF	mlečnokislinska fermentacija

1 UVOD

Vino je kompleksen medij, sestavljen iz spojin, ki so bodisi zaželene ali škodljive za rast in preživetje mikroorganizmov. Vloga mikroorganizmov v vinu ni omejena le na pretvorbo grozdnega soka v vino, ampak zajema tudi vlogo mlečnokislinskih bakterij pri pretvorbi L-jabolčne kisline v L-mlečno kislino. Ta proces imenujemo jabolčno-mlečnokislinska fermentacija ali biološki razkis (Bou in sod., 2005).

Biološki razkis je mikrobiološki način zmanjševanja kislosti, ki je posledica pretvorbe grenko-kisle jabolčne kisline v milejšo mlečno kislino in CO_2. V vinih se to zazna predvsem v svežini, polnejšem in bolj zaokroženem okusu ter večji kompleksnosti arom. Biološki razkis se največkrat izvede pri rdečih vinih, pri belih je bistveno manj pogost.
V večini primerov biološki razkis vina steče spontano, ko se kleti nekoliko segrejejo in se pH vina dvigne. Tako se vzpostavijo idealne razmire za delovanje mlečnokislinskih bakterij.

Danes nove tehnologije vključujejo dodatek starterskih kultur mlečnokislinskih bakterij med ali ob zaključku alkoholne fermentacije, da dosežemo ustrezno kemijsko in senzorično kakovost vina. Potrebno je slediti novim trendom in tehnologijam, saj je danes trg vina vedno bolj zasičen, konkurenca pa velika. Poleg tega so kupci o kakovosti vina vse bolj osveščeni in izobraženi ter tako dodatno vplivajo na dinamiko stiliziranja vina. Z vodenim biološkim razkisom dosegamo vsakoletno ustrezno kakovost vina ne glede na vremenske razmere in letnik vina.

1.1 NAMEN NALOGE

Namen naloge je ugotoviti vpliv biološkega razkisa na kakovost in sortne značilnosti vina merlot. S poskusom smo želeli zmanjšati učinek rastlinskih not, poudariti sadnost v vonju in okusu ter izboljšati harmoničnost in polnost vina. Predvsem smo želeli dokazati, da bodo vina, kjer je potekel voden biološki razkis, senzorično bolje ocenjena.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

S poskusom diplomskega dela smo hoteli potrditi ali ovreči naslednje hipoteze, in sicer da biološki razkis vpliva na:

- kemijske lastnosti vina, predvsem na zmanjšanje vsebnosti jabolčne in povečanje mlečne kisline v vinu ter povečanje pH in zmanjšanje puferne kapacitete,
- povečanje sadne arome, harmoničnosti vina in s tem na boljšo senzorično oceno vina.

2 PREGLED OBJAV

2.1 KEMIJSKA SESTAVA MOŠTA IN VINA

Vino je produkt alkoholnega vrenja mošta iz svežega grozdja, ki ga da žlahtna vinska trta. Po sestavi je vino raztopina vode in mnogoštevilnih organskih in anorganskih spojin. Danes jih je ugotovljenih več kot tisoč. Sestava vina je spremenljiva, odvisna je predvsem od okoljskih danosti ter od dela vinogradnika in kletarjenja; torej od podnebja, tal, sorte, letnika, pridelave in zrelosti grozdja, časa in načina trgatve, predelave grozdja ter nege vina (Vodovnik T in Vodovnik A, 1999).

2.1.1 Voda

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

2.1.2 Ogljikovi hidrati

So produkt fotosinteze, ki poteka v vseh zelenih delih vinske trte. Z energijo sončne svetlobe iz ogljikovega dioksida in vode v kloroplastu, nastanejo kot prva organska spojina prav ogljikovi hidrati (Wondra, 2004). Vsebnost ogljikovih hidratov je v moštu med 12 in 27 % .

V grozdju, moštu in vinu so (Bavčar, 2009):

- monosaharidi, heksoze (glukoza, fruktoza) in pentoze (arabinoza, ksiloza in ramnoza),
- disaharidi (saharoza),
- polisaharidi in podobne snovi (pektini, glukani, škrob, dekstreni).

2.1.3 Organske kisline

V moštu in vinu so predvsem organske kisline, ki so različnega izvora. Vinska in jabolčna kislina sta rezultat nepopolne oksidacije sladkorjev in iz grozdne jagode prehajata v mošt. Kot posledica delovanja plesni vrste *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel se lahko izrazito poveča koncentracija citronske in glukozne kisline. Med alkoholno fermentacijo nastajajo še druge organske kisline, kot so mlečna in jantarna kislina ter v zelo majhnih koncentracijah še ostale kisline iz cikla trikarboksilnih kislin. Mlečnokislinske bakterije tvorijo znatne količine mlečne in ocetne kisline v vinu (Bavčar, 2009).

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

2.1.3.1 Vinska kislina

Ta kislina je v vseh delih vinske trte kot *D*-vinska kislina. Njena oksidacija v grozdnih jagodah poteka samo pri višjih temperaturah, in sicer nad 30 °C, pri nižjih temperaturah pa se oksidacijski procesi preusmerijo na jabolčno kislino (Šikovec, 1993).

Vinska kislina je najbolj zastopana kislina v moštu kot v vinu. V grozdju jo je od 5 do 10 g/L mošta. Skupaj z jabolčno kislino pogosto dosegata 90 % vseh nehlapnih kislin. Mikroorganizmi je običajno ne izkoriščajo, zato jo uporabljamo za dokisanje. Zaradi slabe topnosti se izloča kot sol tartrat, ki jo pogovorno imenujemo vinski kamen (Bavčar, 2009). Zaradi izločanja soli vinske kisline se lahko zmanjša kislost vina (Šinkovec, 1993).

2.1.3.2 Jabolčna kislina

Jabolčna kislina kot produkt nepopolne oksidacije sladkorja v listih prehaja v jagodo, kjer tudi sama delno oksidira naprej do vode in ogljikovega dioksida. V primerjavi z vinsko kislino, za katero je najbolj primerna temperatura oksidacije 37 °C, je za razgradnjo jabolčne najprimernejša temperatura 28–30 °C. To organsko kislino celice jagod najpogosteje porabljajo za respiracijske procese (Bavčar, 2009). V grozdnem soku je povprečno od 1 do 8 g/L jabolčne kisline (Fleet, 2002).

V grozdju in moštu je tudi jabolčna kislina večinoma v obliki soli, malatov. V vinu je jabolčna kislina biološko neobstojna in se pod vplivom različnih mikroorganizmov pretvori v mlečno kislino in druge stranske nezaželene produkte. Kadar želimo zmanjšati vsebnost titracijske kisline, takoj po končanem alkoholnem vrenju mladega vina ne pretočimo, ne žveplamo, da mlečnokislinske bakterije lahko opravijo biološki razkis in razgradijo jabolčno kislino v milejšo mlečno kislino (Bavčar, 2009).

2.1.3.3 Mlečna kislina

Mlečne kisline je v vinu od 0 do 2,5 g/L, če je potekel biološki razkis pa tudi več (Bavčar, 2009). Le-ta nastane s presnovo jabolčne kisline kot produkt delovanja mlečnokislinskih bakterij (jabolčno-mlečnokislinska fermentacija) (Košmerl, 2003).

Pri neustreznih razmerah (pH manjši od 3,1 in pri temperaturah nižjih od 17 °C) lahko biološki razkis poteka v napačni smeri in pride do nastanka hlapnih snovi, ki vodijo v bolezen vina, imenovano mlečni cik (Vodovnik T in Vodovnik A, 1999).

3.1.3.4 Citronska kislina

Citronska kislina je redna spremljevalka jabolčne kisline v grozdni jagodi, čeprav je fiksirana na celične stene, zato pri pridelavi težje prehaja v mošt in je precej ostane na

tropinah. Ta kislina, ki pri predelavi preide v mošt, ostane tudi v vinu, vendar ni obstojna na mlečnokislinske bakterije (Šikovec, 1993).

V moštu in vinu pred jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo najdemo od 0,5 do 1 g/l citronske kisline (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b). Tvori se tudi pod vplivom plesni vrste *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel Včasih jo uporabimo tudi za dokisanje (Bavčar, 2009).

3.1.3.5 Hlapne kisline

Med hlapne kisline prištevamo ocetno, mravljično, masleno in propionsko kislino. Med njimi je najpomembnejša ocetna kislina. V normalnih koncentracijah ima v vinu pomembno vlogo kot aromatična spojina pri tvorbi estrov. Pojavi se že med alkoholno fermentacijo pod vplivom kvasovk. Povečane koncentracije hlapnih kislin, to je več kot 0,8 g/L, so posledica delovanja škodljivih mikroorganizmov, predvsem ocetnokislinskih bakterij (Bavčar, 2009).

2.1.4 Etanol

Etanol je nedvomno najpomembnejši alkohol v vinu. Nastane kot posledica delovanja kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen ex E. l. Hansen) med alkoholno fermentacijo. Etanol daje vinu stabilnost, deluje kot topilo in zagotavlja posebne senzorične lastnosti (Bavčar, 2009).

Višji alkoholi so v vinu prisotni le v manjših koncentracijah. Z alkoholom bogatejša vina so obstojnejša, vendar pa se z zorenjem (staranjem) vina vsebnost alkohola v vinu zmanjšuje. Manjši delež alkohola izhlapi, del se oksidira v aldehide, del pa se esterificira. Od višjih alkoholov je najbolj pomemben glicerol, ki daje vinu sladek in poln okus. Pri alkoholni fermentaciji etanol nastaja iz sladkorja. V večji koncentracijah pa ga pred vrenjem v sami grozdni jagodi tvori gliva *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel in takrat ta vrednosti presegajo 15 g/L (Vodovnik T in Vodovnik A, 1999).

Mlečnokislinske bakterije tvorijo med biološkim razkisom manjše količine etanola in višjih alkoholov. Etanol ima specifičen vonj ter okus in pomembno vpliva na zaznavo aromatičnih komponent ter drugih senzoričnih lastnosti vina (Knoll in sod., 2010).

2.1.5 Fenolne snovi

Fenolne spojine so pomembne, vinu dajejo barvo, vplivajo na vonj in okus, so osnova za staranje vina, delujejo antioksidativno in kot konzervans ter kažejo protimikrobno delovanje. Fenolne snovi so odgovorne tudi za razlike med belimi in rdečimi vini, še posebej v barvi in aromi rdečih vin (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b).

Fenolne spojine grozdja najdemo predvsem v epidermalnih celicah kožice jagode in v pečkah, njihova koncentracija pa je manjša v drozgi. Fenolna sestava vina je odvisna od sorte vinske trte, vinogradniške lege, načina pridelave grozdja, podnebja, vrste tal, prakse gojenja vinske trte, časa trgatve, predelave grozdja in pridelave ter zorenja vina. Končna vsebnost skupnih fenolov v rdečih vinih lahko doseže 3500 mg/L (Rodriguez-Delgado in sod., 2002). Fenolne spojine sestavljajo veliko skupino spojin v vinu. Delimo jih na štiri glavne skupine (Vrhovšek, 2000):

- neflavoidne fenole,
- flavoidne fenole,
- taninske fenole,
- netaninske fenole.

2.1.6 Mineralne snovi

Koncentracija mineralnih snovi oziroma pepela v moštu je odvisna od geografskega porekla, sorte, letnika, stopnje zrelosti, tip tal, gnojenja ter načina pridelave. Vsebnost mineralnih snovi se v moštu giblje od 3 do 4 g/L, v vinu pa med 1,8 in 2,5 g/L. Najpomembnejše mineralne snovi v moštu in vinu so spojine kalija, magnezija, natrija, kalcija in železa ter karbonati, sulfati, fosfati in kloridi. Njihova koncentracija se poveča pri sušenju grozdja in grozdju okuženim s plesnijo vrste *Botryotinia fuckeliana* Person (Vodovnik T in Vodovnik A, 1999).

Mineralne snovi so tiste snovi grozdja in vina, ki ostanejo po izparevanju in žarjenju kot pepel (njihov delež mora biti vsaj 10 %). Mineralne snovi so nosilci okusa in vplivajo na polnost vina. Mineralne snovi so hrana za kvasovke ter vplivajo na bistrenje vina (Wondra, 2004). Z zakonom določena spodnja meja vsebnosti mineralnih snovi v belih vinih je 1,2 g/L (Pravilnik o pogojih …, 2004).

2.1.7 Aromatične snovi

V vinu je dokazanih več kot 800 spojin, ki vplivajo na vonj, okus in aromo. Za vonj so odgovorne spojine kot so alkoholi, kisline, aldehidi, ketoni, terpeni, norizoprenoidi, pirazini in merkaptani. Vsebnost aromatičnih snovi v vinu je med 0,8 g/L in 1,2 g/L, od tega je približno 50 % višjih alkoholov (Bavčar, 2009).

Naša čutila zaznavajo aromatične snovi v koncentraciji od 10^{-4} do 10^{-12} g/L. Zaznavamo jih v dveh fazah, in sicer neposredno z vohanjem, kar imenujemo cvetlica vina, in posredno z okušanjem, ko se zaradi višje temperature v ustih sprostijo hlapne snovi in prehajajo retronazalno v nos. Skupek obeh vtisov imenujemo aroma vina (Wondra, 2005).

Pri klasifikaciji aromatičnih komponent vina razlikujemo med (Košmerl, 2007):

- primarno ali grozdno aromo,
- sekundarno aromo,

- fermentacijsko aromo,
- in zorilno aromo.

2.1.8 Žveplove spojine

Hlapne organske žveplove spojine, ki nastajajo med alkoholno fermentacijo, so drugotnega pomena za cvetlico, ker nastajajo v majhnih koncentracijah. V večjih koncentracijah imajo negativen vpliv na kakovost (Košmerl, 2007).

Žveplove spojine so vedno prisotne v vinih. Največkrat jih povezujemo z njihovim negativnim vplivom na kakovost vina. Najpomembnejša žveplova spojina je vodikov sulfid ali žveplovodik (bekser), ki v večjih koncentracijah (50–80 µ/L) povzroča vonj po gnilih jajcih (Bavčar, 2009).

2.2 BIOLOŠKI RAZKIS

Biološki ali mlečnokislinski razkis (MKR) ali jabolčno-mlečnokislinska fermentacija je za alkoholno fermentacijo drugi najbolj znan mikrobiološki proces v vinu. V osnovi gre za pretvorbo jabolčne kisline v milejšo mlečno kislino in ogljikov dioksid pod vplivom mlečnokislinskih bakterij (Bavčar, 2009). Iz 1 g L-jabolčne kisline nastane 0,67 g L-mlečne kisline in 0,33 g ogljikovega dioksida (Košmerl, 2004).

Glavni namen biološkega razkisa je zmanjšanje koncentracije skupnih kislin in uravnavanje pH na želeno vrednost. Biološki razkis značilno vpliva na spremembo vonja in okusa. Poteče lahko spontano z avtohtonimi MKB, katerih izvor je grozdje in kletarska oprema, ali pa je voden z inokulacijo izbranih starterskih kultur mlečnokislinskih bakterij (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

MKF vpliva na tri različne vendar povezane vidike kakovosti vina. To so kislost, mikrobiološka stabilnost in zaznava kompleksnosti vina (Knoll in sod., 2010).

2.2.1 Mlečnokislinske bakterije (MKB)

MKR povzročijo mlečnokislinske bakterije rodov *Lactobacillus, Oenococcus* in *Pediococcu*s, med katerimi je najbolj pomembna vrsta *Oenococcus oeni* (Bavčar, 2009).

Poleg morfologije in razlik med koki ali paličkami jih delimo tudi na homofermentativne in heterofermentativne. Homofermentativne bakterije proizvedejo iz glukoze več kot 85 % mlečne kisline, medtem ko koheterofermentativne proizvedejo iz glukoze ogljikov dioksid, etanol, ocetno ter dodatno tudi mlečno kislino (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

Nekatere pomembnejše lastnosti MKB so (Bavčar, 2009):

- prisotne so tako na grozdju kot na vinarski opremi,
- njihovo število upade med alkoholno fermentacijo iz 10^3 na nekaj celic/mL zaradi občutljivosti na žveplov dioksid, kislost vina in etanol ter zopet naraste po koncu fermentacije na celo 10^8 celic/mL;
- časovno poteka biološki razkis od nekaj dni do nekaj mesecev zaradi pomladanskega segrevanja kleti;
- MKB vrste *Oenococcus oeni* štejemo med najbolj koristne in zaželene predstavnike, nasprotno pa so MKB rodu *Pediococcus* in posamezne vrste *Lactobacillus* nezaželene, saj so kvarljivci vina;
- uspešno rastejo tudi v kislih medijih, na primer *Oenococcus oeni* raste, če je pH vina nad 3,00;
- glavna reakcija v vinu je sprememba jabolčne kisline (dikarboksilna) z dekarboksilacijo v piruvično, le-ta pa z redukcijo v mlečno (monokarboksilno) kislino;
- stehiometrično iz 1 g jabolčne kisline nastane 0,67 g mlečne kisline in 0,33 g ogljikovih dioksida, v praksi je izkoristek le približno 80 %;
- posledično manjša kislost in večji pH izboljšata razmere za rast drugih bakterij;
- kot vir energije minimalno uporabljajo tudi sladkorje, kot sta glukoza in fruktoza, kar vodi v nastanek manitola in ocetne kisline;
- kot vir energije je pomembnejša citronska kislina, ki vodi v nastanek acetoina in diacetila;
- etanol omeji rast MKB. Toksični vpliv etanola se povezuje s spremembami na celični membrani bakterij. Med MKB je vrsta *Oenococcus oeni* najbolj tolerantna in raste tudi pri 15 vol.% etanola;
- za uspešno rast potrebujemo kompleksno mešanico spojin (vitamini, aminokisline, purin, pirimidin …);
- rastejo v prisotnosti ali odsotnosti kislin.

2.2.2 Dejavniki, ki vplivajo na biološki razkis

Na mlečnokislinsko fermentacijo in razvoj populacije MKB vplivajo številni dejavniki, ki jih delimo na fizikalne, kemijske in biološke. Med fizikalnimi dejavniki sta odločujoča temperatura vina in vloga enološke prakse. Zelo številna je skupina kemijskih dejavnikov, kamor so uvrščeni pH, sladkorji in polioli, organske kisline, dušikove spojine, etanol, SO_2, CO_2, O_2, fenolne spojine, maščobne kisline in pesticidi. Skupino bioloških dejavnikov vključuje interakcije kvasovk, bakterij in bakteriofagov z MKB. Poleg omenjenih so pomembni tudi drugi dejavniki, vendar imajo manjši vpliv in jih lahko opredelimo le v nekaterih razmerah. Nobenega izmed dejavnikov ne moremo obravnavati posamično, saj so med seboj povezani (Vrščaj Vodušek, 2007).

Optimalne razmere za uspešno MKF so (Bou in sod., 2005):
- pH večji od 3,2,
- temperatura vina nad 18 °C,
- prosti SO_2 manj kot 20 mg/L in vezani SO_2 manj kot 50 m/L v vinu,
- vsebnost etanola manjša od 13 vol.% v vinu.

2.2.3 Vodenje biološkega razkisa z dodatkom MKB

Čeprav v vinih med spontano MKF v večini primerov prevladujejo MKB vrste *Oenococc us oeni*, vinarji vse pogosteje uporabljajo selekcionirane kulture MKB, ki zavirajo (vodijo) MKF. Ta odločitev je povezana z mnogimi prednostmi vodene MKF v primerjavi s spontano MKF: zanesljivejšem začetkom, hitrejšim potekom in uspešnim končanjem MKF ter izboljšano kakovostjo vina s stališča tvorbe nezaželenih stranskih produktov, zlasti diacetila, acetoina in ocetne kisline. V tem primeru se zelo zmanjša možnost kvara vina zaradi delovanja endogenih MKB in zmanjša se učinek bakteriofagov (Vrščaj Vodušek, 2007).

Selekcionirane kulture MKB so že v naprej pripravljene na stresno okolje in izbrane tako, da hitro in uspešno izvedejo pozitivne procese pričakovane za biološki razkis. Priporočljiv je dodatek hrane za MKB, saj je vino slab rastni medij za MKB. Hranila kot vir dušika in vitaminov (aminokisline, nikotinska kislina, tiamin, biotin, pantenske kisline) opazno pospešijo hitrost in izkoristek biološkega razkisa (Bavčar, 2009).

Selekcionirane MKB lahko med postopkom pridelave vina dodamo kot:
- skupni dodatek kvasovk in MKB v mošt,
- dodatek MKB med alkoholno fermentacijo,
- dodatek MKB po koncu alkoholne fermentacije,
- poznejši dodatek MKB med zorenjem vina.

Daleč najpogostejša uporabljena tehnika je dodatek MKB v mlado vino po končani alkoholni fermentaciji (Košmerl, 2010).

2.2.4 Zaviranje in prekinitev biološkega razkisa:

Zaviranje MKF izvajamo z vzpostavitvijo neugodnih razmer za MKF. Le sterilna filtracija (odstranitev bakterij) popolnoma prepreči možnost delovanja MKB. Zaviralci MKF so dovolj zgoden pretok in bistrenje vina, ohlajanje ali hranjenje vina na temperaturi okrog 10 °C, ohranjanje prostega SO_2 nad 50 mg/L, dodajanje kisline moštu ali vinu z velikim pH ter dodatek lizozima, ki razgradi celično steno bakterij (Vrščaj Vodušek, 2007).

Dodatek fumarne kisline, ki je toksičena za bakterije pri manjšem pH, v Sloveniji ni dovoljen (Pravilnik o pogojih …, 2004).

2.2.5 Posledice biološkega razkisa

2.2.5.1 Kisline in pH

Po končanem biološkem razkisu se vsebnost skupnih kislin v vinu zmanjša, in sicer od 1 do 3 g/L, posledično pa pH naraste za 0,1 do 0,3 enote. To je koristno za vina z veliko vsebnostjo skupnih kislin in nizkim pH, v nasprotnem primeru pa lahko povzroči tudi nezaželene spremembe. Ker MKB uporabljajo le jabolčno kislino, sta ob veliki koncentraciji vinske kisline spremembi kislosti in pH manjši. Posledica spremembe pH je tudi delna izguba barve rdečih vin zaradi sprememb na antocianih in včasih sprememba tona barve v bolj modro vijolične odtenke (Bavčar, 2009).

2.2.5.2 Sprememba vonja in okusa

Vinarji uporabljajo biološki razkis predvsem za dosego želene senzorične kakovosti vina. To so kompleksnost arome, polnost in zaokroženost okusa ter ravnotežje kislin (Košmerl, 2004).

MKB tvorijo aromatične snovi, ki vinu opazno spremenijo značaj. V kolikor je ta sprememba zaželena, sta vinu dodani kompleksnost in kakovost. Zaradi razlik med delovanjem različnih MKB, vpliva temperature in pH pa so končne spremembe včasih nepričakovane. To še posebej velja, če MKR poteka spontano, torej brez dodatka selekcioniranih bakterij. Selekcionirane kulture MKB se uporabljajo kot najbolj zanesljiv mikroorganizem v smislu minimalne tvorbe nezaželenih spojin (Bavčar, 2009).

Najbolj pogost vpliv MKB na aromatiko vina je tvorba diacetila, katerega vonj spominja na maslo in je v koncentracijah med 1 in 4 mg/L zaželen. Diacetil nastaja pretežno iz citronske kisline šele po končani pretvorbi jabolčne v mlečno kislino. Ostale spojine, ki lahko vplivajo na vonj, so acetaldehid ocetna kislina, acetoin, dietil sukcinat, etil acetat in heksanol. Biološki razkis tudi ne zmanjša vedno sadnih, lahko pa zmanjša vegetativne vonje (po zelenem) vina (Bavčar, 2009).

Okus vina se opazno spremeni, ker se jabolčna kislina, ki deluje ostro, sveže, rezko in nezrelo, pretvori v mlečno kislino. Ta deluje bolj mehko, uglajeno in zrelo. K večji polnosti okusa vsaj delno prispevajo tudi druge spojine, kot so etil laktat in diacetil (Bavčar, 2009). Vpliv MKR na aromo vina je odvisen od seva MKB, sorte vina in razmer (Ambrožič, 2006).

2.2.5.3 Mikrobiološka stabilnost

MKF ugodno vpliva na mikrobiološko stabilnost, ker se zmanjša vsebnost hranilnih snovi za ostale mikroorganizme. Nastala mlečna in preostala vinska kislina sta bolj stabilni, hkrati pa so MKB porabile večino vitaminov in aminokislin (Bavčar, 2009).

3 MATERIAL IN METODA DELA

3.1 MATERIAL

3.1.1 Vino

V poskus smo vključili mlado vino sorte 'Merlot' letnika 2010, pridelano v vinorodnem okolišu Vipavska dolina. V vino smo glede na način biološkega razkisa dodali različna enološka sredstva, ki jih podajamo v preglednici 1.

Preglednica 1: Uporabljena enološka sredstva glede na obravnavanje pri poskusu vinifikacije vina merlot pridelanega v Vipavski dolini leta 2010

Okrajšava	Obravnavanje in dodana enološka sredstva
k	20 g/hl UVAFERUM 299 + hrana za kvasovke + 10 g/hL $K_2S_2O_5$
s	20 g/hl UVAFERUM 299 + hrana za kvasovke
b	20 g/hl UVAFERUM 299 + hrana za kvasovke + ENOFERUM BETA (1 g/hl)
b+h	20 g/hl UVAFERUM 299 + hrana za kvasovke + 1g/hl ENOFERUM BETA + hrana za bakterije ACTI-ML 20 g/hl
l	20 g/hl UVAFERUM 299 + hrana za kvasovke + 1 g/hl LALVIN VP41
l+h	20 g/hl UVAFERUM 299 + hrana za kvasovke + 1 g/hl LALVIN VP41 + hrana za bakterije ACTI-ML 20 g/hl

3.1.2 Enološka sredstva

3.1.2.1 Kvasovke UVAFERUM 229

Selekcionirane so bile v pokrajini Beaujolais v Burgundiji. Te kvasovke odlikujejo specifični vpliv na organoleptične lastnosti vina. Kvasovke UVAFERUM 229 omogočajo hiter začetek in zanesljiv konec vrenja. Imajo dobro toleranco na temperaturo vrenja, hranilne snovi in alkohol (do 15 vol.%) ter značilno močno sproščanje barvil iz jagodne kožice (Lallemand, 2010c).

3.1.2.2 Hrana za kvasovke FERMAIND

FERMAID je kombinacija hranil (vitamini, minerali, N_2, CO_2, arginin) za kvasovke. Prepreči prekinitev vrenja in poveča gospodarnost pri vseh procesih vrenja (Lallemand, 2007).

3.1.2.3 Mlečnokislinske bakterije LAVIN VP41

LALVIN VP41 so bakterije izolirane v Italiji z obsežnim evropskim sodelovanjem. Povečajo kompleksnost in »telo« vina. Preparat vsebuje čisti sev MKB *Oenococcus oeni*. Prilagojen je na veliko vsebnost alkohola (16 vol.%), deluje pri pH večjim od 3,1 in pri temperaturi 16 ºC (Lallemand, 2010b).

3.1.2.4 Mlečnokislinske bakterije ENOFERUM BETA

ENOFERM BETA so bile izolirane v Italiji in se jih najbolje uporablja za povečanje taninske strukture ter sadno-sortnega značaja v rdečih vinih. Tolerantne so na pH 3,2, do 60 mg/L SO_2 ter prilagojene na veliko vsebnost alkohola (16 vol.%). Delujejo nad 14 ºC (Lallemand, 2010b).

3.1.2.5 Hrana za mlečnokislinske bakterije ACTI-ML

ACTI-ML je specifična mešanica neaktivnih kvasovk, ki je bogata z aminokislinami, minerali, kofaktorji in vitamini. Doda se jo v vino skupaj z mlečnokislinskimi bakterijami (Lallemand, 2010a).

3.2 SORTA 'MERLOT'

Sorta 'Merlot' spada po poreklu v skupino zahodnoevropskih sort – *Proles occidentalis* Negr. Izvira iz Francije (originalno ime 'Merlot noir'), in sicer iz okolice Bordeauxa. Največ ga gojijo v njegovi domovini, v Sloveniji pa samo v primorski vinorodni deželi. Vršiček mladike je svetlozelen, pajčevinasto obrasel ter ima rožnat vrh, list je srednje velik, tro- ali petdelen, globoko narezan in temnozelene barve. Grozd je srednje velik, valjaste oblike, raztresen in včasih tudi z enim ali dvema krilcema ter z dolgim in do členka olesenelim grozdnim pecljem. Jagoda je okroglaste oblike, modre barve in precej naprašena. Jagodna kožica je srednje debela, meso je precej čvrsto, sok malo rdečkast, sladek in prijetnega okusa. Masa grozda je med 120 in 140 g, vsebnost sladkorja pa v moštu doseže povprečno 80 °Oe. Pridelek sorte 'Merlot' je dokaj velik, posebej pri povišanih gojitvenih oblikah z dolgo rezjo. Občutljiv je na sivo grozdno plesen (*Botryotinia fuckelia* Persoon), proti peronospori (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A.Curtis) Berl. & De Toni in Sacc.) in oidiju (*Uncinula necator* (Schwein.) Burrill) je srednje odporen (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

Barva mladega vina merlot je rubinasto rdeča, ki pa se z leti hitro spreminja in dobiva najprej zlate, sledijo jantarni, nato rjavkasti toni barve. Mlado vino ima vonj po zrelejših rdečih sadežih, kot so češnje, murve, slive, pa tudi po cvetju (vrtnici). Z leti se pojavijo rastlinski vonji, kot tudi vonji po humusu, podrasti, živalskem usnju in drugo. Razvoj vina merlot je bistveno hitrejši od vina cabernet sauvignon (Nemanič, 1996).

3.3 ZASNOVA POSKUSA

Poskus smo zastavili konec septembra leta 2010 v vinski kleti Tomaža Vidmarja v Braniku v Vipavski dolini. Grozdje sorte 'Merlot' pridelano iz lastnega vinograda smo najprej specljali in zdrozgali. Nato smo drozgi dodali kvasovke UVAFERUM 229 za rdeča vina in hrano za kvasovke. Zaradi slabega letnika in kakovosti grozdja smo v drozgo dodali še 5 g/hL $K_2S_2O_5$, predvsem zato, da bi drozgo zaščitili pred oksidacijo in morebitnim delovanjem nezaželenih mikroorganizmov. Sledila je osemdnevna maceracija z alkoholnim vrenjem v vinifikatorju pri temperaturi 24 °C. Po končani alkoholni fermentaciji smo delno povreto drozgo stisnili v pnevmatični stiskalnici firme Amava s.p..

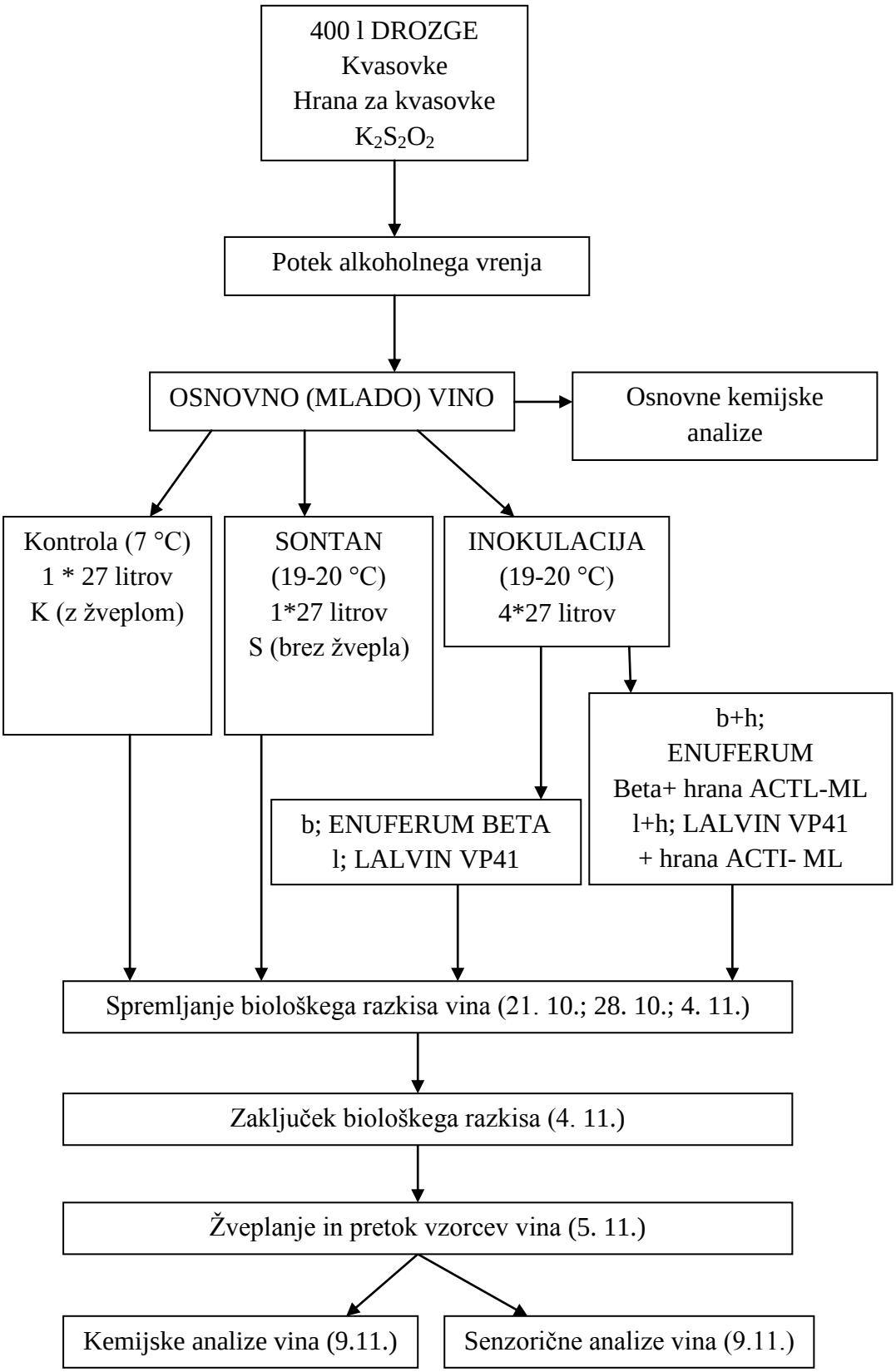
Potek poskusa biološkega razkisa smo izvedli na Biotehniški fakulteti v Ljubljani na Oddelku za živilstvo v tehnološkem laboratoriju Katedre za tehnologijo prehrane in vina. Potek poskusa z biološkim razkisom vina merlot je prikazan na sliki 1.

Preglednica 2: Obravnavanja pri poskusu z biološkim razkisom vina merlot pridelanega v Vipavski dolini leta 2010

Okrajšava	**Obravnavanje**
k	Kontrola (brez biološkega razkisa)
s	Spontani biološki razkis
b	Voden biološki razkis z MKB ENOFERUM BETA
b+h	Voden biološki razkis z MKB ENOFERUM BETA in dodatkom hrane za bakterije ACTI-ML
l	Voden biološki razkis z MKB LALVIN VP41
l+h	Voden biološki razkis z MKB LALVIN VP41 in dodatkom hrane za bakterije ACTI-ML

V vina z oznakama »b« in »b+h« smo dodali mlečnokislinsko bakterijo vrste *Oenococcus oeni* enoferum BETA, medtem ko pa smo v vina označena z »l« in »l+h« dodali VP41. Vino označeno s »s« je bilo izpostavljeno spontanemu biološkemu razkisu. Kontrolni vzorec »k« je bil žveplan z 10 g/hL $K_2S_2O_5$, da bi preprečili morebiten potek biološkega razkisa. V vina z oznakama »b+h« in »l+h« smo dodali hrano za mlečnokislinske bakterije, in sicer ACT-ML.

Pred inokulacijo smo opravili osnovne kemijske analize mladega vina. Potek biološkega razkisa smo spremljali tedensko, in sicer z merjenjem pH in vsebnosti skupnih titrabilnih kislin. S papirno kromatografijo smo še dodatno spremljali vsebnost mlečne, jabolčne in vinske kisline. Po 21 dneh, ko je spontan in voden biološki razkis praktično potekel, smo vzorce vina žveplali in pretočili ter nato opravili še kemijske analize in senzorično analizo vina.



Slika 1: Prikaz poteka poskusa z biološkim razkisom

3.4 METODA DELA

Kemijske analize smo opravili v vinu pred začetkom, med in po končanem biološkem razkisu. V vinu smo pred in po biološkem razkisu izmerili naslednje:

- vrednost pH,
- puferno kapaciteto,
- vsebnost skupnih (titrabilnih) kislin,
- vsebnost sladkorja prostega ekstrakta,
- vsebnost alkohola,
- vsebnost prostega in skupnega žvepla,
- vsebnost hlapnih kislin,
- vsebnost skupnih fenolov,
- ton in intenziteto barve,
- vsebnost ostanka nepovretega sladkorja.

Po biološkem razkisu smo vina tudi organoleptično ocenili.

3.4.1 Fizikalne in kemijske analize mošta in vina

3.4.1.1 Merjenje pH vina

Merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Preden začnemo elektrodo uporabljati, jo moramo umiriti na pH 4,0 in 7,02, nato pa še preveriti vrednost pufra pri pH 3,0. Merimo tako, da elektrodo potopimo v mošt ali vino in počakamo, da se pH umiri. Vrednost pH mora biti merjen pri temperaturi 20 °C, ker je leta zelo odvisen od temperature mošta oziroma vina (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.2 Merjenje titrabilnih in skupnih kislin

Za merjenje titrabilnih in skupnih kislin v moštu in vinu smo uporabili potenciometrično metodo, ki jo navajata Košmerl in Kač (2007). Pri kislinsko-bazni potenciometrični titraciji smo merili razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Za mirjenje smo uporabili kombinirano stekleno elektrodo. Na avtomatskem titratorju je potekala titracija z 0,1 M raztopino NaOH do končne točke titracije pH=7,2 oziroma pH=8,2.

3.4.1.3 Merjenje orientacijske puferne kapacitete

Puferno kapaciteto mošta ali vina opišemo kot lastnost mošta ali vina, da se njun pH ob dodatku znanih količin kislin ali baz bistveno ne spremeni. Je funkcija pH. Moštu ali vinu, ki sta raztopini različnih šibkih organskih kislin, lahko puferno kapaciteto, ki je dodana lastnost, ocenimo na osnovi koncentracije vsake posamezne kisline in njene pKa vrednosti. Merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga je steklena elektroda (merilna) in ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Uporabljamo pH meter s skalo v pH enotah (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.4 Merjenje relativne gostote, skupnega ekstrakta in alkohola

Termostatiranim vzorcem vina (20 °C) smo izmerili relativno gostoto z denziometrom po metodi Košmerl in Kač (2007). Nato smo točno določen volumen (100 ml) ponovno termostatiranega vzorca predestilirali z destilacijsko napravo v 100 ml merilno bučko. Po destilaciji smo dobljeni alkoholni destilat termostatirali in izmerili njegovo relativno gostoto z denziometrom. Poleg relativne gostote smo odčitali tudi koncentracijo (volumenski delež) alkohola.

3.4.1.5 Merjenje vsebnost reducirajočih sladkorjev v moštu in vinu

S Fehlingovim reagentom in s segrevanjem reakcijske mešanice do vrenja kvantitativno oksidiramo reducirajoče sladkorje do karboksilnih kislin. Dvovalentni bakrov ion iz reakcijske zmesi se reducira do bakrovega enovalentnega iona, tako da se izloči oborina bakrovega(I) oksida. Bakrovi dvovalentni ioni, ki niso reagirali oziroma se niso reducirali, se ob dodatku raztopine kalijevega jodida v kislem reducirajo, nastali jod pa titrimetično merimo z raztopino natrijevega tiosulfata v prisotnosti škrobovice kot indikatorja. Koncentracijo reducirajočih sladkorjev odčitamo v g/L direktno iz birete, ob upoštevanju slepega vzorca. Pri slepem vzorcu namesto vina odmerimo enako količino destilirane vode (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.6 Merjenje hlapnih kislin v vinu

Vsebnost hlapnih kislin v vinu smo merili z destilacijsko metodo (Košmerl in Kač, 2007). Ob dodatku vinske kisline in protipenilca destiliramo z vodno paro. Po končani destilaciji vzorcu dodamo indikator fenolftalein in titriramo s standardno vodno raztopino natrijevega hidroksida. Rezultat izrazimo kot masno koncentracijo ocetne kisline (g/L).

$$MK = a*c*M\ (g/mol)*(50/1000) \cong a*0,3 \quad \ldots(1)$$

Legenda:
HK… koncentracija hlapnih kislin, izražena kot ocetna kislina (g/L)
a… poraba titranta (ml)
c… koncentracija NaOH (0,1 mol/L)
50… razrečitveni faktor
M… molska masa ocetne kisline (60,05 g/mol)

3.4.1.7 Merjenje barve vina

Obarvanost belih vin merimo neposredno s spektrofotometrom, in sicer merimo absorbanco vzorca pri valovni dolžini 420 nm. V širšem spektru svetlobe od 400 do 440 nm lahko izmerimo tudi odtenek rjave barve belih vin. Z merjenjem absorbance pri valovnih dolžinah 420 nm, 520 nm in 620 nm pa merimo barvo rdečih vin, ki jih moramo predhodno ustrezno razredčiti s puferno raztopino, običajno v razmerju 1:10. Intenziteto barve vina izračunamo z vsoto absorbanc izmerjenih pri 420 nm, 520 nm in 620 nm, medtem ko ton barve iz razmerja absorbanc pri 420 nm in 520 nm. Za redčenje uporabimo puferno raztopino, katere pH je čim bolj enak pH analiziranega vzorca (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.8 Merjenje žveplovega dioksida v vinu po Ripperju

Merjenje vsebnosti prostega in skupnega žveplovega dioksida po metodi Ripper temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda. Za merjenje prostega SO_2 vzorec vina najprej nakisamo z dodatkom žveplove(VI) kisline (s tem zmanjšamo oksidativni vpliv vina, predvsem polifenolnih spojin pri titraciji z raztopino joda), dodamo indikator škrobovico in titriramo s standardizirano raztopino joda. Jod oksidira žveplovo(IV) kislino v žveplovo(VI) kislino in v končni točki titracije prebita količina joda obarva raztopino joda. Za merjenje koncentracije skupnega SO_2 po vzorcu vina najprej dodamo 1 M raztopino NaOH, da dosežemo hidrolizo vezanega SO_2. Nato sledi dodatek ostalih reagentov in jodometrična titracija po Košmerl in Kač (2007).

3.4.1.9 Merjenje fenolnih snovi v vinu

Za merjenje koncentracije skupnih fenolnih snovi smo dodali v vino reagent Folin-Ciocalteu (F.C.), ki v alkalni raztopini (dodatek natrijevega karbonata) oksidira fenolne spojine. Absorbanco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm. Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin odčitamo iz umeritvene krivulje in rezultat izrazimo kot mg galne kisline/L. Galno kislino uporabimo kot standardno referenčno spojino za merjenje skupnih fenolnih spojin (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.1.10 Merjenje vsebnosti vinske, jabolčne in mlečne kisline s papirno kromatografijo

S papirno kromatografijo ločujemo komponente, ki so obarvane ali se dajo obarvati. Topilo potuje navzgor po papirju in s seboj nosi komponente, topne v topilu. Zaradi različne topnosti v topilu in različnih interakcij med papirjem in komponentami se snovi lahko ločijo. Vidne so pod UV svetlobo ali z dodatkom ninhidrina. S papirno kromatografijo smo zasledovali jabolčno, mlečno in vinsko kislino v vzorcih, kjer je potekal biološki razkis.

Najprej pripravimo raztopino za razvijanje, in sicer tako da zmešamo 2 dela pripravljene raztopine 1-butanola (500 ml 1-butanola + 0,5 g bromfenol plavi) in 1 del raztopine ocetne kisline (1:1). Raztopino vlijemo v posodo za razvijanje in pustimo stati vsaj pol ure. Pripravimo tudi standarde, in sicer naslednje raztopine kislin:

- vinska kislina (500 mg zatehtamo v 50 ml bučko in dopolnimo do oznake);
- jabolčna kislina (500 mg zatehtamo v 50 ml bučko in dopolnimo do oznake);
- mlečna kislina (odpipetiramo 0,5 ml v 50 ml bučko in dopolnimo do oznake).

Za papirno kromatografijo uporabljamo kromatografski papir višine 13 cm. S stekleno kapilaro nanašamo standarde in vzorce 2 cm od spodnjega roba in s 3 cm presledki, vedno enakega volumna. Standardi si sledijo v zaporedju jabolčna, vinska in mlečna kislina. Po vsakokratnem nanosu kapilaro trikrat izperemo. Ko končamo z nanosi, papir osušimo in ga prenesemo v posodo za razvijanje. Razvijanje je končano, ko topilo doseže nivo 1–1,5 cm pod vrhom. Kromatogram osušimo in odčitamo rezultate (Košmerl in Kač, 2007).

3.4.2 Senzorične analize mošta in vina

Senzoriko vina smo opravili po 20-točkovni Bauxbaum metodi. Največje možno število točk, ki ga vino lahko dobi, je 20. Senzorično oceno vina se izračuna tako, da se najnižja in najvišja ocena, ki jo pokuševalci dajo vinu, izločita. Končna ocena je srednja vrednost ostalih ocen, ki daje realno oceno o vinu. Po pravilniku o postopku in načinu ocenjevanja vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina (2000) poteka senzorično ocenjevanje po dopolnjenem 20 točkovni metodi Bauxbaum, kjer ocenjujemo:

- bistrost vina 0-2 točki,
- barvo vina 0-2 točki,
- vonj vina 0-4 točke,
- okus vina 0-6 točk,
- harmoničnost vina 0-6 točk.

Po tem pravilniku lahko vino dobi naslednje kakovostne oznake:

- vino, ocenjeno z najmanj 12,1 točke: namizno vino z nekontroliranim geografskim poreklom,
- vino, ocenjeno z najmanj 14,1 točke: namizno vino z geografsko oznako oziroma deželno vino PGO,

- vino, ocenjeno z najmanj 16,1 točke: kakovostno vino z zaščitenim geografskim poreklom oziroma kakovostno vino ZGP,
- vino,ocenjeno z najmanj 18,1 točke: vino ki ima zaradi ocene, v prometu oznako vrhunsko vino ZGP.

V praksi so vina z oceno med 16,0 in 17,0 kakovostna, z oceno med 17,0 in 18,0 pa visoko kakovostna. Če vino pridobi manj kot 12,1 točke, ni primerno za promet.

3.4.3 Statistična analiza

V poskusu dobljene rezultate smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke smo statistično obdelali z računalniškim programom SAS (SAS Software. Version 8.01.1999) z multiplo analizo variance – proceduro GLM (General Linear Models).

Statistični model za kemijske in senzorične parametre vin sorte 'Merlot', po zaključeni jabolčno-mlečnokislinski fermentaciji, je vključeval vplive različnih potekov jabolčno-mlečnokislinskih fermentacij (N), kar je prikazano v spodnji enačbi.

$$y_{ij} = \mu + MKF_i + e_{ij} \quad ...(2)$$

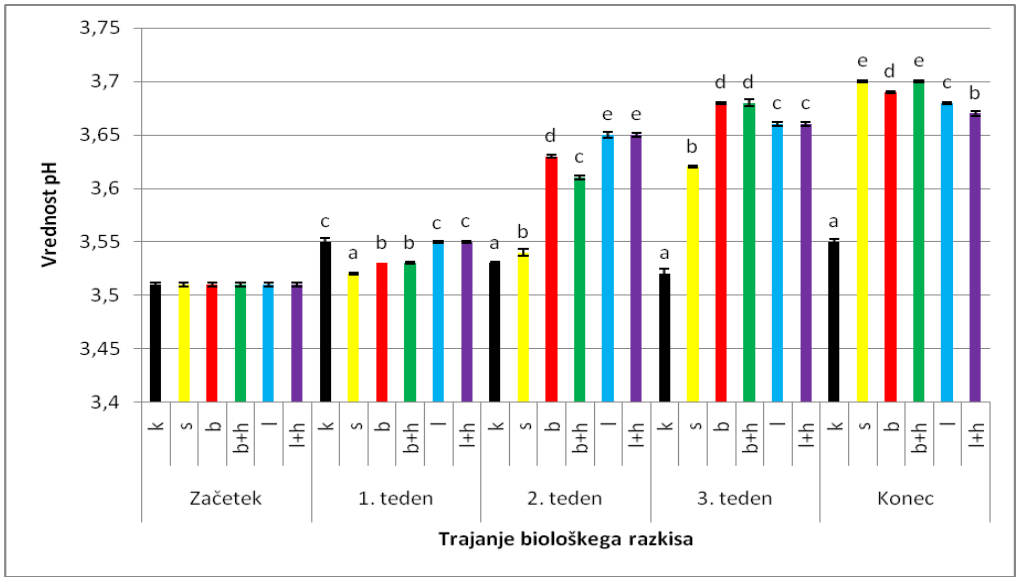
kjer pomeni y_{ij} = ij-to opazovanje; μ = povprečno vrednost; MKF – vpliv različnih potekov jabolčno-mlečnokislinskih fermentacij (kontrola, spontan, vodena MKF z dodatkom dveh različnih bakterij; z dodatkom hrane za bakterije in brez) in e_{ij} = ostanek. Srednje vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa in so primerjane 5 % tveganju (SAS Software, 1999). Rezultati meritev so prikazani kot povprečna vrednost s standardno napako. Statistično značilne razlike med obravnavanji istega vzorčenja so prikazane z različnimi črkami.

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI KEMIJSKIH ANALIZ VINA

4.1.1 Vrednosti pH vina

Vpliv pH se kaže v selektivnem delovanju na mikroorganizme, v intenzivnosti in odtenku barve, okusu ter oksidacijsko-redukcijskem potencialu (Košmerl in Kač, 2007). Na sliki 2 so prikazane povprečne pH vrednosti vina merlot glede na obravnavanje.

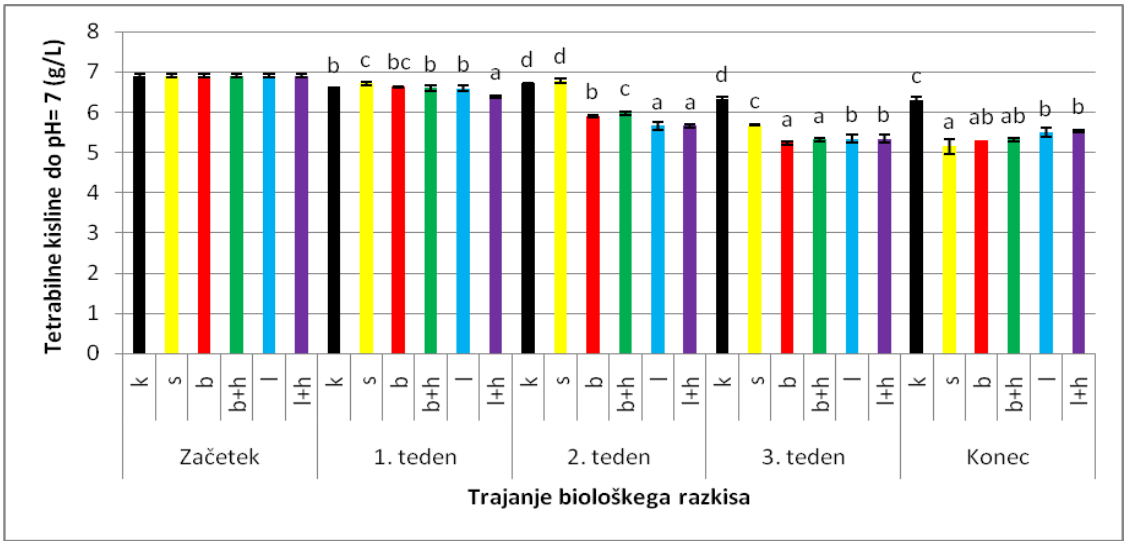


Slika 2: Povprečni pH s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini glede na način biološkega razkisa

Na sliki 2 vidimo, da se je pH vina, kjer je potekel biološki razkis, med poskusom povečal. Pred začetkom biološkega razkisa je bil pH vina 3,51. Med poskusom se je pH povečal za od 0,25 do 0,30 enote, razen pri kontroli**,** kjer je pH ostal skorajda nespremenjen. Od prvega tedna pa do konca poskusa so se med obravnavanji pokazale statistično značilne razlike. V prvem tednu biološkega razkisa smo statistično največji pH izmerili pri kontroli ter obravnavanjih »l« in »l+h«. Prav pri kontroli smo na koncu poskusa izmerili statistično najmanjše razlike, medtem ko pri obravnavanjih »s« in »b+h« največji 3,70 pH.

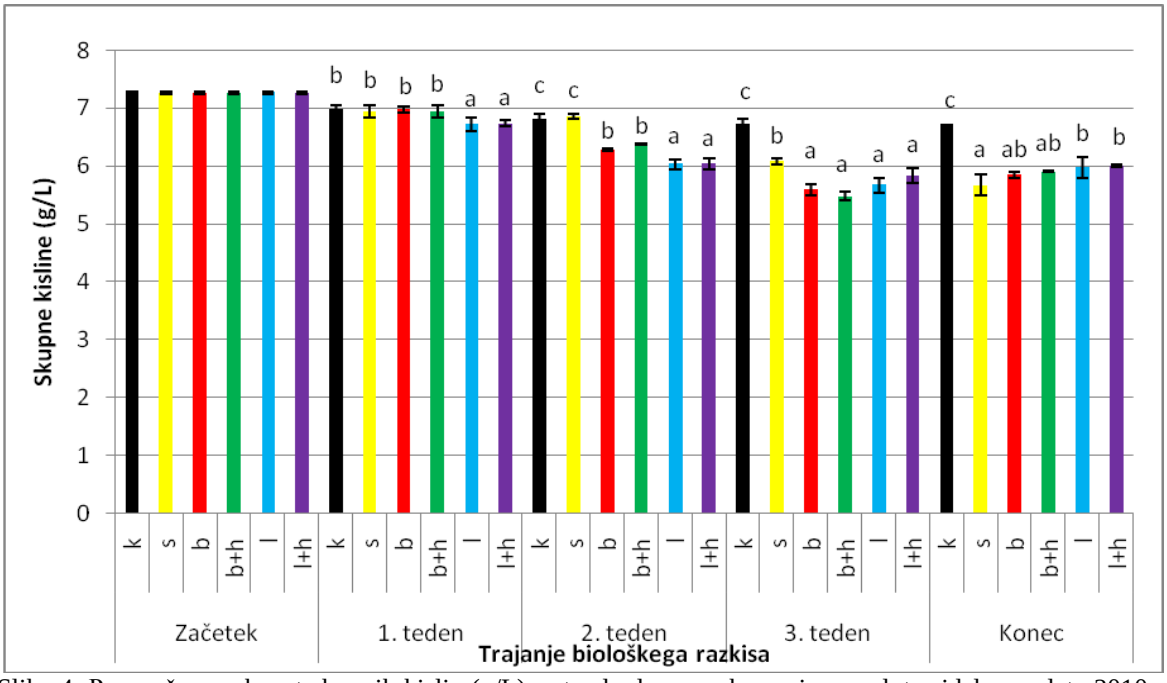
4.1.2 Vsebnost titrabilnih in skupnih kislin

Med alkoholno fermentacijo in po njej nastajajo poleg že obstoječih vinske, jabolčne in citronske kisline še ocetna, propionska, piruvačna, mlečna, jantarna, glikolna, galakturonska, glukonska, oksalna in fumarna kislina (Košmerl in Kač, 2007). Na slikah 3 in 4 so prikazane povprečne vsebnosti titrabilnih in skupnih kislin v vinu merlot glede na obravnavanje.



Slika 3: Povprečna vsebnost titrabilnih kislin (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini glede na način biološkega razkisa

Iz slike 3 je razvidno, kako so se vsebnosti titrabilnih kislin zmanjšale v vinih, kjer je potekel biološki razkis. Pred začetkom biološkega razkisa je bila vsebnosti titrabilnih kislin 6,9 g/L. Tekom poskusa so se vsebnosti skupnih kislin zmanjšale za od 1,37 do 1,75 g/L, razen pri kontroli, kjer se vsebnost skupne kisline zmanjša le za 0,50 g/L. Od prvega tedna pa do konca poskusa so se med obravnavanji pokazale statistično značilne razlike. Po biološkem razkisu smo statistično največjo vsebnost skupnih kislin izmerili pri kontroli (6,40 g/L), medtem ko najmanjšo vsebnost pri spontanem biološkem razkisu (5,15 g/L).

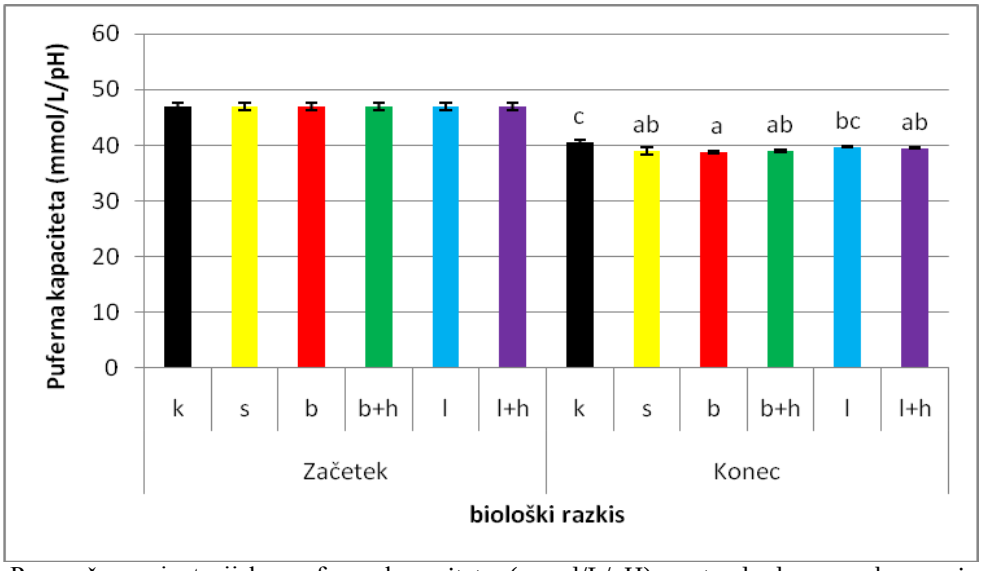


Slika 4: Povprečna vsebnost skupnih kislin (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini glede na način biološkega razkisa

Na sliki 4 je razvidno, da so se vsebnosti skupnih kislin zmanjšale v vinih, kjer je potekel biološki razkis. Pred začetkom biološkega razkisa je vsebnost skupnih kislin v vseh vinih 7,27 g/L. Tekom poskusa se je vsebnost skupnih kislin zmanjšala od 1,3 do 1,5 g/L, razen pri kontroli, kjer se je vsebnost skupnih kislin zmanjšala za 0,4 g/L. Od prvega tedna pa do konca poskusa so se med obravnavanji pokazale statistično značilne razlike. Po biološkem razkisu smo statistično največjo vsebnost skupnih kislin izmerili pri kontroli (6,82 g/L), medtem ko najmanjšo vsebnost pri spontanem razkisu (5,67 g/L).

4.1.3 Orientacijska puferna kapaciteta vina

Puferno kapaciteto vina opišemo kot lastnost vina, da se njegov pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz bistveno ne spremeni. Puferna kapaciteta je funkcija pH (Košmerl in Kač, 2007). Na sliki 4 so prikazane povprečne orientacijske puferne kapacitete vina glede na obravnavanje pred in po biološkem razkisu vina merlot.



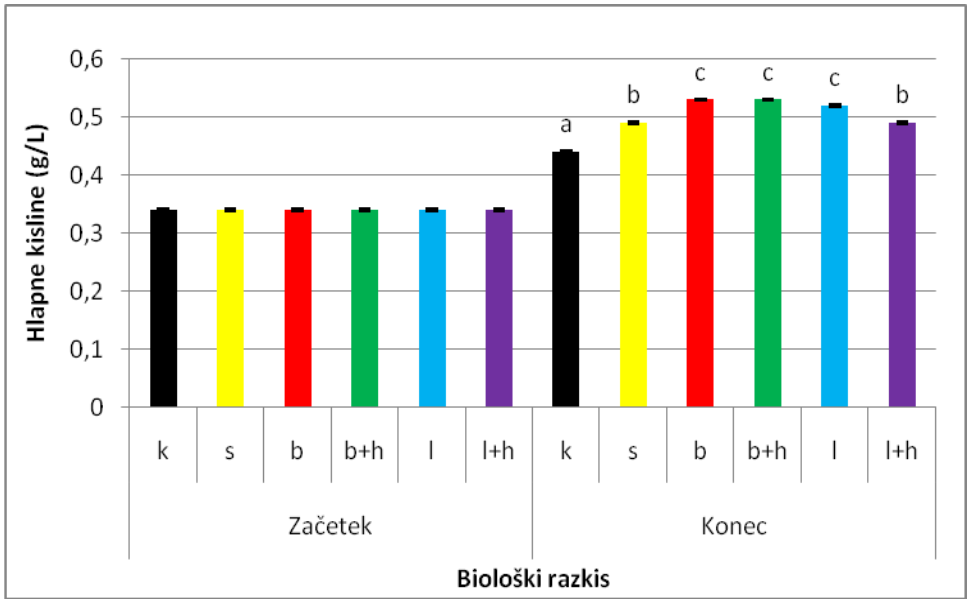
Slika 5: Povprečna orientacijska puferna kapaciteta (mmol/L/pH) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini glede na trajanje biološkega razkisa

Puferna kapaciteta se je po zaključenem biološkem razkisu v vseh vinih zmanjšala (slika 5). Pred začetkom biološkega razkisa je bila orientacijska puferna kapaciteta v vseh vinih 45 mmol/L/pH. Po končanem biološkem razkisu smo statistično največjo vsebnost orientacijske puferne kapacitete izmerili pri kontroli (40,6 mmol/L/pH), medtem ko statistično najmanjšo pri obravnavanju »b« (38,8 mmol/L/pH). Razlike v orientacijski puferni kapaciteti med ostalimi obravnavanji niso bile statistično značilne.

4.1.4 Vsebnost hlapnih kislin v vinu

Hlapne kisline v vinu so predvsem ocetna, mravljična in butanojska kislina. Običajno vsebujejo mlada vina manj hlapnih kislin kot stara. Med čisto alkoholno fermentacijo vina

s kvasovkami nastanejo kot stranski produkt manjše količine hlapnih kislin (do 0,3 g ocetne kisline/L). Pri biološkem razkisu tvorijo mlečnokislinske bakterije tudi manjše količine ocetne kisline, predvsem z razgradnjo citronske kisline (Košmerl in Kač, 2007). Na sliki 6 so prikazane povprečne vsebnosti hlapnih kislin v vinu glede na obravnavanje pred in po biološkem razkisu vina merlot.

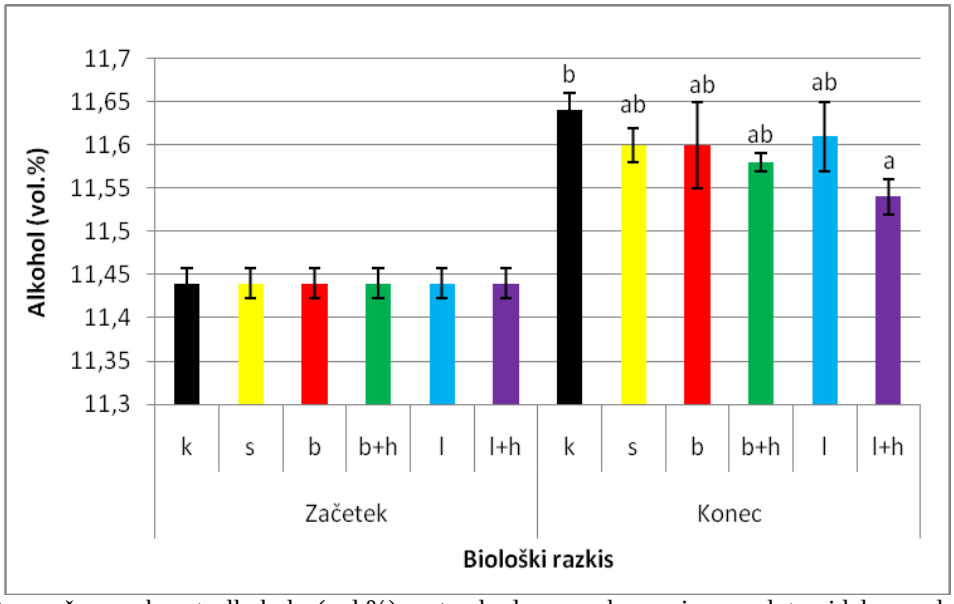


Slika 6: Povprečna vsebnost hlapnih kislin (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu

Iz slike 6 je razvidno povečanje vsebnost hlapnih kislin po zaključenem biološkem razkisu. Pred začetkom biološkega razkisa je vsebnost hlapnih kislin v vinu 0,34 g/L. Po končanem biološkem razkisu smo statistično največjo vsebnost hlapnih kislin izmerili pri obravnavanjih »b«, »b+h« in »l« (povprečno 0,53 g/L), medtem ko smo statistično najmanjšo vsebnost hlapnih kislin izmerili pri kontroli (0,44 g/L). Vsebnosti hlapnih kislin so v vseh vinih v poskusu pod senzorično zaznavo.

4.1.5 Vsebnost alkohola

Glavni produkt alkoholne fermentacije s kvasovkami je nastanek etanola iz glukoze in fruktoze v moštu. Koncentracija etanola v vinu je odvisna od sorte, načina trgatve, vsebnost fermentativnih sladkorjev (zrelosti grozdja), seva kvasovk, vrelne temperature, vsebnosti hranilnih snovi v grozdju in moštu in razmer alkoholnega vrenja (Košmerl in Kač, 2007). Na sliki 7 so prikazane povprečne vsebnosti alkohola v vinu glede na obravnavanje pred in po biološkem razkisu vina merlot.

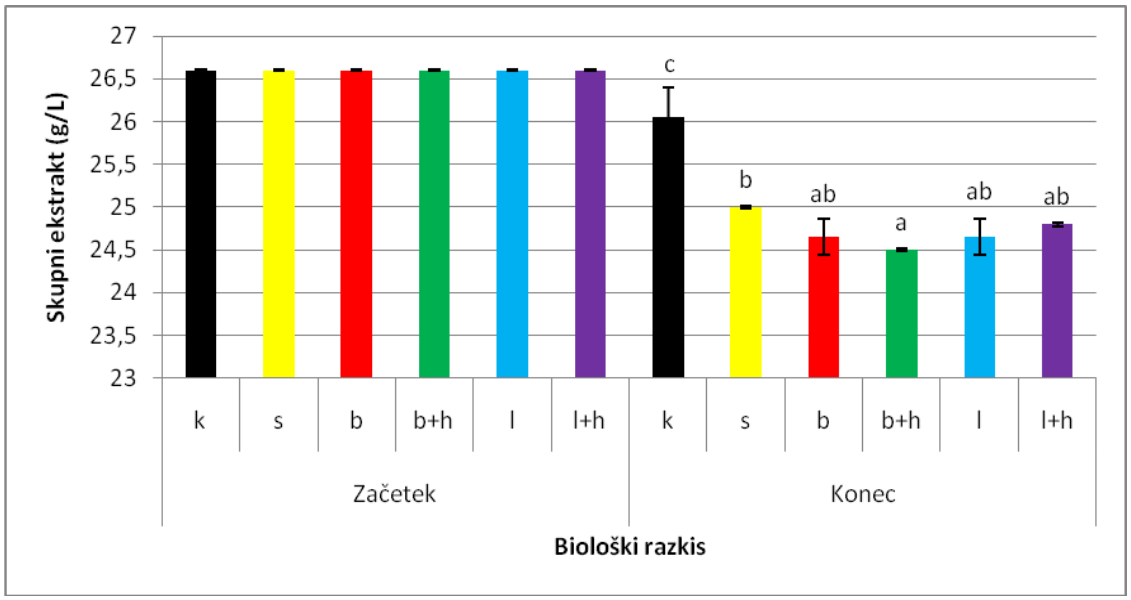


Slika 7: Povprečna vsebnost alkohola (vol.%) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanju biološkega razkisa

Vsebnost alkohola se je v vseh vinih v poskusu po biološkem razkisu povečala (slika 7). Pred začetkom biološkega razkisa je vsebnost alkohola 11,44 vol.%. Po končanem biološkem razkisu smo statistično največjo vsebnost alkohola izmerili pri kontroli (11,64 vol.%), medtem ko statistično najmanjšo pa pri obravnavanju »l+h« (11,54 vol.%). To je bila tudi najmanjša vsebnost alkohola v primerjavi z ostalimi vzorci (slika 7). Razlike v vsebnost alkohola med ostalimi obravnavanji niso bile statistično značilne.

4.1.6 Vsebnost skupnih ekstraktov

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 začetno vsebnost sladkorja v moštu, iz katerega je bilo vino pridelano. Sladkorja prosti ekstrakt (SPE) je po definiciji razlika med skupnim ekstraktom in reducirajočimi sladkorji (Košmerl in Kač, 2007). Na sliki 8 so prikazane povprečne vsebnosti skupnega ekstrakta v vinu glede na obravnavanje pred in po biološkem razkisu vina merlot.

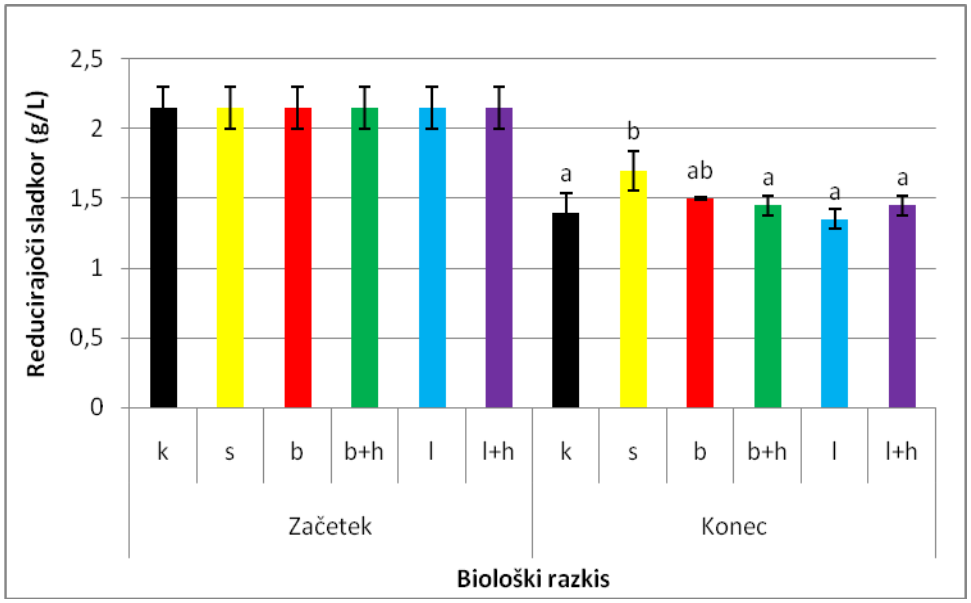


Slika 8: Povprečna vsebnost skupnega ekstrakta (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu

Iz slike 8 je razvidno zmanjšanje vsebnosti skupnega ekstrakta po zaključenem biološkem razkisu. Pred začetkom biološkega razkisa je bila vsebnost skupnega ekstrakta 26,6 g/L v vseh vzorcih. Po končanem biološkem razkisu smo statistično največjo vsebnost skupnega ekstrakta izmerili pri kontroli (26,05 g/L), medtem ko smo statistično najmanjšo vsebnost izmerili pri obravnavanju »b+h« (24,5 g/L). Razlike v vsebnosti skupnega ekstrakta med ostalimi obravnavanji niso bile statistično značilne.

4.1.7 Vsebnost reducirajočih sladkorjev

Prevladujoča sladkorja v grozdju, moštu in vinu sta glukoza in fruktoza, manj je saharoze in ostalih sladkorjev, posebno nefermentativnih pentoz. Vsebnost sladkorja v dozorevajočem grozdju je pomemben dejavnik pri določanju časa trgatve in kakovosti pridelka (Košmerl in Kač, 2007). Na sliki 9 so prikazane povprečne vsebnosti reducirajočih sladkorjev v vinu glede na obravnavanje pred in po biološkem razkisu vina merlot.

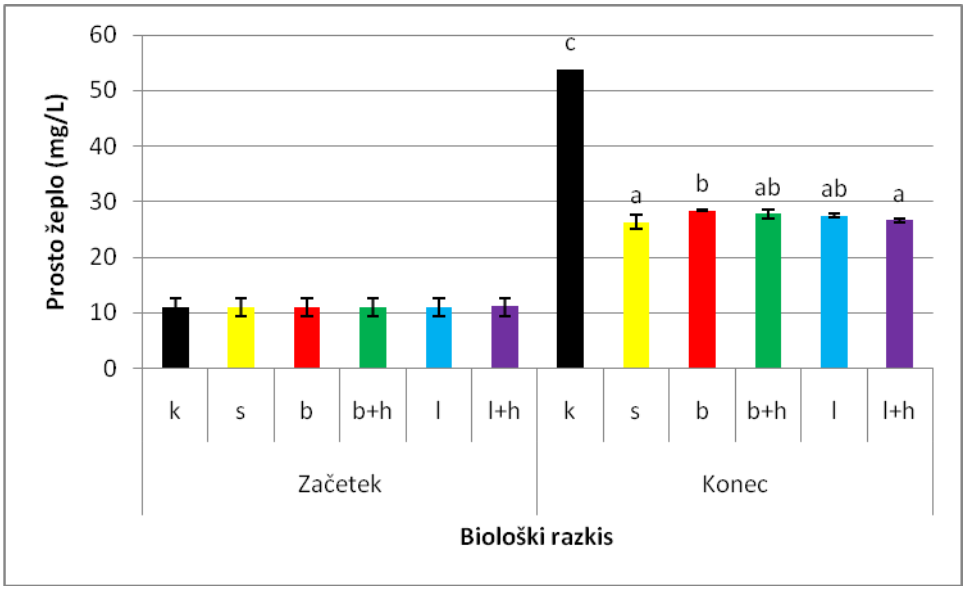


Slika 9: Povprečna vsebnost reducirajočih sladkorjev (g/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu

Vsebnost reducirajočih sladkorjev se je po biološkem razkisu zmanjšala v vseh vinih. Pred začetkom biološkega razkisa je bila vsebnost reducirajočih sladkorjev v vseh vzorcih 2,15 g/L. Po končanem biološkem razkisu smo statistično največjo vsebnost reducirajočih sladkorjev izmerili pri spontanem (1,75 g/L), medtem ko statistično najmanjšo pri obravnavanjih kontrole, »b+h«, »l« in »l+h« (1,35-1,45 g/L).

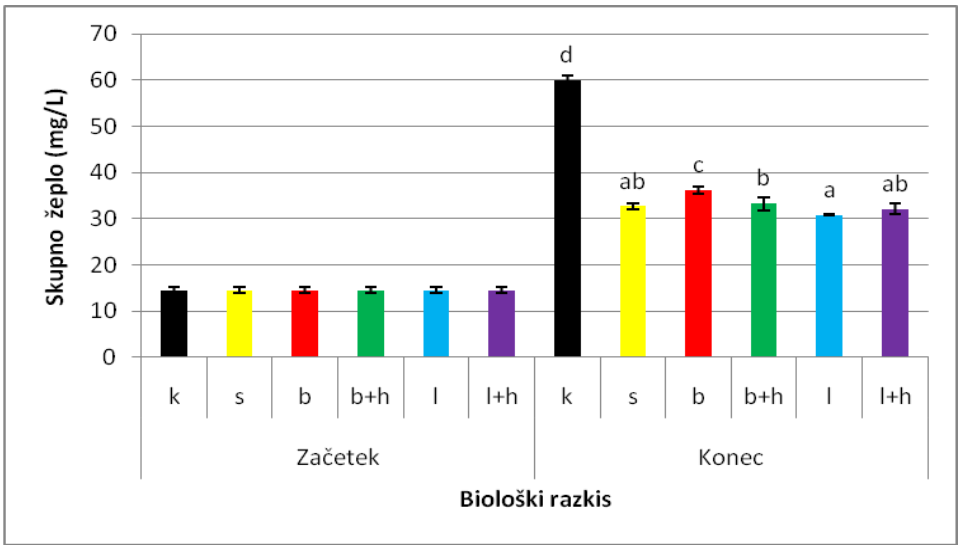
4.1.8 Vsebnost prostega in skupnega žveplovega dioksida

Prosti SO_2 je definiran kot nevezana oblika SO_2 v vinu, žveplov dioksid, ki ni vezan na acetaldehid, druge aldehide ali organske spojine. V vinu je raztopljen kot SO_2 in kot HSO_3^- Skupni SO_2 je definiran kot vsota vseh oblik žveplovega dioksida v vinu (molekularna, bisulfitna in sulfitna), bodisi v prosti ali vezani obliki. Porabniki žvepla so acetaldehid, piruvačna kislina, α–ketoglutarjeva kislina, ksiloza, galakturonska kislina, glukoza (Košmerl in Kač, 2007). Na slikah 10 in 11 so prikazane povprečne vsebnosti prostega in skupnega žvepla v vinu glede na obravnavanje pred in po biološkem razkisu vina merlot.



Slika 10: Povprečna vsebnost prostega žvepla (mg/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu

Na sliki 10 je razvidno povečanje vsebnosti prostega SO_2 v vseh vinih po končanem biološkem razkisu. Največjo vsebnost prostega SO_2 smo izmerili v vinu kontrole (54 mg/L), ki se je statistično razlikovala od obravnavanja »l+h« (26,54 g/L). Kontrolni vzorec je bil pred nastavitvijo poskusa dožveplan, zato da bi preprečili potek MKF. Razlike v vsebnosti prostega žvepla med ostalimi obravnavanji niso bile statistično značilne.

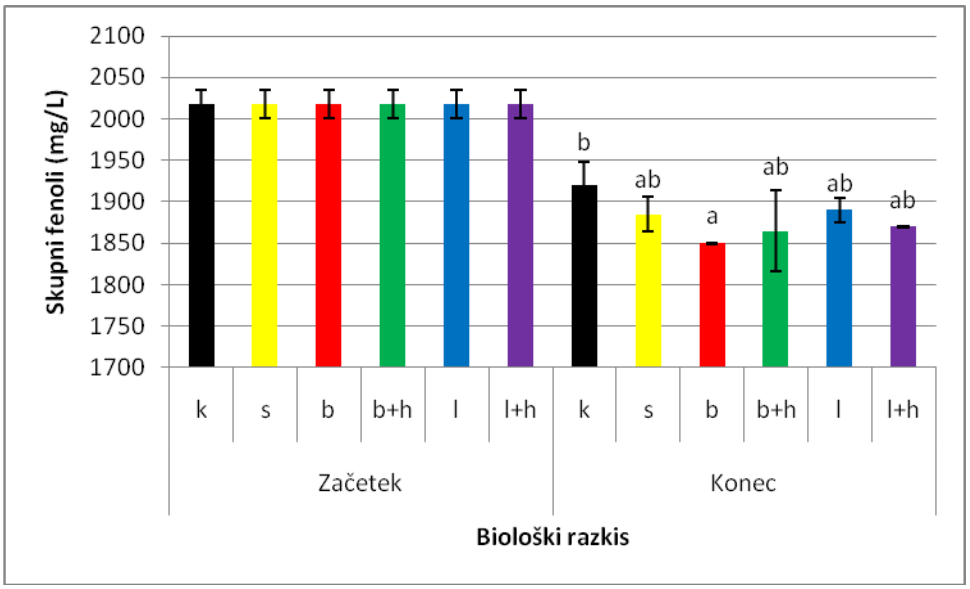


Slika 11: Povprečna vsebnost skupnega žvepla (mg/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu

Pričakovano se je tudi vsebnost skupnega SO_2 v vinu po biološkem razkisu povečala pri vseh obravnavanjih (slika 11). Največjo vsebnost skupnega SO_2 smo izmerili v vinu kontrole (60 mg/L) in se je statistično razlikovala od obravnavanja »l« (27,46 mg/L).

4.1.9 Vsebnost skupnih fenolov

Fenolne snovi so pomembne, saj prispevajo k barvi, okusu in stabilnosti vina, v večjih koncentracijah pa so odgovorne za trpek in grenek okus. V prisotnosti kisika hitro oksidirajo in povzročajo rjavenje vina (Košmerl in Kač, 2007). Na sliki 12 so prikazane povprečne vsebnosti skupnih fenolov v vinu merlot glede na obravnavanje pred in po biološkem razkisu.

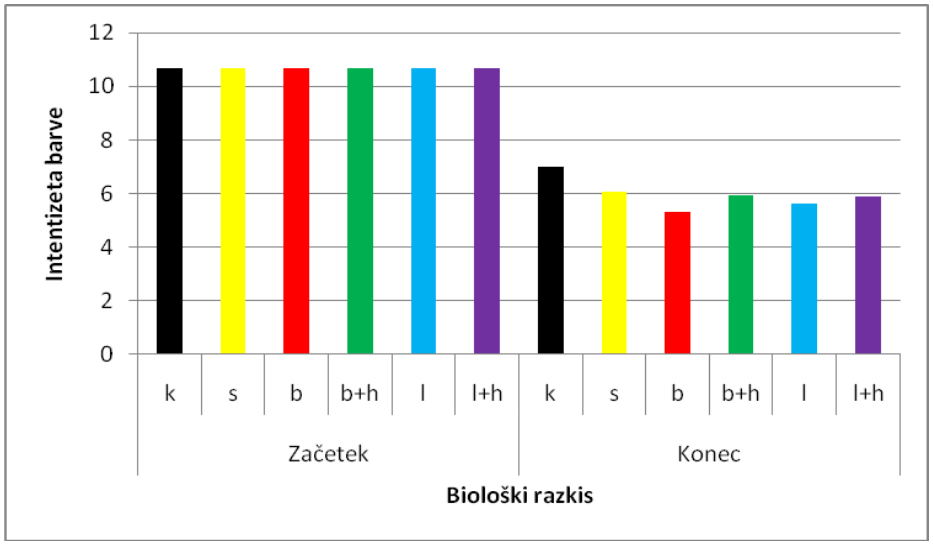


Slika 12: Povprečna vsebnost skupnih fenolov (mg/L) s standardno napako v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred začetkom in po končanem biološkem razkisu

Na sliki 12 je razvidno zmanjšanje vsebnosti skupnih fenolov po zaključenem biološkem razkisu vina merlot. Pred potekom biološkega razkisa je bila vsebnost skupnih fenolov v vseh vinih 2018 (mg/L). Največjo vsebnost skupnih fenolov je imela kontrola (1920 mg/L) in se je statistično razlikovala od obravnavanja »b« (1850 mg/L). To je bila tudi najmanjša vsebnost skupnih fenolov v primerjavi z ostalimi vzorci (slika 11). Razlike v vsebnosti skupnih fenolov med ostalimi vzorci niso bile statistično značilne.

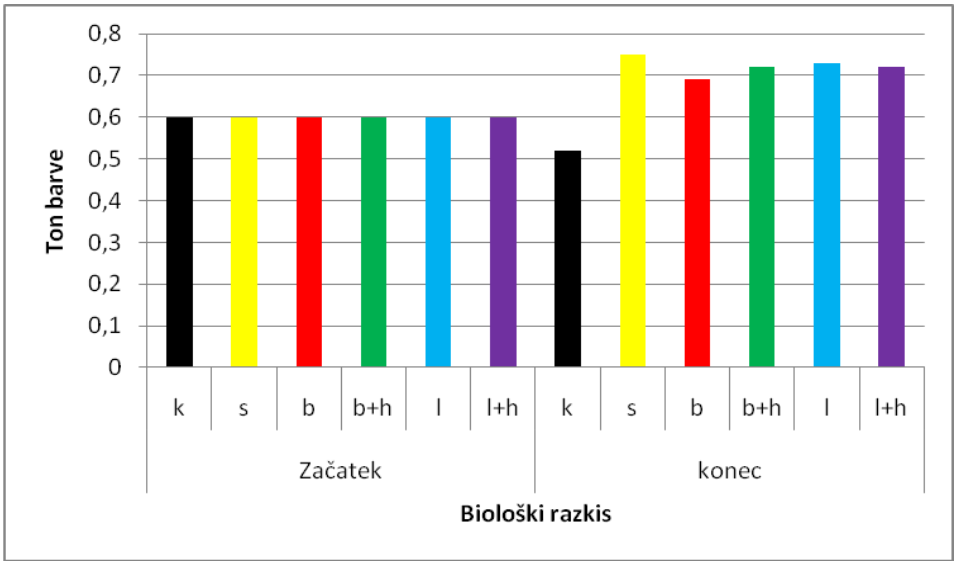
4.1.10 Barva vina

Barvo vina okarakterizirata ton (odtenek ali niansa) in intenziteta (svetlost) barve. Oba barvna parametra sta odvisna od zrelosti grozdja, trajanja maceracije, fermentacijskih razmer in zorenja ali staranja vina (Košmerl in Kač, 2007). Na slikah 13 in 14 so prikazane intenzitete in toni barve vina merlot pred in po biološkem razkisu.



Slika 13: Povprečna intenziteta barve v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred in po končanem biološkem razkisu

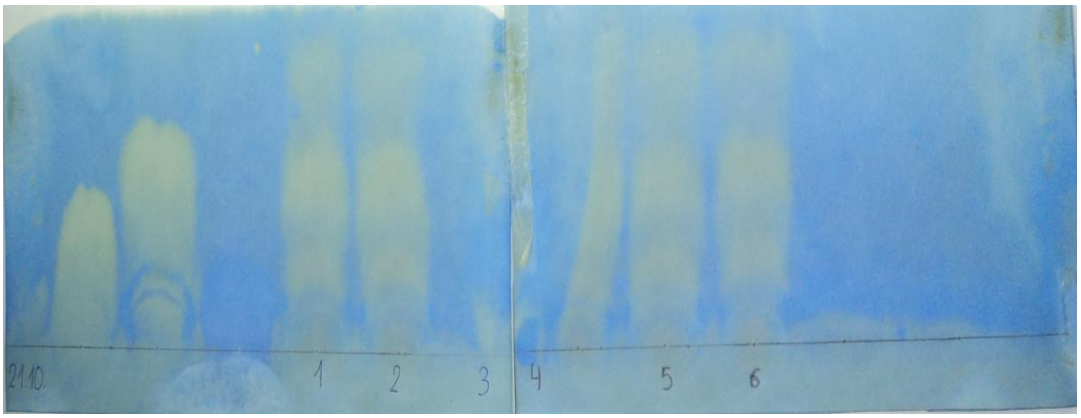
Intenziteta barve se je po končanem biološki razkisu zmanjšala v vseh vinih. Pred biološkim razkisom je bila povprečna intenziteta barve vina 10,68, medtem ko je po biološkem razkisu imelo največjo intenziteto vino kontrole (7), najmanjšo pa vino obravnavanja »b« (5,32).



Slika 14: Povprečni ton barve vina merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini pred in po končanem biološkem razkisu

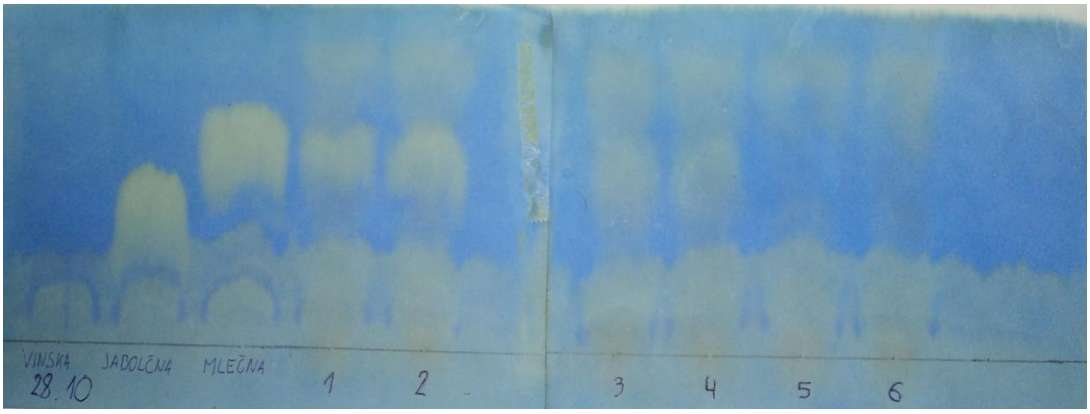
Po končanem biološkem razkisu se je ton barve v vinu merlot v povprečju povečal, kar pa ne moremo trditi za vino kontrole (slika 14). Pred biološkim razkisom je bil povprečni ton vina 0,60. Po biološkem razkisu se je ton barve vina kontrole zmanjšal za 0,08, medtem ko se je pri ostalih obravnavanjih le-ta povečal za od 0,09 do 0,12.

4.1.11 Rezultati spremljanja biološkega razkisa s papirno kromatografijo



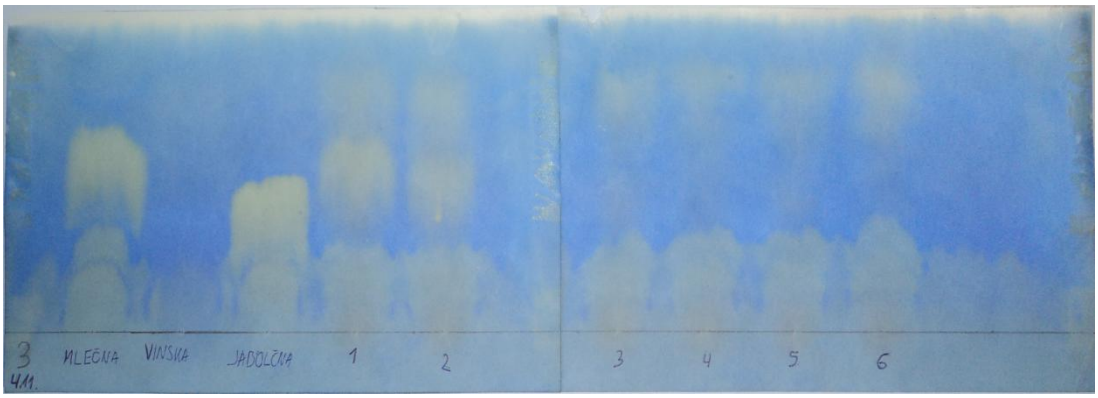
Slika 15: Kromatogram organskih kislin po prvem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini

Slika 15 prikazuje rezultate po prvem tednu spremljanja biološkega razkisa v vzorcih vina. Prvi trije vzorci so standardne raztopine jabolčne, mlečne in vinske kisline, nato pa si sledijo vzorci v naslednjem vrstnem redu: 1 (kontrola), 2 (spontan), 3 (»b«), 4 (»b+h), 5 (»l«) in 6 (»l+h«). Na kromatografskem papirju se vidi počasen začetek biološkega razkisa pri vseh vzorcih.



Slika 16: Kromatogram organskih kislin po drugem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini

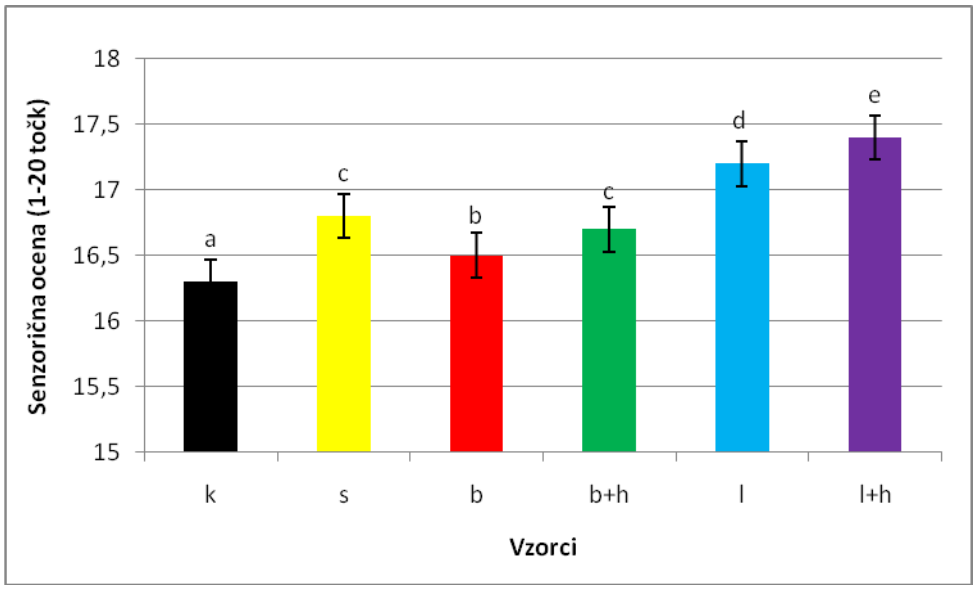
Slika 16 prikazuje rezultate po drugem tednu spremljanja biološkega razkisa v vzorcih vina. Pričakovano se je vsebnost mlečne kisline povečala, medtem ko se je vsebnost jabolčne kisline zmanjšala, kar potrjuje uspešnost poteka biološkega razkisa v vinih 2, 3, 4, 5, 6. Pri vzorcu 1 (kontrola) ni bilo sprememb.



Slika 17: Kromatogram organskih kislin po tretjem tednu spremljanja biološkega razkisa v vinu merlot pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini

Slika 17 prikazuje rezultate po tretjem tednu spremljanja biološkega razkisa v vzorcih vina. V treh tednih se je vsa jabolčna kislina pretvorila v mlečno kislino v vzorcih, kjer je potekel biološki razkis. Samo pri vzorcu vina kontrole je vsebnost jabolčne kisline ostala nespremenjena, kar je bilo pričakovano.

4.2 SENZORIČNA ANALIZA VINA MERLOT



Slika 18: Povprečna senzorična ocena vina merlot po metodi Buxbaum, pridelanem leta 2010 v Vipavski dolini

Vina v poskusu so pri ocenjevanju dobila od 16,3 do 17,4 točk. Najbolje ocenjeno vino je bilo obravnavanja »l+h« (17,4) in se je statistično najbolj razlikovalo od kontrole (16,3), kjer biološki razkis ni potekel. To je tudi najmanjša ocena vina v primerjavi z ostalimi vzorci. Obravnavanji »b« (16,5) in »l« (17,2) sta v primerjavi z obravnavanji »b+h« in »l+h« dobili za 0,2 točki večjo oceno.

5 RAZPRAVA

5.1 KEMIJSKA ANALIZA VINA

5.1.1 Vrednost pH

Vrednost pH se je med biološkim razkisom povečala, kar bi lahko bila posledica pretvorbe mlečne iz jabolčne kisline. Povečanja pH vina pri kontroli ne prepisujemo biološkemu razkisu, ampak izločanju vinskega kamna, predvsem zaradi hranjenja vina pri 7 °C. Pri spontanem biološkem razkisu in obravnavanjih »b«, »b+h«, »l« in »l+h« se je pH povečal za 0,19 na končnih 3,70. Pri pH vina smo med spontanim in vodenim biološkim razkisom izmerili majhne razlike. Prav tako tudi dodatek hrane k starterskim kulturam MKB ni znatno spremenil pH, je pa pospešil dvig pH med poskusom. Pri spontanem biološkem razkisu prvi in drugi teden MKB še niso bile aktivirane, delovati začno šele tretji teden. Pri vodenih bioloških razkisih MKB delajo že 2. teden, vendar se do konca izenačijo s MKB spontanega razkisa. Po končanem biološkem razkisu so bili pH večji od 3,50 kar predstavlja nevarnost za razvoj kvarljivcev MKB (Vrščaj Vodušek, 2007).

5.1.2 Vsebnost titrabilnih in skupnih kislin

Pred nastavitvijo poskusa je bila koncentracija titrabilnih kislin v vinu merlot 6,9 g/L. Vsebnost titrabilnih kislin se je v vseh vzorcih po pričakovanjih zmanjšala. Pri kontroli se je prvi teden vsebnost titrabilnih kislin zmanjša za 0,33 g/L in se do konca poskusa skorajda ne spremeni več. Posledica zmanjšanja vsebnosti titrabilnih kislin je izločanje vinskega kamna. Pri spontanem biološkem razkisu prvi in drugi teden praktično ni zaznati zmanjšanja vsebnosti kislin, kar se je pokazalo v tretjem tednu, ko se je le-ta zmanjšala na končnih 5,15 g/L. Pri vodenem biološkem razkisu »b« se je vsebnost titrabilnih kislin zmanjšala na 5,29 g/L, pri vodenem biološkem razkisu »l+h« pa na 5,49 g/L. Pri vzorcih »b+h« in »l+h«, kjer smo k MKB dodali hrano za bakterije, so bile zelo majhne razlike v vsebnosti titrabilnih kislin.

Za skupne kisline velja enako kot za titrabilne kisline. Pred postavitvijo poskusa je bila koncentracija skupnih kislin v vseh vzorcih 7,27 g/L. Ob koncu poskusa se je vsebnost skupnih kislin zmanjšala pri vseh vzorcih (slika 2 in 3).

5.1.3 Orientacijska puferna kapaciteta

Začetna orientacijska puferna kapaciteta je bila 47 mmol/L/pH v vseh vzorcih. Tekom poskusa se je po pričakovanjih zmanjšala. Po končanem biološkem razkisu ima najmanjšo orientacijsko puferno kapaciteto vzorec s spontanim biološkim razkisom, največjo pa kontrola. Razlika med njima je bila 1,2 mmol/L/pH. Pri ostalih vzorcih se je orientacijska puferna kapaciteta prav tako zmanjšala, vendar med vzorci ni bilo bistvenih razlik. Iz podatkov o titrabilnih kislinah in puferni kapaciteti je razvidno, da ima največjo puferno

kapaciteto kontrola, kjer so se titrabilne kisline med poskusom najmanj zmanjšale. Dobljeni rezultati tako v celoti sovpadajo s pričakovanimi.

5.1.4 Hlapne kisline

Vsebnost hlapnih kislin se je po končanem biološkem razkisu v skladu s pričakovanji povečala pri vseh vzorcih. Kljub povečanju hlapnih kislin so analizirani vzorci vsebovali veliko manj kot 1,2 g/L hlapnih kislin, kar je zakonsko določena meja za kakovostna in vrhunska vina z geografskim poreklom (Pravilnik o pogojih … , 2004). Začetno vsebnost 0,34 g/L, so prekoračili vsi vzorci. Tako so dosegli največjo vsebnost hlapnih kislin obravnavanji »b« in »b+h« (0,53 g/L), sledi »l« (0.52 g/L) ter »l+h« in spontan z 0,49 g/L. Ugliano in Moio (2005) navajata, da so pričakovane povečane vsebnosti hlapnih kislin zaradi poteka biološkega razkisa okrog 0,42 g/L. Vsebnost hlapnih kislin se je povečala tudi pri kontroli, vendar to pripisujemo možnosti rahle oksidacije.

5.1.5 Alkohol in reducirajoči sladkorji

Vsebnost alkohola se je po končanem biološkem razkisu povečala, medtem ko se je vsebnost reducirajočih sladkorjev zmanjšala v vseh vzorcih. Vino je pred potekom biološkega razkisa vsebovalo 11,44 vol.%. Po končanem biološkem razkisu ga je največ vseboval kontrolni vzorec (11,64 vol.%), zaradi tega je imel tudi ta vzorec najmanjšo vsebnost reducirajočih sladkorjev. To pripisujemo možnosti alkoholnega povretja fruktoze zaradi nezadostne zaščite z žveplom. Najmanjšo vsebnost alkohola ima obravnavanje »l+h« (11,54 vol.%), ostala obravnavanja pa imajo okrog 11,60 vol.% alkohola. Med vzorci z različnimi sevi MKB ter dodatki hranil k MKB ni bilo bistvenih razlik pri končni vsebnosti alkohola. Po končanem biološkem razkisu so pričakovane večje vsebnosti alkohola zaradi etanola kot stranskega produkta metabolizma sladkorjev pri mlečnokislinskih bakterijah (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

5.1.6 Skupni ekstrakt

Vsebnost skupnega ekstrakta se je zmanjšala po končanem biološkem razkisu v vseh vzorcih. Vino je pred potekom biološkega razkisa vsebovalo 26,6 g/L skupnega ekstrakta. Kontrolni vzorec, ki ni bil podvržen aktivnosti MKB, je imel na koncu poskusa največjo vsebnost ekstrakta, saj ni bilo razkisa (26 g/L), sledi mu vzorec spontanega razkisa (25 g/L), ter obravnavanja »b«, »b+h«, »l« in »l+h«, pri katerih se zmanjša vsebnost ekstrakta na 24,5 do 24,8 g/L. Do zmanjšanja skupnega ekstrakta v vinih, kjer je potekel biološki razkis, je prišlo predvsem zaradi zmanjšanja glicerolov, kislin sladkorjev in organskih soli, pri kontroli pa na račun izločanja kalijevega hidrogentartrata (Vrščaj Vodušek, 2007). Dokazali smo, da je imel biološki razkis statistično značilen vpliv na vsebnost ekstrakta v vinu.

5.1.7 Prosti in skupni žveplov dioksid

Pred potekom biološkega razkisa je bila vsebnost prostega žvepla 11 g/L, vsebnost skupnega žvepla pa 14,5 g/L v vseh vzorcih. Pred nastavitvijo poskusa smo kontrolni vzorec žveplali z 10 g/hL $K_2S_2O_5$, da bi preprečili potek biološkega razkisa. Po končanem biološkem razkisu smo vse vzorce ponovno dožveplali. Kontrolni vzorec je vseboval 53 g/L prostega žvepla in 60 g/L skupnega žvepla, ostali vzorci pa so vsebovali od 26 do 28 g/L prostega žvepla in od 31 do 36 g/L skupnega žvepla. S končnim žveplanjem smo pri vzorcih popolnoma prekinili delovanje MKB in ostalih mikroorganizmov ter jih pripravili na senzorično oceno.

5.1.8 Skupni fenoli

Vsebnost skupnih fenolov se je po končanem biološkem razkisu zmanjšala v vseh vinih, največ pri obravnavanju »b« za največ 168 mg/L, sledijo mu »b+h« z 153 mg/L, »l+h« z 148 mg/L, spontan z 133 mg/L ter »l« z 128 mg/L.. Najmanj se je zmanjšala vsebnost skupnih fenolov pri kontroli, in sicer za 98 mg/L. Zmanjšanje vsebnosti skupnih fenolov je posledica absorbcije le-teh na MKB, kjer je potekel biološki razkis (Ambrožič, 2006).

5.1.9 Barva vina

5.1.9.1 Intenziteta barve

Intenziteta barve se je zmanjšala po končanem biološkem razkisu v vseh vzorcih. Povprečna intenziteta barve vina je bila 10,68. Najmanjšo intenziteto barve je imelo obravnavanje »b« 5,32, največjo pa kontrola 7,00. Med ostalimi obravnavanji so bile zelo majhne razlike. Zmanjšanje intenzitete barve rdečega vina povezujejo s spremembo pH (Čuš, 2012). Zmanjšanje intenzitete barve v kontrolnem vzorcu je verjetno posledica žveplanja vina pred nastavitvijo poskusa, medtem ko je zmanjšanje intenzitete barve v vinih, kjer je potekel biološki razkis, posledica zmanjšanja vsebnost acetaldehida, ki je odgovoren za tvorbo stabilnih barvnih kompleksov z antocianini (Ambrožič, 2006). Zaradi tega pride do izločanja antocianov.

5.1.9.2 Ton barve

Ton barve se je povečal po končanem biološkem razkisu pri skoraj vseh vinih, razen pri kontroli, kjer se je zmanjšal. Glede na začetni ton barve se je najbolj povečal pri vinu s spontanim BR, in sicer za 0,15, pri obravnavanjih »b«, »b+h«, »l« in »l+h« pa za od 0,09 do 0,12. Razlik v tonu barve v vinih, kjer smo uporabili različne seve MKB in hranila, ni bilo. Pri kontroli je bil ton barve vina manjši kot na začetku (0,6), saj se je zmanjšal za 0,18. Zmanjšanje tona barve pripisujemo žveplanju vina pred začetkom poskusa.

5.2 SENZORIČNA ANALIZA VINA

Najslabše ocenjeno je bilo vino kontrole, ki je dobilo 16,3 točke. Vino je bilo ocenjeno kot dokaj sortno prepoznavno, sadno, vendar z izstopajočo grobo kislino ter grenkim in trpkim okusom. Barva vina je bila opisana kot presvetla.

Vini obravnavanj »b« in »b+h« sta bili ocenjeni s 16,5 in 16,7. Vino »b« je bilo opisano kot vino zadržanega vonja (zaznajo se tudi reduktivne note), na okusu je bilo dokaj harmonično, vendar trpko. Vino »b+h« je bilo podobno opisano kot predhodno, vendar z nekoliko manjšo intenzivnostjo zaznave, za kar si je prislužilo za 0,2 večji odbitek točk.

Vino, kjer je potekel spontani biološki razkis, je dobilo 16,8 točk. Bilo je »nečisto« v vonju in premalo sortno. V okusu je bilo vino dokaj harmonično in bolj polno v primerjavi s prejšnjimi vini. Zaznana je bila trpkost, tako v okusu kot v pookusu.

Sledita še vini z vodenim biološkim razkisom. Vino »l« je dobilo skupaj 17,2 točk. V opisu je zelo podobno vinu »l+h«, vendar si je prislužilo večji odbitek pri harmoniji in okusu.

Najboljše ocenjen je bil vzorec »l+h«, in sicer s 17,4 točkami. Vzorec je bil sortno prepoznaven s prijetno sadno cvetlico. Na okusu je bilo vino harmonično z nežno, mlečno kislino. Skratka v celoti prijetno, harmonično vino.

6 SKLEPI

- Vrednosti pH so se pri vseh vzorcih povečale, najbolj pri spontanem biološkem razkisu, najmanj pri kontroli.
- Biološki razkis prispeva k zmanjšanju skupnih (titrabilnih) kislin v vinu v povprečju za 1,7 g/L, posredno se prav tako zmanjša vsebnost puferne kapacitete vina.
- Vsebnosti hlapnih kislin so se po biološkem razkisu povečale, vendar ne presegajo kemijsko dovoljene meje in praga senzorične zaznave.
- Vsebnost skupnih fenolov in ekstrakta se je zmanjšala pri vseh vzorcih, najmanj pri kontroli, kjer ni potekal biološki razkis.
- Intenzivnost barve se je pri vseh vzorcih zmanjšala, ton barve pa se je povečal, razen pri kontroli.
- Vodeni biološki razkis z dodatkom starterskih kultur MKB je potekel hitreje v primerjavi s spontanim biološkim razkisom.
- Vodeni biološki razkis z uporabo starterskih kultur MKB je v primerjavi z nepredvidljivim spontanim biološkim razkisom dal boljše kemijske in senzorične rezultate.
- Uporaba hranil za MKB se je izkazala kot pomemben dejavnik pri vodenih bioloških razkisih. Vzorci so bili ocenjeni za 0,2 točki več od vzorcev brez dodatka hrane za MKB.
- Spontani biološki razkis je dal boljše rezultate v primerjavi z vodenim biološkim razkisom z MKB ENOFERUM BETA.
- Kot najboljša kombinacija se je tako izkazala izbira vodenega biološkega razkisa z uporabo MKB LALVIN VP41 in hrane ACTI-ML, za MKB. Ta vzorec vina je dosegel oceno 17,4 točke, kar predstavlja senzorično visoko kakovost.

7 POVZETEK

Namen poskusa je bil ugotoviti vpliv biološkega razkisa pri vinu merlot na fizikalno-kemijske in senzorične lastnosti vina.

Za izvedbo poskusa smo izbrali sorto 'Merlot' iz vipavskega vinorodnega okoliša. Letnik 2010 ni bil optimalen za dosego vrhunske kakovosti grozdja, saj je bila zaradi velikih količin padavin v času dozorevanja grozdja kakovost grozdja slabša.

Grozdje sorte 'Merlot', pridelano iz lastnega vinograda, smo najprej specljali in zdrozgali. Sledila je osemdnevna maceracija z alkoholnim vrenjem v vinifikatorju. V drozgo so bile dodane kvasovke vrste UVAFERUM 229 in hrana za kvasovke. Po končani alkoholni fermentaciji smo mlado vino prepeljali v tehnološke prostore Biotehniške fakultete. Tu smo ga razdelili na šest enakih delov in zastavili poskus biološkega razkisa.

Biološki razkis smo vodili z dvema različnima sevoma mlečnokislinskih bakterij (ENOFERM BETA in VP41 LALVIN) ter vplivom dodatka hrane za bakterije (ACTIL-ML) in brez. Te vzorce smo primerjali z vinom brez biološkega razkisa (kontrola) in vinom, kjer je stekel spontani biološki razkis. Vzorce spontanega in vodenega biološkega razkisa smo hranili pri 19–20°C, kontrolo pa pri 7°C, da smo preprečili biološki razkis.

Opravili smo osnovne fizikalno-kemijske analize vina in senzorično ocenili vino po zaključenem poskusu. Ugotovili smo, da biološki razkis značilno vpliva na kemijsko sestavo in na sortno aromo vina. Voden biološki razkis z dodatkom starterskih kultur MKB je potekel hitreje v primerjavi s spontanim biološkim razkisom.

V vzorcih, kjer je potekel biološki razkis, se je vsebnost titrabilnih kislin zmanjša zaradi razgradnje jabolčne v milejšo mlečno kislino, posledično pa se je pH povečal. Prav tako so se tudi vrednosti za orientacijsko kapaciteto zmanjšale v skladu s pričakovanji. Vsebnost hlapnih kislin se je pri vseh vzorcih povečala, najmanj pri kontroli, kjer ni potekel biološki razkis, vendar niso presegle praga kemijske in senzorične zaznave, ampak so skupaj z drugimi hlapnimi komponentami vina (estri in višji alkoholi) pozitivno vplivale na aromo.

Razlike so se pokazale med sevi različnih mlečno-kislinskih bakterij. Boljše rezultate, tako kemijske kot senzorične smo zaznali pri vodenem biološkem razkisu z MKB LALVIN VP41. Dodatek hranil k MKB se je izkazal tudi kot pomemben dejavnik. Bakterije začnejo hitreje razkis že kmalu po dodatku hranil. Vzorca vina z dodatkom hranil za MKB sta dosegla za 0,2 točki boljšo oceno v primerjavi z vzorcema brez. Voden biološki razkis ima prednost v primerjavi s spontanim. Te prednosti so predvsem v možnosti kontroliranja razmer in večjem nastanku želenih komponent.

Z biološkim razkisom smo dobili vina, ki so bolj sadna, bogatejša na aromi, kislinsko uravnotežena ter polna in harmonična v okusu.

8 VIRI

Ambrožič M. 2006. Vpliv biološkega razkisa na nastanek hlapnih komponent vina. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 68 str.

Bavčar D. 2009. Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas: 286 str.

Čuš F. 2012. Biološki razkis in nevarnost pojava biogenih aminov v vinu. Ljubljana. Kmečki glas, 69, 3: 10

Hrček L., Korošec Koruza Z. 1996. Sorte in podlage vinske trte. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas: 191 str.

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

König H., Unden G., Fröhlich J. 2009. Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Heidelberg, Springer: 522 str.

Fleet G.H. 2002. Wine microbiology and biotechnology. London, Taylor & Francis: 510 str.

Košmerl T. 2003. Pomen hranilnih snovi za optimalen potek alkoholne in jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. V: Vinarski dan, Ljubljana. 12. Junij 2003. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 13-35

Košmerl T. 2004. Biološki razkis (MLF). Brstika: Priloga tednika Kmečki glas za sadjarje in vinogradnike, 3, 1: 20-22

Košmerl T. 2007. Alkoholna fermentacija mošta: izbrana poglavja pri predmetu Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 95 str.

Košmerl T. 2010. Biološki razkis vina: Permanentno podiplomsko izobraževanje s področja vinarstva za kmetijske svetovalce. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11 str.
http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2752/Bioloski_razkis_vina.

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

Bou M., Brown N., Costello P., Degre R., 2005. Malolactic fermentation in wine: understanding the sciences and the practice. Mont real, Lallemand Corporation: 170 Str.
http://www.lallemandwine.com/IMG/pdf_LALLEMAND_MLF_IN_WINE

Lallemand. 2007. Natural solutions that add value to the world of winemaking http://www.lallemandwine.com/spip.php?rubrique3&id_mot=20&lang=en (nov. 2011)

Lallemand. 2010a. Malolactic Bacteria Nutrites. http://www.lallemandwine.us/products/nutrient_strains.php (nov. 2011)

Lallemand. 2010b. Malolactic Bacteria Selected from Nature. http://www.lallemandwine.us/products/bacteria_strains.php (nov. 2011)

Lallemand. 2010c. Yeast Selected from nature. http://www.lallemandwine.us/products/yeast_strains.php (nov. 2011)

Nemanič J. 1996. Spoznajmo vino. Ljubljana. Kmečki glas: 165 str.

Pravilnik o postopku in načinu ocenjevanja vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina. 2000. Ur.l RS, št. 32/00

Pravilnik o spremembah in dopolnitvah pravilnika o postopku in načina ocenjevanja mošta, vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina. 2001. Ur.l RS, št. 99/01

Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za pridelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za pridelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Ur.l RS, št. 112/05

Ribéreau-Gayon P., Dubourideu D., Doneche B., Lonvaud A. 2000a. Handbook of enology. Vol. 1: The microbiology of wine and vinification. Chichester, John Wiley&Sons, Ltd: 454 str.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Doubouridieu D. 2000b. Handbook of enology. Vol. 2: The chemistry of wine stabilization and treatments. Chichester, John Wiley&Sons, Ltd: 423 str.

Rodriguez-Delgado M.A., Gonzalez-Hernandez G., Conde-Gonzalez J.E., Perez-Trujillo J.P. 2002. Principal component analysis of the polyphenol content in yung red wine. Food Chemistrey, 78: 523-532

Šikovec S. 1993. Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, Kmečki glas: 265 str.

Ugliano M., Moio L. 2005. Changes in the concentration of yeast-derived volatile compounds of red wine during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. Jurnal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 26: 10134-10139

Vodovnik T. Vodovnik A. 1999. Nasveti za vinarje. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 265 str.

Vrhovšek U. 2000. Bioaktivne polifenolne spojine grozdja in vina. V: Vino-hrana, zdravje 2000. Strokovni posvet. Zdenko Rajher (ur.). Ljubljana, Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo: 42-56

Vrščaj Vodušek T. 2007. Vpliv sorte, letnika in dodatka starterske kulture v mošt ali vino na potek jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 166 str.

Wondra M. 2004. Zapiski s predavanj pri predmetu Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo (osebni vir, 15. Maj. 2010)

Wondra M. 2005. Zapiski s predavanj pri predmetu Enologija. . Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo (osebni vir, 15. Maj. 2010)

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju doc. dr. Mojmirju Wondri za vso strokovno pomoč, vodstvo in koristne nasvete pri nastanku diplomskega dela.

Zahvaljujem se tudi somentorju doc. dr. Denisu Rusjanu za napotke pri nastajanju diplomskega dela, ter strokovni pregled samega dela.

Za pregled diplomske naloge se zahvaljujem prof. dr. Zori Korošec-Koruzi.

Hvala tudi doc. dr. Tatjani Košmerl in dr. Klemenu Lisjaku za priporočeno literaturo in nasvete.

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

Zahvaljujem se doc. dr. Lei Gašperlin za statistično obdelavo podatkov.

Posebno bi se rad zahvalil mojim staršem ki sta mi omogočila študij in me ves čas podpirala. Nepogrešljive so bile življenjske izkušnje, razumevanje in moralna podpora vseh domačih v času študija.

Najlepša hvala vsem!