

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Davor KRISTANČIČ

**VPLIV DODATKA HRANIL ZA KVASOVKE NA IZBOLJŠANJE
PARAMETROV KAKOVOSTI VIN SORTE REBULA**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE INFLUENCE OF YEAST NUTRIENTS ON IMPROVEMENT OF
REBULA WINE QUALITY PARAMETERS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2016

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

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. prof. dr. Tatjana Košmerl in za recenzentko prof. dr. Polono Jamnik.

Mentorica: prof. dr. Tatjana Košmerl

Recenzentka: prof. dr. Polona Jamnik

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora: 28. 9. 2016

Podpisani izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Davor Kristančič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 663.221:582.282.23:663.252.4:543.92(043)=163.6
- KG rebula/mošť/vinske kvasovke/starterske kulture/hranila za kvasovke/alkoholna fermentacija/vino/fizikalnokemijske lastnosti/senzorične lastnosti
- AV KRISTANČIČ, Davor
- SA KOŠMERL, Tatjana (mentorica) / JAMNIK, Polona (recenzentka)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2016
- IN VPLIV DODATKA HRANIL ZA KVASOVKE NA IZBOLJŠANJE PARAMETROV KAKOVOSTI VIN SORTE REBULA
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XI, 51 str., 6 pregl., 19 sl., 5 pril., 35 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Želje vinarjev po povečanju kinetike alkoholne fermentacije in boljših senzoričnih lastnostih pridelanega vina vodijo k uporabi komercialnih sevov kvasovk in hranil zanje, ki so v zadnjih letih postala praksa skoraj vsakega vinarja. Namen diplomskega dela je bil ugotoviti, ali dodatek hranila za kvasovke bistveno vpliva na končne analitske rezultate, zlasti na senzorično tako pridelanega vina. V poskusu smo uporabili mošť sorte rebula, letnik 2008, vinorodni okoliš Brda, Slovenija. Poskus je temeljil na uporabi dveh različnih sevov komercialnih kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* ter uporabi dodatka hranil za kvasovke. Alkoholna fermentacija štirih vzorcev vin je potekala 27 dni s temperaturo fermentacijskega prostora 16 °C. Med alkoholno fermentacijo smo merili izgube CO₂, na podlagi katerih smo kasneje izrisali fermentacijske krivulje. Po končani alkoholni fermentaciji in šestih mesecih zorenja, smo v vinih določali pH, skupne (titrabilne) kisline, hlapne kisline, sladkorja prost ekstrakt, alkohol, reducirajoče sladkorje, pufno kapaciteto, prosti in skupni SO₂ in AOP. Poleg omenjenega smo vina tudi senzorično ocenili z opisno metodo. Pri spremljanju fermentacijske kinetike se je pokazala razlika med sevi kvasovk v fazi prilagajanja, medtem ko dodatek hranil ni bistveno vplival na potek alkoholne fermentacije. Po šestih mesecih zorenja so vzorci z dodanimi hranili za kvasovke imeli nižjo vsebnost reducirajočih sladkorjev in višji AOP. S senzorično opisno metodo je bil vzorec z uporabljenimi kvasovkami 71B z dodatkom hranil bolje ocenjen od vzorca s kvasovkami CRO z dodatkom hranil.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 663.221:582.282.23:663.252.4:543.92(043)=163.6
- CX Rebula/musts/wine yeasts/starter cultures/yeasts nutrients/alcoholic fermentation/wines/physicochemical properties/sensory properties
- AU KRISTANČIČ, Davor
- AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor) / JAMNIK, Polona (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2016
- TI THE INFLUENCE OF YEAST NUTRIENTS ON IMPROVEMENT OF REBULA WINE QUALITY PARAMETERS
- DT Graduation thesis (University studies)
- NO XI, 51 p., 6 tab., 19 fig., 5 ann., 35 ref.
- LA si
- AL si/en
- AB The aim of winemakers towards enhancing the kinetics of alcoholic fermentation and better wine sensorical features, is leading to the use of commercial strain yeasts and yeast nutrients. This has already become a solid practice for the major part of all winemakers. The thesis focused on discovering if the yeasts nutrients have a major impact on the final analytic results, mainly sensorical features of the wine. The wine used for the experiment was Rebula, vintage 2008 from the Brda wine region. The experiment was focused on the use of two different strains of commercial yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and one yeast nutrient. Four wine samples fermented 27 days in a fermentation room at 16 °C. During the alcoholic fermentation we measured the decreasing level of CO₂, which allowed us to assess the fermentation rate curve. After the alcoholic fermentation and a six-month maturation. pH, (titrable) acids, volatile acids, post extract sugars, alcohol level, reductive sugars, buffer capacity, free and group SO₂ and AOP of wine were measured. The wines were also sensorially graded, according to the descriptive method. Monitoring the fermenting kinetics showed a distinction between strains of yeasts in the lag phase, whereas the yeast nutrients did not have a major impact on the alcoholic fermentation. After six months of maturation, the samples with yeast nutrients had a lower level of reductive sugars and higher AOP. Based on sensorical descriptive method, the wine sample 71B with yeast nutrients was better graded CRO with yeast nutrients.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	IX
KAZALO PRILOG	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN NALOGE	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 REBULA V GORIŠKIH BRDIH	3
2.2 OPIS SORTE REBULA	4
2.3 SESTAVA MOŠTA IN VINA	5
2.3.1 Sladkorji (ogljikovi hidrati).....	5
2.3.2 Organske kisline	5
2.3.3 Dušikove spojine.....	6
2.3.4 Etanol.....	6
2.3.5 Višji alkoholi	7
2.3.6 Aromatične spojine.....	7
2.4 ALKOHOLNA FERMENTACIJA	8
2.5 VLOGA VINSKIH KVASOVK MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO	9
2.5.1 Splošne značilnosti vinskih kvasovk	9
2.5.2 Vinske kvasovke vrste <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
2.5.3 Startrske kulture	11

2.5.4	Viri energije in hranil za kvasovke	12
2.5.4.1	Sladkorji	12
2.5.4.2	Dušikove spojine	12
2.5.4.3	Spojine z žveplom	13
2.5.4.4	Maščobe.....	13
2.5.4.5	Vitamini.....	13
2.6	DODATEK HRANIL ZA KVASOVKE.....	13
2.6.1	Enostavna hranila.....	14
2.6.2	Enostavnejša hranila.....	14
2.6.3	Kompleksna hranila.....	16
2.7	SHEMA PREDELAVE BELEGA GROZDJA V MLADO VINO.....	18
3	MATERIAL IN METODE DELA.....	19
3.1	ZASNOVA POSKUSA	19
3.2	MATERIAL.....	20
3.2.1	Mošt	20
3.2.2	Kvasovke	20
3.2.3	Hranila za kvasovke	21
3.3	METODE DELA	21
3.3.1	Trgatev in pridobitev mošta	21
3.3.2	Fermentacijski poskus	21
3.3.3	Fizikalne in kemijske analize mošta in vina.....	22
3.3.3.1	Določanje vsebnosti reducirajočih sladkorjev mošta in vina	22
3.3.3.2	Določanje pH vina.....	22
3.3.3.3	Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v vinu	23
3.3.3.4	Določanje dejanske pufne kapacitete.....	23
3.3.3.5	Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu.....	23

3.3.3.6	Določanje hlapnih kislin v vinu.....	24
3.3.3.7	Določanje žveplovega dioksida v vinu po Ripperju.....	24
3.3.3.8	Določanje antioksidativnega potenciala z radikalom DPPH*.....	24
3.3.3.9	Senzorično ovrednotenje vina	25
4	REZULTATI Z RAZPRAVO	26
4.1	REZULTATI ANALIZ MOŠTA.....	26
4.2	FERMENTACIJSKE KRIVULJE.....	26
4.3	ANALIZE VINA	29
4.3.1	Rezultati merjenja vrednosti pH.....	29
4.3.2	Rezultati merjenja vsebnosti skupnih (titrabilnih) kislin.....	30
4.3.3	Rezultati merjenja vsebnosti hlapnih kislin.....	32
4.3.4	Rezultati merjenja vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta	33
4.3.5	Rezultati merjenja vsebnosti alkohola	34
4.3.6	Rezultati merjenja vsebnosti reducirajočih sladkorjev	35
4.3.7	Rezultati merjenja dejanske pufrne kapacitete.....	37
4.3.8	Rezultati merjenja vsebnosti prostega žveplovega dioksida	38
4.3.9	Rezultati merjenja vsebnosti skupnega žveplovega dioksida.....	39
4.3.10	Rezultati merjenja antioksidativnega potenciala (AOP)	41
4.3.11	Rezultati senzorične analize vin	42
5	POVZETEK IN SKLEPI.....	44
5.1	SKLEPI.....	44
5.2	POVZETEK.....	45
6	VIRI	48

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Osnovni selekcijski kriteriji vinskih kvasovk in cilji (Molina in sod., 2009) ..	11
Preglednica 2: Primera enostavnih hranil z dodanimi vitamini (Košmerl, 2013)	15
Preglednica 3: Vloga vitaminov oziroma "rastnih faktorjev" (Barre, 1998).....	15
Preglednica 4: Primeri kompleksnejših hranil z dodatno funkcijo (Košmerl, 2013)	17
Preglednica 5: Rezultati kemijske analize osnovnega mošta	26
Preglednica 6: Podatki o kislinskih, bazičnih in dejanskih pufernih kapacitetah*	37

KAZALO SLIK

Slika 1: Primerjava zasajenosti vinogradov s sorto 'Rebula' in ostalim sortami v v.o. Goriška Brda med leti 2004 in 2015 (RPGV, 2015)	3
Slika 2: Delež zasajenih vinogradov s sorto 'Rebula' v v.o. Goriška Brda.....	4
Slika 3: Klasična tehnološka shema predelave belega grozdja do mladega vina (Vrščaj Vodošek, 2004)	18
Slika 4: Shema poskusa	19
Slika 5: Količina oddanega CO ₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije za kvasovke 71B BH in 71B H.	27
Slika 6: Količina oddanega CO ₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije za kvasovke CRO BH in CRO H	28
Slika 7: Kinetika oddanega CO ₂ (g/500 mL/h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije za kvasovke 71B BH in 71B H	28
Slika 8: Kinetika oddanega CO ₂ (g/500 mL/h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije za kvasovke CRO BH in CRO H	29
Slika 9: Spreminjanje vrednosti pH med zorenjem vina.	30
Slika 10: Spreminjanje vsebnosti titrabilnih kislin (g/L) med zorenjem vina.....	31
Slika 11: Spreminjanje vsebnosti skupnih kislin (g/L) med zorenjem vina.....	31
Slika 12: Vsebnost hlapnih kislin v vzorcih mladih vin (g/L) med zorenjem vina.....	32
Slika 13: Vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta (g/L) v vzorcih mladih vin.....	33
Slika 14: Vsebnost alkohola (vol.%) v vzorcih mladih vin.....	34
Slika 15: Vsebnost reducirajočih sladkorjev (g/L) v mladih vinih.....	36
Slika 16: Vsebnost dejanske pufrne kapacitete (mmol/L/pH) v mladih vinih	37
Slika 17: Vsebnosti prostega žveplovega dioksida (mg/L) v mladih vinih.....	39
Slika 18: Vsebnosti skupnega žveplovega dioksida v mladih vinih.....	40
Slika 19: Antioksidativni potencial vina po 6-mesečnem zorenju (mmol DPPH'/L)	41

KAZALO PRILOG

Priloga A: Rezultati analiz vzorcev vin 71B BH

Priloga B: Rezultati analiz vzorcev vin 71B H

Priloga C: Rezultati analiz vzorcev vin CRO BH

Priloga D: Rezultati analiz vzorcev vin CRO H

Priloga E: Rezultati meritev vzorcev vin za AOP

Priloga F: Izračun masne koncentracije skupnega suhega ekstrakta

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

°Oe	Oechslejeva stopinja (enota sladkorne stopinje mošta)
71B	kvasovke 71B
71B BH	kvasovke Lalvin 71 B brez dodatka hranil
71B H	kvasovke Lalvin 71 B z dodatkom hranil
AF	alkoholna fermentacija
AOP	antioksidativni potencial
CRO	kvasovke Cross evolution
CRO BH	kvasovke Cross evolution brez dodatka hranil
CRO H	kvasovke Cross evolution z dodatkom hranil
DPK	dejanska pufrna kapaciteta
DPPH [*]	stabilni prosti radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FAN	prosti aminokislinski dušik (ang. Free Amino Nitrogen)
S.D.	standardna deviacija ali odklon
SPE	sladkorja prosti ekstrakt

1 UVOD

Vino je ena izmed najbolj kompleksnih in priljubljenih pijač na svetu. Je pridelek pridobljen s popolnim ali delnim alkoholnim vrenjem drozge ali mošta, pridelanega iz grozdja žlahtne vinske trte. V Sloveniji imamo stičišče vplivov Panonske nižine, Alp, Dinarskega gorstva in Jadranskega morja, kar nam daje ugodne geoklimatske pogoje za pridelavo zelo kakovostnih vin.

Lega Goriških Brd med Alpami in Jadranskim morjem omogoča pridelavo zelo kakovostnih vin. Rebula, je za Brice med pomembnejšimi vinskimi sortami, saj je v Brdih okoli 25 % vseh vinogradniških površin zasajenih s to sorto. Pridelujejo jo tudi v Vipavski dolini, Krasu in na italijanski strani Brd. Rebula je do prekratkih imela slab ugled v Sloveniji, saj kot trta rodi redno in obilno, kar ima posledico vino slabše kakovosti. Vinogradniki in vinarji se v zadnjih letih z nižjimi hektarskimi donosi grozdja in premišljenem kletarjenjem trudijo iz nje pridelati kakovostno vino in ji tako vrniti ugled (RPGV, 2015).

Dejstvo je, da se iz slabe surovine ne da pridelati dobrega izdelka, lahko le slabšega. To velja tudi za vino. Kakovost grozdja je osnovni pogoj za pridelavo kakovostnega vina. Alkoholna fermentacija, ki se izvaja s pomočjo kvasovk, je glavni razlog, da iz mošta nastane vino. Uporaba selekcioniranih kvasovk in hranil zanje je danes praksa skoraj vsakega vinarja, ki ima željo povečati kinetiko alkoholne fermentacije, izboljšati senzorične lastnosti vina in ga zaščititi pred oksidacijo. Na našete parametre lahko vplivamo z izbiro kvasovk, fermentacijsko temperaturo, dohranjevanjem kvasovk med alkoholno fermentacijo idr.

Za pridobitev žaljenega končnega produkta je, ob izbranem načinu alkoholne fermentacije, izbira kvasovk zelo pomembna.

V diplomskem delu smo opravili raziskavo vpliva kvasovk in dodatka hranil za kvasovke na končne analitske podatke in sensoriko vina. Tako smo za poskus izbrali mošt sorte rebula iz Goriških Brd, dva seva komercialnih kvasovk, in eno hranilo zanje. Speljali smo alkoholno fermentacijo pod istimi pogoji za oba seva kvasovk in vino zoreli šest mesecev. Po končanem poskusu smo primerjali analitske podatke in senzorično oceno vin.

Pri predelavi kakovostnega vina je ključnega pomena poznavanje vpliva posameznega seva kvasovk na potek alkoholne fermentacije in izoblikovanje specifičnih lastnosti vina (Košmerl, 2007a)

1.1 NAMEN NALOGE

Cilj naloge je bil spremljati potek alkoholne fermentacije mošta sorte rebula letnik 2008 z uporabo dveh različnih komercialnih sevov kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* samostojno in v kombinaciji z dodanimi hranili za kvasovke, ki naj bi pripomogle k boljši kakovosti. S primerjalno analizo smo želeli ugotoviti značilne razlike v poteku fermentacije, vpliv različnih sevov kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* na fizikalno-kemijske parametre ter senzorično kakovost vina.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

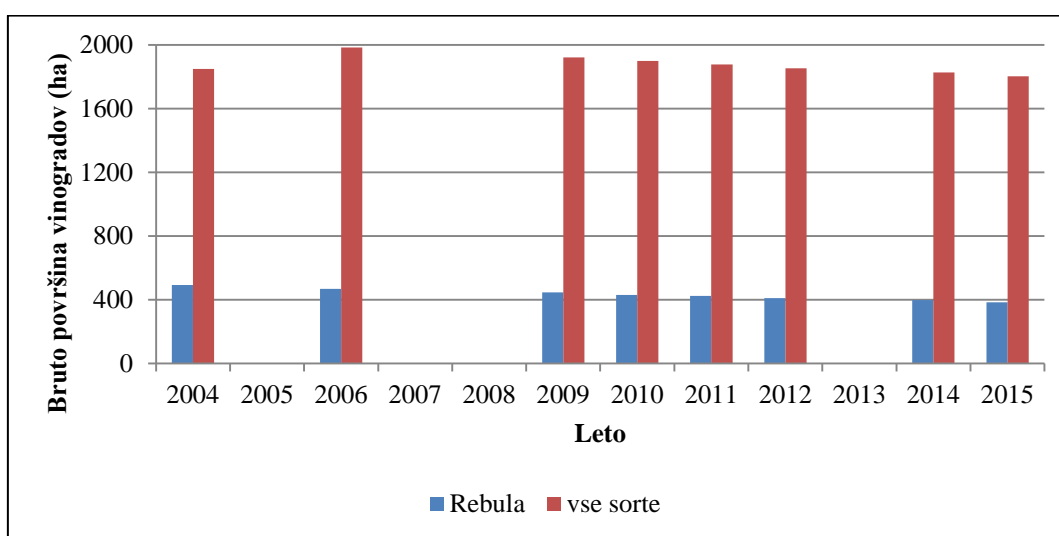
V okviru proučevanja izboljšanja parametrov kakovosti vina sorte rebula smo si postavili naslednje delovne hipoteze:

- v okviru uporabljenih dveh različnih sevov kvasovk pričakujemo razlike v fizikalno-kemijskih parametrih vina po končani alkoholni fermentaciji;
- kvasovke bodo v prisotnosti hranil optimalnejše delovale;
- pričakujemo razlike med uporabljenimi kvasovkami z ali brez hranil v senzorični kakovosti mladega vina, ki se ne bo značilno spremenila po šestih mesecih zorenja vina.

2 PREGLED OBJAV

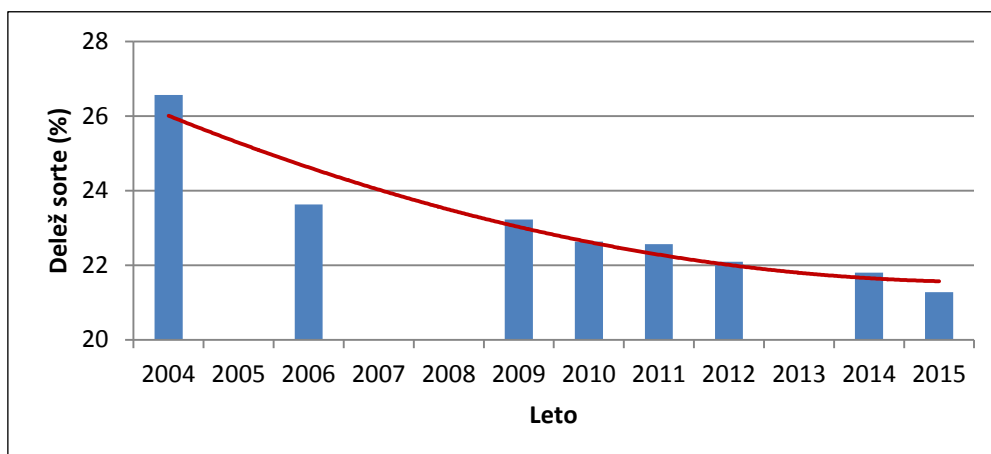
2.1 REBULA V GORIŠKIH BRDIH

Po podatkih Registra pridelovalcev vina in grozdja (RPGV) je bilo v letu 2015 v Goriških Brdih prijavljeno 22 belih in rdečih vinskih sort grozdja, med katerimi je na prvem mestu bela sorta 'Rebula', sledita ji svetovno znani sorti 'Chardonnay' in 'Sivi pinot'. Prijavljen pridelek sorte 'Rebula' v letu 2015 je bil v vinorodnem okolišu Goriška Brda iz 383,52 ha vinogradov oziroma 1304942 trsov (RPGV, 2015).



Slika 1: Primerjava zasajenosti vinogradov s sorto 'Rebula' in ostalimi sortami v v.o. Goriška Brda med leti 2004 in 2015 (RPGV, 2015).

S slike 1 je razvidno, da se je v v.o. Goriška Brda od leta 2004, v katerem je bilo prijavljenih 491,06 ha bruto površin zasajenih s sorto 'Rebula', v obdobju enajstih let zmanjšala zasajenost za več kot 100 ha bruto površin, in sicer na 383,52 ha v letu 2015. Še bolj očiten je padec njenega deleža med ostalimi sortami iz 26,6 % v letu 2004 na 21,3 % v letu 2015 (slika 2).



Slika 2: Delež zasajenih vinogradov s sorto 'Rebula' v v.o. Goriška Brda.

2.2 OPIS SORTE REBULA

'Rebula' je bela sorta žlahtne vinske trte, ki raste v Goriških Brdih, Vipavski dolini, na Krasu in v severni Italiji. Novejše raziskave kažejo na to, da sorto pod imenom 'Robola', gojijo v Grčiji na Ionskih otokih (De Lorenzis in sod., 2013).

Za Slovenijo je rebula kot priporočena sorta predvidena v briškem, vipavskem in kraškem vinorodnem okolišu vinorodne dežele Primorske (Hrček in Korošec Koruza, 1996).

Rebula spada med zahodnoevropsko skupino sort – *Proles occidentalis*. Domovina rebule je Italija, kjer jo zgodovinarji omenjajo že od 14. stoletja naprej. Pri nas jo štejemo med udomačene sorte. V Sloveniji je najbolj razširjena v Goriških Brdih in Vipavski dolini. Rebuli najbolj odgovarjajo višje ležeče lege. Pojavlja se v treh različicah: rumena rebula, zelena rebula in rumena z debelejšimi jagodami (Hrček in Korošec Koruza, 1996).

Agrobiotične značilnosti sorte 'Rebula' (Hrček in Korošec Koruza, 1996):

Bujnost: srednje bujna sorta,

Dozorevanje grozdja: srednje pozna sorta,

Teža grozdja: 140 do 160 g,

Pridelek: rodi obilno in redno,

Odpornost proti boleznim: za peronosporo ni posebno odporna, za oidij bolj.

Sončne lege in dobra prepustna tla, omogočajo da se iz sorte 'Rebula' lahko po klasični predelavi predela sveže, običajno suho vino z nižjim alkoholom in višjo kislino z značilnim okusom in vonjem po sadju. Zaradi zahtev današnjih pivcev, se tudi pri rebuli vedno bolj uporabljajo novejši tehnološki postopki predelave, z namenom izboljšanja tako fizikalno-kemičnih kot senzoričnih lastnosti (Batič, 2005).

2.3 SESTAVA MOŠTA IN VINA

2.3.1 Sladkorji (ogljikovi hidrati)

Ogljikovi hidrati predstavljajo med 12 % in 27 % celotne sestave mošta (Johnson in Robinson, 2003). Med njimi so najpomembnejši in tudi količinsko najbolj zastopane heksoze (glukoza, fruktoza), tako v moštu kot pozneje v vinu. 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, 2006).

Ko je jagoda na grozdu še zelena, vsebuje tri četrtine glukoze in četrtino fruktoze. Z dozorevanjem grozdja se razmerje spreminja, tako da sta v fazi polne zrelosti skoraj v ravnotežju. V prezrelem grozdju prevladuje fruktoza. Kvasovke imajo boljšo afiniteto do glukoze (Bavčar, 2006).

2.3.2 Organske kisline

Mošt vsebuje številne organske kisline, ki izvirajo iz grozdja in nastanejo kot produkt nepopolne oksidacije sladkorjev. Tako se količina kislin, odvisna od letnika, sorte, podnebja, zdravstvenega stanja grozdja, sestave tal giblje med 4,5 in 16 g/L (Šikovec, 1993).

Od organskih kislin v vinu so količinsko najbolj zastopane vinska, jabolčna mlečna in citronska kislina. Skupna koncentracija kislin v vinu je običajno med 5,5 in 8,5 g/L. Koncentracija kislin je pomembna za stabilnost, barvo, kislost oziroma primeren pH in obstojnost vina. Imajo velik vpliv na senzorično ravnotežje vina (Šikovec, 1993).

Kisline v vinu izražamo kot skupne, hlapne in nehlapne kisline. Hlapne kisline so vse tiste, ki jih lahko predestiliramo z destilacijo z vodno paro. Med hlapnimi kislinami je najbolj

pomembnejša očetna kislina, pa tudi mravljinčna in propionska, izražamo pa jih kot očetna kislina v g/L. Nehlapne kisline so preostale minimalno hlapne kisline: vinska, jabolčna, citronska, mlečna itd. Skupne kisline so seštevček hlapnih in nehlapnih kislin (Bavčar, 2006), ki jih izražamo kot vinska kislina v g/L.

2.3.3 Dušikove spojine

V moštu in vinu se dušik nahaja v obliki anorganskih amonijevih soli in organskih spojin (Šikovec, 1993).

Dušikove spojine grozdja so pomemben dejavnik pri predelavi vina. Izkoriščajo jih kvasovke za izgradnjo lastnih strukturnih in funkcionalnih beljakovin, kar vodi v povečanje kvasne biomase in sintezo potrebnih encimov, ki sodelujejo v številnih biokemijskih reakcijah med alkoholno fermentacijo. Poleg vpliva na povečanje kvasne biomase in potek alkoholne fermentacije, imajo aminokisline pomembno vlogo tudi pri tvorbi aromatičnih snovi, tako pozitivnih (višji alkoholi), kot negativnih (H_2S). Kvasovke med alkoholno fermentacijo večino aminokislin iz mošta porabijo, ko prevrejo prvih 30 g/L sladkorja, t.j. med 2. in 3. dnevom fermentacije, odvisno od seva kvasovk in temperature fermentacije. Vinske kvasovke potrebujejo za nemoteno rast in razmnoževanje poleg ogljika kot oblike energije tudi dušik v obliki amonijaka ter proste aminokisline za sintezo strukturnih in funkcionalnih beljakovin. Najpogostejši vzrok za slabše fermentacijske lastnosti kvasovk in njihovo učinkovitost, kar vodi tudi do prekinitve fermentacije, je pomanjkanje dušikovitih spojin. Posledica pomanjkanja dušikovitih spojin so lahko tvorba reduciranih žvepljenih spojin, večje količine hlapnih kislin in višjih alkoholov, idr. (Košmerl, 2013).

2.3.4 Etanol

Etanol je nedvomno najpomembnejši alkohol v vinu. Nastane kot posledica delovanja kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* v času alkoholne fermentacije. Vinu daje stabilnost, deluje kot topilo in zagotavlja posebne senzorične lastnosti (Bavčar, 2006).

Etanol vpliva na metabolizem kvasovk in posledično na vrsto ter količino nastalih spojin v vinu. Na senzorične lastnosti vina vpliva tako, da mu doda svoj specifičen vonj ter okus, stopnjuje tudi zaznavo sladkosti in grenkobe (Bavčar, 2006).

2.3.5 Višji alkoholi

Alkohole z več kot dvema ogljikovima atomoma, imenujemo višji alkoholi (Bavčar, 2006). Med višjimi alkoholi v vinu prevladajo izoamilalkohol, izobutanol in 2-feniletanol (Košmerl in Kordiš-Krapež, 1997).

Med fermentacijo nastane največ višjih alkoholov. Od tega je 65 % višjih alkoholov iz drugih aminokislin, 10 % iz ustreznih aminokislin, 25 % iz sladkorjev. Koncentracija višjih alkoholov v vinu je med 80 in 540 mg/L. K prijetni aromi vina prispevajo v koncentraciji do 300 mg/L. Če koncentracija presega 400 mg/L, se zaznava negativen vonj in okus vina (Rapp, 1989).

Kvasovke največ višjih alkoholov tvorijo na koncu fermentacije zaradi stresnih razmer (pomanjkanje hranil, večja koncentracija etanola). Dejavniki, ki vplivajo na končno koncentracijo višjih alkoholov, so sev kvasovk, fermentacijska temperatura, koncentracija kisika, pH ter bistrost mošta (Bavčar, 2006).

2.3.6 Aromatične spojine

Nam oblikujejo aromo mošta in vina in so iz številnih različnih sestavin, ki se pojavljajo v zelo zapletenih povezavah z različnimi fizikalno-kemičnimi sestavinami (Šikovec, 1993). Naša čutila zaznavajo aromatične snovi z vohanjem in okušanjem, ko se nam zaradi višje temperature v ustih sprostijo hlapne snovi in prihajajo retronazalno v nos. Skupek obeh vtisov imenujemo aroma vina (Nemanič, 1999).

Aromatične spojine delimo na (Bavčar, 2006):

- Aromatične spojine iz grozdja. Na količino teh spojin vpliva izbira klona sorte, geografska lege vinograda, klimatske razmere, zrelost in zdravstveno stanje grozdja. Z različno dolžino in temperaturo maceracije vplivamo na koncentracijo teh spojin v moštu in vinu,

- Aromatične spojine, ki nastanejo med alkoholno fermentacijo. Na njihovo koncentracijo vplivamo s temperaturo alkoholne fermentacije, izborom kvasovk, dodatkom enoloških sredstev ter ležanjem vina na drožeh, med katerim zelo pogosto spontano poteče tudi jabolčno-mlečnokislinska fermentacija ali biološki razkis,
- Aromatične spojine, ki nastanejo med zorenjem vina. Med zorenjem vina v posodah in ležanjem v steklenicah se dogajajo kompleksne spremembe vonja in arome. Te spremembe so odvisne od časa zorenja, temperature, dostopnosti kisika, svetlobe in vrste posode v času zorenja.

2.4 ALKOHOLNA FERMENTACIJA

Alkoholna fermentacija je zapleten kemijski proces, ki ga je že leta 1815 opisal Gay-Lucas. Okoli leta 1840 so spoznali, da fermentacijo povzročajo mikroorganizmi, in sicer kvasovke (Vatta, 2001).

Alkoholna fermentacija pomeni pretvorbo sladkorjev v alkohol in ogljikov dioksid. Najpomembnejši izvor energije pri kvasovkah vrste *Saccharomyces cerevisiae* je glukoza.

Glavna metabolna pot za pretvorbo glukoze do piruvata je glikoliza, pri kateri vzporedno nastaja energija v obliki ATP in se tvorijo intermediati. Ločimo dva osnovna metabolna modela nadaljnje razgradnje piruvata za produkcijo energije (Košmerl, 2007a):

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

Med alkoholno fermentacijo grozdnega mošta, se sladkor (točneje reducirajoči sladkorji) presnavlja v bioprocesu glikolize. Končni produkt glikolize je piruvat oziroma piruvična kislina, ki predstavlja pomembno stopnjo v procesu alkoholne fermentacije. V nadaljnjih reakcijah sledi dekarboksilacija piruvične kisline in to je trenutek, ko se v procesu

alkoholne fermentacije pojavi ogljikov dioksid, pri tem pa se tvori acetaldehid, ki se v zadnji encimski stopnji reducira do etanola (Košmerl, 2007a).

Med dejavnike, ki vplivajo na rast kvasovk med alkoholno fermentacijo štejemo (Košmerl, 2007a):

- dodatek startrske kulture,
- temperaturo fermentacije,
- žveplanje,
- prisotnost ali uporabo kvasovk z zimocidno aktivnostjo,
- motnost oziroma stopnjo bistrosti mošta,
- fizikalno-kemijsko sestavo mošta,
- ostanek zaščitnih sredstev, vpliv ostalih mikroorganizmov, zlasti plesni in bakterij

2.5 VLOGA VINSKIH KVASOVK MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO

2.5.1 Splošne značilnosti vinskih kvasovk

Termin vinske kvasovke, opisuje kvasovke, ki jih najdemo na grozdju ali v vinogradu, v moštu in vinu, v vinarskih poslopih in na opremi (Boulton in sod., 1996).

Na podlagi vpliva na končno kakovost vina, kvasovke delimo na kvasovke z nizko vrelni sposobnostjo in kvasovke z močno vrelni sposobnostjo. Med močno vrelni kvasovke uvrščamo rod *Saccharomyces*, od katerih le posamezni sevi sposobni tvoriti do največ 18 vol. % alkohola (Šikovec, 1993). Na površini vsake grozdne jagode in v moštu je ta kvasovka prisotna v majhnem številu, čeprav je prevladujoča vrsta na koncu vsake fermentacije. Na grozdni jagodi prevladujejo avtohtoni ali endogeni rodovi ne-*Saccharomyces* nesporogenih kvasovk, zlasti vrst *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora uvarum*, *Candida stellata*, *Torulaspota delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima* in *Saccharomycodes ludwigii*, ki so prisotne v začetnih fazah fermentacije in dosežejo končno koncentracijo celo 10^6 - 10^8 CFU/mL (prve tri vrste), preden odmrejo. Delež kvasovk rodu *Kloeckera* in *Torulopsis* je relativno velik v primerjavi s kvasovkami vrste *Saccharomyces cerevisiae* tudi v mladem vinu po končani fermentaciji (Košmerl, 2013).

Kvasovke po taksonomiji definiramo kot enocelične glive, ki se razmnožujejo s cepitvijo in celično delitvijo (Riberéau-Gayon in sod., 2006a). Ker kvasovke energijo za življenje črpajo iz organskih spojin, kjer je energija vezana, uvrščamo kvasovke med kemoheterotrofne organizme. Za katabolizem teh organizmov je osnoven pomen dihanje. To so procesi oksidativno-reduktivne disimilacije energetske hrane, tj. organske sestavin hrane, iz katerih črpajo energijo. Glavna hrana kvasovk so sladkorji (Walker, 1998).

Spontana alkoholna fermentacija je obsežen skupek mikrobnih interakcij, ki vključujejo številne mikroorganizme, od katerih glavno vlogo odigrajo kvasovke. Kvasovke spontane alkoholne fermentacije lahko izvirajo iz vinske kleti, predvsem pa v mošt pridejo iz grozdnih jagod. Na mikrofloro grozdnih jagod, ki jo kasneje najdemo v moštu, vplivajo številni dejavniki, predvsem lega vinograda, mikroklimatske razmere, pogostost padavin, temperatura, stopnja zrelosti grozdnih jagod, fizične poškodbe grozdja in prisotnost sredstev za zaščito vinske trte pred boleznimi in škodljivci (Jenko in sod., 2012). Na mikrofloro mošta kasneje vplivajo vinifikacijski postopki, ko so bistrenje mošta, SO₂, temperatura, sestava grozdnega mošta ter ostanki fungicidov (Jenko in sod., 2011).

2.5.2 Vinske kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae*

Vrsta *Saccharomyces cerevisiae* je znana kot »vinska kvasovka«. Znano je da z različnimi sevi kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* pridelamo po kakovosti zelo različna vina (Košmerl, 2013). Zanimive so, ker hitro začnejo z alkoholno fermentacijo, ki je enakomerna in ne preburna, tvorijo manj hlapnih kislin kot ostale kvasovke, ne tvorijo velikih količin žveplovodika in njeni sekundarni produkti povečajo aromatiko vina (Šikovec, 1993).

Saccharomyces cerevisiae so selekcionirane kvasovke, katere se večinoma uporablja v modernih kletih. So jamstvo za hitro, učinkovito in predvidljivo fermentacijo. Ti dajejo skladnost okusa in vonja po zaključeni fermentaciji. Selekcioniran sev omogoča hitro in popolno pretvorbo sladkorjev v etanol. Potrebno je poudariti, da uporaba inokuluma ni vedno porok za preprečitev rasti in metabolne aktivnosti kvasovk rodu ne-*Saccharomyces* in sevov vrste *Saccharomyces cerevisiae*, ki so vezani na klet (Pretorius, 2002).

2.5.3 Startrske kulture

Velika večina vinarjev uporablja za fermentacijo belih in rdečih moštov komercialne startrske kulture, ki so selekcionirane glede na 4 osnovne kriterije: fermentacijske lastnosti, senzorične značilnosti, tehnološke značilnosti in metabolne lastnosti z zdravstvenega stališča (Košmerl, 2013). V preglednici 1 so prikazane najpomembnejši cilji selekcije vinskih kvasovk. 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 pojavljajo problemi med spontano alkoholno fermentacijo (povečana koncentracija očetne kisline, etilnih estrov, očetne kisline, priokusi, prekinitev in/ali zaustavitev fermentacije), se močno priporoča dodatek čiste kulture (Košmerl, 2007a). Vina, pridelana z dodatkom startrske kulture kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* in vina pridelana z avtohtono populacijo kvasovk, se po senzoričnih lastnostih močno razlikujejo. Različni sevi kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* lahko izoblikujejo različne aromatične lastnosti vina pri fermentaciji istega mošta. Različne sposobnosti sevov kvasovk, so razlog za sproščanje sortnih hlapnih komponent iz prekursorjev v grozdju in pri tvorbi novih hlapnih komponent (Fleet, 2003).

Odločilnega pomena je izbira primernega seva kvasovk za razvoj željenega karakterja vina. Danes je na tržišču dostopnih ogromno različnih sevov startrskih kultur kvasovk. To omogoča pridelovalcem izbiro primernega seva kvasovk z zelenimi senzoričnimi lastnostmi (Molina in sod., 2009).

Preglednica 1: Osnovni selekcijski kriteriji vinskih kvasovk in cilji (Molina in sod., 2009).

Selekcijski kriteriji	Cilji selekcije
fermentacijska sposobnost	majhna tvorba sulfida in sulfid vezujočih substanc
osmotoleranca	čim manjša tvorba hlapnih kislin in H ₂ S
odpornost na alkohol	majhna sposobnost penjenja
odpornost na sulfid	sposobnost tvorbe filma

2.5.4 Viri energije in hranil za kvasovke

2.5.4.1 Sladkorji

Med sladkorji v moštu sta za kvasovke najbolj pomembna glukoza in fruktoza. V kvasovko vstopata skozi membrano in se pod vplivom zaporednih encimskih sistemov metabolizirata do piruvata v tako imenovanem procesu glikolize, priuivat se dekarboksilira v acetaldehid (tu izhaja ogljikov dioksid), ta pa se reducira v etanol. Iz ene molekule glukoze ali fruktoze nastaneta dve molekuli etanola in ogljikovega dioksida. Praktični izkoristek sladkorja je približno 47 %, za razliko od teoretičnega, ki je 51 % (Bavčar, 2006).

2.5.4.2 Dušikove spojine

Dušikove spojine izkoriščajo kvasovke za izgradnjo lastnih strukturnih in funkcionalnih beljakovin, kar vodi v povečanje kvasne biomase in sintezo encimov, ki sodelujejo v številnih biokemijskih reakcijah med alkoholno fermentacijo. Tako je pomanjkanje dušikovih spojin v moštu lahko eden izmed vzrokov (običajno najpogostejši) za upočasnjeno in prekinjeno fermentacijo. Te aminokislina imajo pomembno vlogo tudi pri tvorbi aromatičnih snovi, tako pozitivnih (nekateri višji alkoholi) kot negativnih (H_2S). Med alkoholno fermentacijo kvasovke asimilirajo med 1-2 g/L aminokislin. Večina aminokislin mošta je praktično porabljenih, ko je prevrelih prvih 30 g/L sladkorja, t.j. med 2. in 3. dnem, odvisno od seva kvasovk in temperature fermentacije. Kvasovke izkoriščajo aminokislina z različno intenzivnostjo, odvisno tudi od aktivnosti posameznega seva in vrste (Košmerl, 2013). Dušikove spojine se porabijo na tri načine (Košmerl, 2013):

- direktno kot komponente za sintezo novih spojin,
- se naprej razgradijo in nato uporabijo za sintezo,
- se razgradijo in sproščajo kot dušik (prost ali vezan amonijev ion).

Najprej porabijo amonijak, glutamat in glutamin, sledijo pa alanin, serin, treonin, aspartat, asparagin, urea in arginin. Splošno velja, da je za kvasovke najbolj uporaben tisti vir dušika, ki je najbolj pripraven za spremembo v biosintetično komponento (amonijak), ali tisti, ki potrebuje najmanj energije in koencimov za pretvorbo (Bavčar, 2006).

2.5.4.3 Spojine z žveplom

Kvasovke za biosintezo lahko uporabljajo tudi sulfate, sulfide, sulfite, trisulfate in tudi aminokisliline, ki vsebujejo žveplo. To sta aminokislilini cistein in metionin. Najbolj znana končna produkta sta žveplov dioksid in vodikov sulfid (Bavčar, 2006).

2.5.4.4 Maščobe

Kvasovke sintetizirajo svoje lipide, vendar so nesposobne tvorbe nenasičenih maščobnih kislin z dolgimi verigami in sterolov v odsotnosti kisika. To lahko v skrajnem primeru vodi do prekinitve fermentacije. Večinoma imajo kvasovke na razpolago dovolj teh spojin za začetek fermentacije in razmnoževanje. Pomanjkanje se lahko pojavi v moštih, kjer je bilo izvedeno močno predbistrenje (lahko odstranimo tudi do 90 % omenjenih maščobnih kislin) (Bavčar, 2006).

2.5.4.5 Vitamini

Za kvasovko so pomembni vitamini biotin, tiamin, piridoksin, folna kislina, nikotinska kislina in riboflavin. Imajo vlogo kot regulatorji metabolizma, koencimi in encimski prekursorji. Njihova koncentracija se med alkoholno fermentacijo sicer znižuje, vendar kvasovke zadovoljijo potrebe po vitaminih z lastno sintezo ali absorpcijo (Bavčar, 2006).

2.6 DODATEK HRANIL ZA KVASOVKE

Potek alkoholne fermentacije mošta je nesporno odvisen od hranil za vinske kvasovke, določenih že z osnovo fizikalno-kemijsko sestavo mošta in tudi od drugih dejavnikov (npr. ostanki fungicidov, prisotnost plesni in mlečno- ter očetnokislinskih bakterij), ki pa so bistveno manj raziskani (Drolc, 2014).

Kadar kvasovkam prične primanjkovati dušikovih spojin, lahko na njihovo fermentacijsko kinetiko vplivamo s pravočasnim, a ne prevelikim in časovno prezgodnjim dodatkom ustreznega hranila. Načeloma je vsak mošt v začetni fazi zadostno oskrbljen z dušikovimi spojinami, pomanjkanje le-teh se pokaže najkasneje po štirih dneh. Kasnejši dodatek hranila za kvasovke z namenom povečanja fermentacijske kinetike, se pokaže predvsem v boljših senzoričnih značilnostih pridelanega mladega vina, in sicer manjši vsebnosti

hlapnih kislin ter manjši vsebnosti »porabnikov žvepla«, ki nastanejo, ko prične primanjkovati vitaminov (le-ti so sestavina hranil) (Drolc, 2014).

2.6.1 Enostavna hranila

Kot enostavno hranilo se v glavnem dodaja diamonijev hidrogen fosfat (DAP). S teh hranilom povečamo vnos anorganskega dušika t.j. amonijak, ki je pomemben za sintezo ustreznih beljakovin. Amoniakalnega dušika se v povprečju dodaja med 25-50 mg NH_4^+/L , kar se senzorično ne da ugotoviti. Večina vinarjev dodaja 10-20 g/hL hranil v enkratnem vnosu po začetku fermentacije, ali pa v večkrat po manjše količine. DAP kot enostavno hranilo je primerno za stimulacijo kvasne populacije, na primeru mlečnokislinskih bakterij je neučinkovito, saj le-te potrebujejo kompleksnejše hranilo z vitamini. Zlasti pomemben je hranilni status bistrnih belih moštov, kjer se pri samobistrenju usede približno 3-4 vol. % trdnih delcev; pri centrifugiranju ali filtraciji pa še dodatnih 1 vol. %. To ima za posledico pomanjkanje hranilnih snovi za kvasovke, kar lahko vodi k upočasneni alkoholni fermentaciji ali njeni prekinitvi (Košmerl, 2013).

2.6.2 Enostavnejša hranila

Enostavnejša hranila so enostavna hranila z dodatkom vitaminov ali t.i. rastnih dejavnikov, ki so poleg dušikovih snovi potrebni za pravilno delovanje encimov kvasovk. V preglednici 2 sta kot primer predstavljeni dve enostavnejši hranili, ločeno v preglednici 3 pa vloga rastnih dejavnikov. V dovolj veliki količini lahko z dodatkom enostavnejših hranil zmanjšamo količino nastalih »porabnikov žvepla« med alkoholno fermentacijo, dodatno pa pripomoremo tudi k nastanku večjega deleža pozitivnih aromatičnih snovi (Drolc, 2014).

Preglednica 2: Primera enostavnih hranil z dodanimi vitamini (Košmerl, 2013).

Sestava	Namen uporabe	Priprava
deaktivirane kvasovk diamonijev fosfat amonijev fosfat tiamin hidroklorid silikagel	Vzpodbujevalec alkoholnega vrenja; vpliva na razmnoževanje in vrelnost sposobnost kvasovk. Količina: 35–40g/L	Raztopimo v zadostni količini vode, mošta ali vina.
61,8 % amonijevega sulfata 33 % diamonijevega fosfata 5 % KHCO ₃ 0,2 % vitamina B1	Pospeševanje rasti in razmnoževanja mikroorganizmov, normalen potek in dokončanje alkoholnega vrenja. Količina 10-20 g/hL	Raztopimo v manjši količini vode in med stalnim mešanjem dodamo v mošt pred začetkom vrenja.

Preglednica 3: Vloga vitaminov oziroma "rastnih faktorjev" (Barre, 1998).

Vitamin	Ime	Delovanje
B1	Tiamin	Potrebujejo ga dekarboksilaze. Deluje v sinergiji z vitaminom C. Pospeši rast in poveča biomaso.
B2	Riboflavin	Aktivira oksidativne razgradnje piruvične kisline, maščobnih kislin in amonijaka (preko izmenjave elektronov).
PP	Niacin	Reducira tvorbo etil acetata. Kontrolira tvorbo keto kislin. V primeru pomanjkanja tega vitamina in vitaminov B5 in B6 pride do prekomerne porabe tiamina. Nadomestimo ga s triptofanom
B5	Pantotenska kislina, Ca pantotenat	Aktivni del koencim A prenaša acilne skupine (acetil) pri encimskih reakcijah, pri oksidaciji piruvične kisline in maščobnih kislin.
B6	Pirdoksin	Sodeluje pri transaminaciji in tvorbi α -ketoglutarjeve kisline.
B12	Kobalamin, cianokobalamin	Vpliva na rast in razmnoževanje kvasovk. Sodeluje v reakcijah karboksilacije in deaminacije. Deluje v sinergiji z vitaminom B5.
H	Biotin	Vpliva na razmnoževanje kvasovk, sodeluje v encimskih reakcijah karboksilacije in deaminacije. Ob pomanjkanju se spremeni karboksilacija, dodatno pa se zmanjša tudi tvorba jantarne kisline.
D2	Ergosterol	Faktor preživetja: pomaga kvasovkam pri dokončnem povretju sladkorjev, stimulira tvorbo glicerola, zmanjša tvorbo oetne kisline in acetaldehida, spremeni aromatično strukturo vina.

2.6.3 Kompleksna hranila

Kvasni ekstrakt, avtolizirane celične stene kvasovk in DAP so najpogostejše komponente kompleksnejših hranil za kvasovke. Na tržišču se dobijo tudi drugačno sestavljena hranila kot so npr: samo celično jedro in citoplazma inaktiviranih kvasovk, z veliko vsebnostjo prostih aminokislin in vitaminov, ali pa so prejšnji sestavi dodane še topne celične stene kvasovk, ki služijo kot za vezavo toksičnih maščobnih kislin. Glede na njihovo drugačno sestavo je po dodatku v mošt ali vino manjše povečanje vsebnosti FAN v primerjavi z enostavnimi hranili (Košmerl, 2013).

Celične stene kvasovk vplivajo na potek alkoholne fermentacije s počasnim sproščanjem dušikovih spojin, katere kvasovke počasi asimilirajo, na kar vpliva na obseg fermentacije in število celic v stacionarni fazi. Večina kompleksnih hranil vsebuje poleg vitaminov tudi minerala (ali mikroelemente), od katerih ima vsak svojo pomembno funkcijo. Vloga mineralov (Košmerl, 2013):

Magnezij (Mg):

- vpliva na rast: faze in čas celične delitve kvasovk;
- ščiti kvasovke pred negativnimi faktorji – temperaturni šok, visok alkohol;
- ima zelo pomembno vlogo pri stabilnosti in permeabilnosti celične membrane;
- pri pomanjkanju Mg se običajno tvori večja vsebnost očetne kisline in zmanjšana odpornost kvasovk na alkohol.

Mangan (Mn):

- v zadostnih količinah prispeva k sintezi lastnih beljakovin kvasovk in tiamina, kar se odraža v zadostnem povečanju biomase kvasovk v začetni fazi fermentacije.

Cink (Zn):

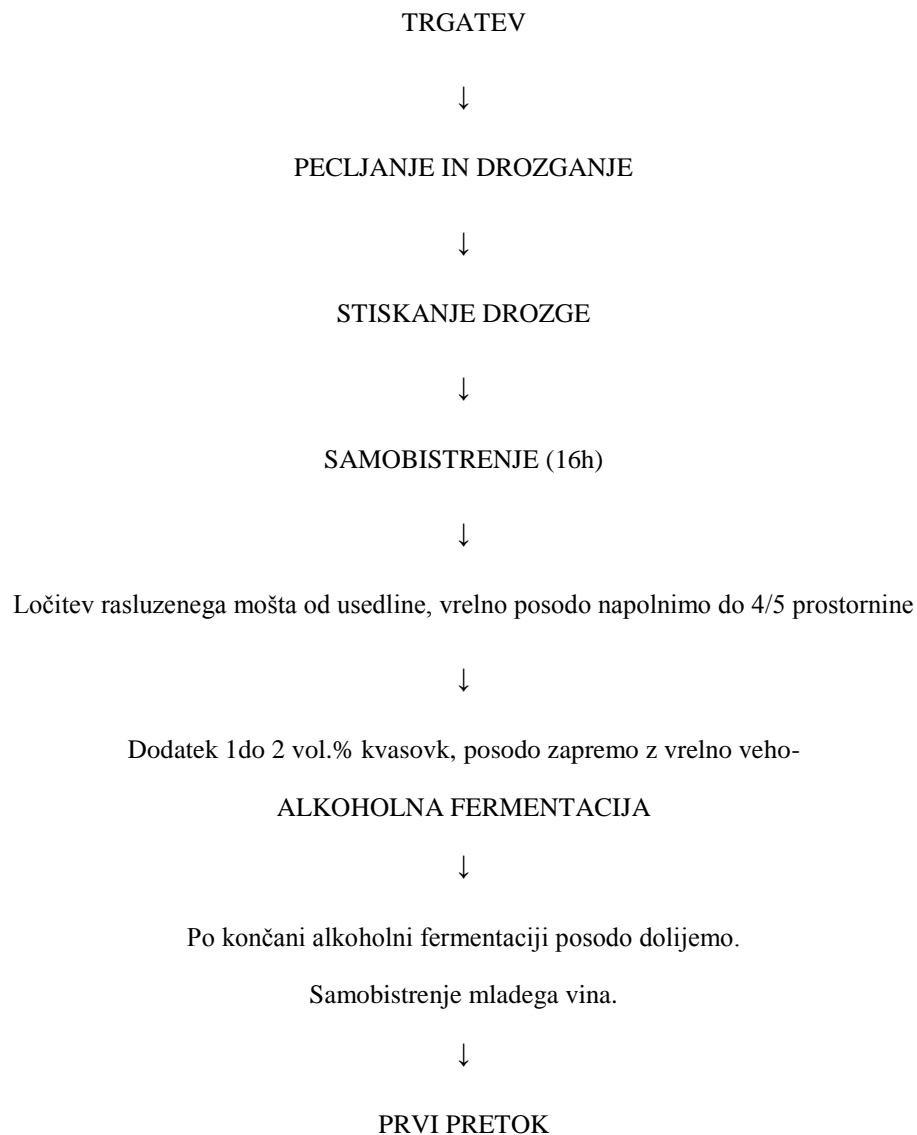
- je pomemben kofaktor določenih encimov, pozitivno prispeva k sintezi riboflavina in beljakovin;
- pri pomanjkanju je omejena celična rast in fermentacijska aktivnost beljakovin.

Preglednica 4: Primeri kompleksnejših hranil z dodatno funkcijo (Košmerl, 2013).

Sestava	Namen uporabe
Avtolizat biomase kvasovk, obogaten z vitamini, minerali, mikroelementi, ter aminokislinami	Omogoča nemoten metabolizem kvasovk: za preprečevanje tvorbe neželenih vonjev (H ₂ S) in hlapnih kislin. Uspešno preprečuje upočasnjeno in/ali prekinjeno alkoholno vrenje, kar se odraža tudi na delovanju neželenih kvasovk in bakterij.
Inaktivirane kvasne celice (celične membrane) na koncu faze razmnoževanja, α -aminokislina, vitamini, minerali	Ima lastnost dobrega sproščanja polisaharidov, ki so sposobni vezave z reaktivnim tanini, ki sicer tvorijo nestabilne makromolekule, ki povzročajo usedlino. Z večjo vsebnostjo polisaharidno-taninskega kompleksa prispeva k polnosti vina. Uporablja se tudi kot dodatek k moštom, revnim na hranilih, pri upočasnitvi ali popolnem zastojem fermentacije. Količina: 30 g/hL
Celično jedro in citoplazma inaktiviranih kvasnih celic, proste aminokislina, vitamini minerali, opne celične stene kvasovk	Vzpodbujevalec (stimulator) alkoholne fermentacije, vpliva na hitrejše razmnoževanje in boljšo vrelnost kvasovk. Povečana funkcija optimizacije fermentacijske kinetike in dodatna funkcija vezave za kvasovke toksičnih ali strupenih maščobnih kislin. Količina: 5-45 g/hL

2.7 SHEMA PREDELAVE BELEGA GROZDJIA V MLADO VINO

Na sliki 3 je prikazana klasična tehnološka shema predelave belega grozdja v mlado vino.

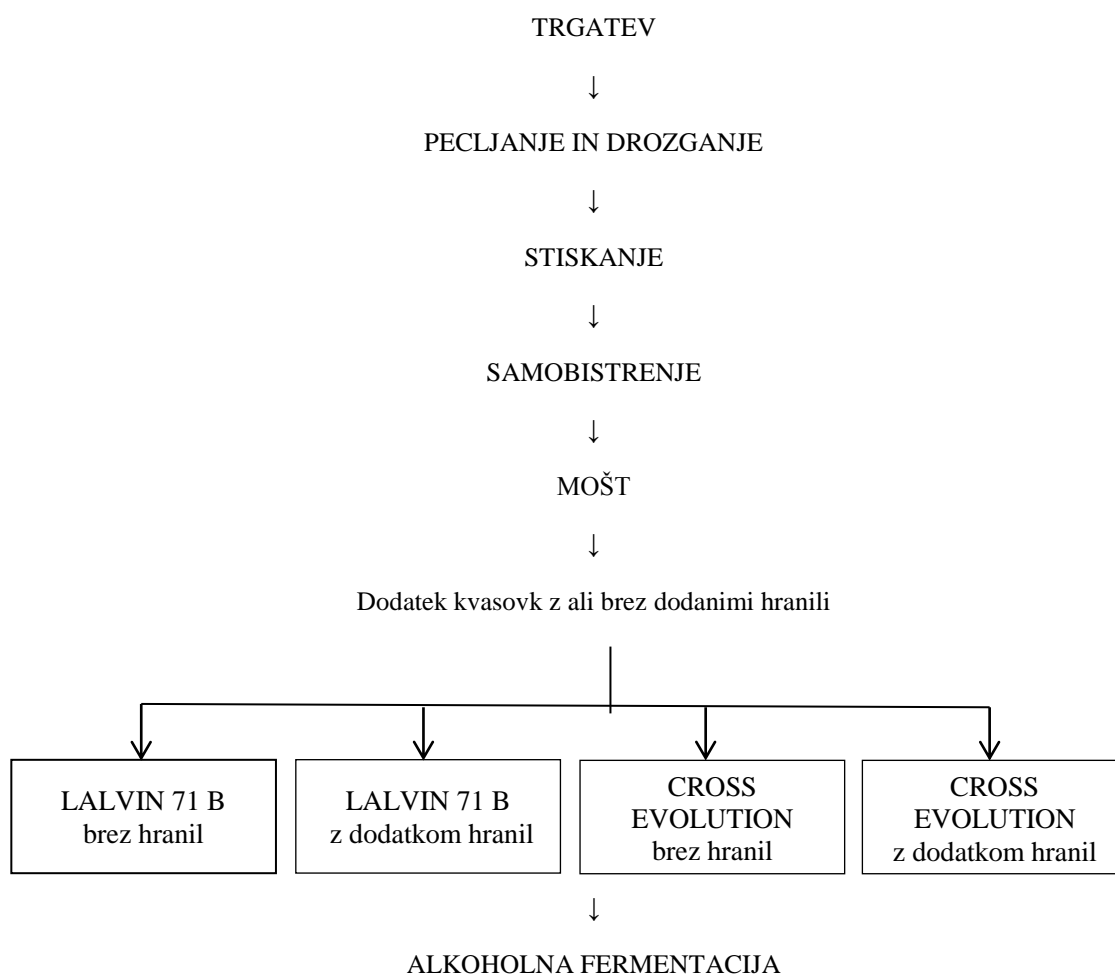


Slika 3: Klasična tehnološka shema predelave belega grozdja do mladega vina (Vrščaj Vodošek, 2004).

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 ZASNOVA POSKUSA

Poskus se je začel septembra 2008 v vinogradu Stojka Kristančiča iz Vipolž v Goriških Brdih.



Slika 4: Shema poskusa.

3.2 MATERIAL

3.2.1 Mošt

Poskus smo nastavili z grozdom oz. moštom sorte rebula. Uporabili smo mošt sorte rebula iz Goriških Brd, letnika 2008.

3.2.2 Kvasovke

V poskusu smo uporabili dva različna seva selekcioniranih kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* za bela vina. Izbrali smo kvasovki Lalvin 71 B in Cross evolution, proizvajalca Lallemand iz Francije.

Lastnosti izbranih kvasovk (Lallemand, 2008):

LALVIN 71B (71B):

- kvasovka selekcionirana na inštitutu INRA, Narbonne, Francija,
- v času vrenja je sposobna zmanjšati količino jabolčne kisline za 20-40 %,
- zaokrožena, mehka nežna vina, odličnih arom,
- za vse bele sorte, kot tudi za mlada rdeča vina, ki gredo hitro na tržišče,
- senzorični učinek: estri,
- temperaturno območje fermentacije: 15-30 °C,
- hitrost vrenja: srednja,
- tolerantna na alkohol: do 14 vol.% alk.,
- potreba po dušiku: majhna,
- doziranje: 20 g/hL.

CROSS EVOLUTION (CRO):

- prvi hibrid iz Lallemanda, selekcija Stellenbosch, Južna Afrika,
- odlična za vse nevtralne bele sorte,
- zelo kompleksna aromatika vina, odličnega volumna, polnosti,
- daje vinom dobro ravnotežje med kislinami in volumnom,
- senzorični učinek: poudarja sortne arome,
- temperaturno območje fermentacije: 10-20 °C,

- hitrost vrenja: srednja,
- tolerantna na alkohol: do 15 vol.% alk.,
- potreba po dušiku: majhna,
- doziranje: 25 g/hL.

3.2.3 Hranila za kvasovke

V poskusu smo kot hranila za kvasovke uporabili Optiwhite, proizvajalca Lallemand iz Francije. Lastnosti hranil OPTIWHITE (Lallemand, 2008):

- posebne inaktivne kvasovke z anti-oksidativnimi lastnostmi,
- vinom daje polnost, zaokroženost, volumen, potencial za staranje,
- stabilnost arome,
- stabilizacija barve,
- raztaplja celične stene kvasovk – osvobajanje manoproteinov in aminokislin,
- doziranje: 30-50 g/hL.

3.3 METODE DELA

3.3.1 Trgatev in pridobitev mošta

Trgatev smo opravili dne 28. 9. 2008, ko je bilo grozdje v tehnološki zrelosti. V najkrajšem času smo grozdje pripeljali do kleti, kjer smo ga pecljali in drozjali na pecljalniku. Drozgo smo prečrpali v posodo iz nerjavečega jekla, kjer je ostala na maceraciji 18 ur pri 11,5 °C. Po končani maceraciji smo drozgo prečrpali v pnevmatsko stiskalnico, kjer smo drozgo stisnili pri nizkem tlaku (do 0,8 bar). Po stiskanju smo mošt prečrpali v posodo iz nerjavečega jekla, kjer je potekalo samobistrenje pri 10 °C. Po 24-ih urah smo del mošta za poskus prenesli v hladilno komoro s temperaturo 0 °C, kjer je ostal do 22. 10. 2008, ko se je poskus začel.

3.3.2 Fermentacijski poskus

Poskus smo zasnovali z dvema različnima sevoma vinskih kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* samostojno in v kombinaciji z dodanimi hranili za kvasovke, kot je prikazano na sliki 4.

Mošt smo razdelili v 500 mL vrele steklenice v treh ponovitvah za vsak vzorec. Tako smo spremljali alkoholno fermentacijo za 12 steklenic. Kvasovke in hranila za kvasovke smo dodali po navodilih proizvajalca na začetku poskusa. Vrelne steklenice smo zatesnili z gumijastim zamaškom z vrelo veho in jih do začetka fermentacije pustili na temperaturi 22-23 °C, nato smo jih prestavili v vrelo sobo s temperaturo 16 °C. Alkoholna fermentacija je trajala 22 oz. 27 dni, med katero smo steklenice tehtali dvakrat dnevno.

Odločili smo se, da vzorce po končani alkoholni fermentaciji in do konca poskusa, ne bomo dodatno zaščitili proti oksidaciji.

3.3.3 Fizikalne in kemijske analize mošta in vina

3.3.3.1 Določanje vsebnosti reducirajočih sladkorjev mošta in vina

Koncentracijo reducirajočih sladkorjev v moštu in vinu smo določili z metodo po Rebeleinu (Košmerl in Kač, 2007). S Fehlingovim reagentom in segrevanjem kvantitativno oksidiramo reducirajoče sladkorje v karboksilne kisline, dvovalentni bakrov ion iz reakcijske zmesi pa se reducira do bakrovega(I) oksida. Preostali Cu^{2+} ioni se v raztopini kalijevega jodida ob dodatku žveplove(VI) kisline reducirajo, nastali jod pa titrimetrično določimo z raztopino natrijevega tiosulfata ob dodatku škrobovice kot indikatorja. Koncentracijo reducirajočih sladkorjev odčitamo direktno iz birete (Košmerl in Kač, 2007).

3.3.3.2 Določanje pH vina

Pri določanju pH-ja v moštu in vinu merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v mošt ali vino. To je potenciometrična metoda. Referenčna elektroda ima znan potencial, druga (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Navadno se uporablja kombinirana elektroda (merilna in referenčna elektroda v enem kosu). Uporabljamo pH meter s skalo v pH enotah (Košmerl in Kač, 2007).

3.3.3.3 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v vinu

Pri kislinsko-bazni potenciometrični titraciji merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v mošt ali vino. Referenčna elektroda ima stalen (znan) potencial, druga steklena (merilna) elektroda pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Merimo pH, na avtomatskem titratorju po poteka titracija kislin v vzorcu. Ti tracija poteka z 0,1 M raztopino NaOH do pH 7,0 oziroma 8,2. Iz porabljenega volumna NaOH in koncentracije lahko preračunamo porabo v grame vinske kisline/L mošta ali vina (Košmerl in Kač, 2007).

3.3.3.4 Določanje dejanske pufrne kapacitete

Pufrno kapaciteto mošta ali vina opišemo kot lastnost mošta ali vina, da se njegov pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz bistveno na spremeni. Definicija pufrne kapacitete je množina (število molov) H_3O^+ ali OH^- ionov, ki jih moramo dodati 1 L vzorca, da se njegov pH spremeni za eno enoto. Je funkcija pH (Košmerl in Kač, 2007).

Za določanje pufrne kapacitete, merimo pH s pH metrom in skalo v pH enotah ob dodajanju titrnta (kislina/baza). Z izračunom pufrne kapacitete dobimo orientacijsko vrednost, ki nam služi kot parameter pri ocenjevanju zrelosti grozdja. Za točen rezultat moramo ločeno narisati krivulje pufrne kapacitete ob dodajanju kisline in ob dodajanju baze, ki ju izračunamo iz enačb premice. Dejansko pufrno kapaciteto (DPK) izračunamo kot vsoto kislinske in bazične (Košmerl in Kač, 2007).

3.3.3.5 Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu

Termostatiranemu vzorcu vina (20 °C) izmerimo relativno gostoto z denzimetrom. Nato točno določen volumen (100 mL) ponovno termostatiranega vzorca predestiliramo z destilacijsko napravo v merilno bučko. Po destilaciji vzorca dobljeni alkoholni destilat ponovno termostatiramo in izmerimo njegovo relativno gostoto z denzimetrom. Poleg relativne gostote odčitamo tudi koncentracijo (volumski delež) alkohola.

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

$$d_{SE} = d_V - d_A + 1,0000 \quad \dots (3)$$

Legenda: d_{SE} – relativna gostota skupnega ekstrakta vina, d_V – relativna gostota vzorca vina, d_A – relativna gostota alkoholnega destilata.

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

3.3.3.6 Določanje hlapnih kislin v vinu

Vzorec vina najprej destiliramo z vodno paro. Pridobljeni destilat titriramo s standardizirano vodno raztopino natrijevega hidroksida. Rezultat izrazimo kot očetno kislino (g/L) (Košmerl in Kač, 2007).

3.3.3.7 Določanje žveplovega dioksida v vinu po Ripperju

Določanje prostega in skupnega žveplovega dioksida (SO_2) po Ripperjevi metodi (Košmerl in Kač, 2007) temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda.

Za določitev prostega SO_2 vzorec vina najprej nakisamo z dodatkom žveplove(VI) kisline, dodamo indikator škrobovico, in titriramo s standardizirano raztopino joda. Jod oksidira žveplovo (IV) kislino v žveplovo (VI) kislino in v končni točki titracije prebitna količina joda obarva raztopino modro(Košmerl in Kač, 2007).

Za določitev skupnega SO_2 pa vzorcu vina najprej dodamo 1 M NaOH, da dosežemo hidrolizo vezanega SO_2 . Sledi dodatek ostalih reagentov in jodometrična titracija, kot pri določanju prostega SO_2 (Košmerl in Kač, 2007).

3.3.3.8 Določanje antioksidativnega potenciala z radikalom DPPH^{*}

Antioksidativni potencial (AOP) določamo s stabilnim prostim radikalom 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH^{*}) (Brand-Williams in sod., 1995), kateremu smo dodali metanol do vrednosti absorbance okrog 1,0. Ko alkoholna raztopina DPPH^{*} reagira z antioksidantom, se tvori reducirana oblika DPPH^{*}₂, kar povzroči spremembo barve iz vijolične na rumeno, ter padec absorbance pri valovni dolžini 515 nm. Bolj kot se absorbanca zmanjša, večji je AOP vin. Izračunamo razliko absorbanc med referenčno raztopino in vzorcem, ki je

proporcionalna AOP. Iz poznanega molarnega ekstinkcijskega koeficienta DPPH^{*} (Molyneux, 2004) in z upoštevanjem razredčitev izračunamo AOP in ga izrazimo kot množino reduciranega DPPH^{*} na liter vina (mmol/L) (Košmerl in sod., 2005).

3.3.3.9 Senzorično ovrednotenje vina

Deskriptivna analiza po lastni presoji

Vzorci vin smo analizirali tudi senzorično z deskriptivno metodo po lastni presoji. Deskriptivno smo ocenili bistrost, barvo, vonj, okus in harmonijo mladega vina.

Najprej smo opisali bistrost vina tako, da smo nagnili kozarec proti svetlobi pod kotom 35-40°. Bistrost vina opišemo kot motno, z meglico, medlo, bistro, kristalno bistro in z ali brez usedline.

Sledi opis videza pri katerem kozarec pod kotom usmerimo ob belo podlago in pogledamo barvo vina. Tukaj opazujemo ton barve, globino barve, viskoznost in penjenje. Vonj vina ocenimo tako, da najprej povohali v mirujočem kozarcu pred vrtenjem, pri čemer smo bili pozorni na vrsto in intenziteto vonjav. Nato kozarec z vinom zavrtimo, s tem pospešimo sproščanje aromatičnih sestavin vina in povonjamo z nosom golobje v kozarcu. Zaznane vonjave primerjamo z vrsto in intenzivnostjo vonjav v mirujočem kozarcu. Okus vina ocenimo tako, da manjšo količino (6-10 mL) damo v usta in to razporedimo po celotni ustni votlini – prekrijem površino jezika, lica in nebo. Pozorni smo na časovni pojav zaznav posameznega okusa (sladko, slano, kislo, grenko), trajanje zaznave, obstojnost ali perzistentnost ter spremembe v zaznavi in intenzivnosti okusa. Temu sledi taktilna ali tipna zaznava trpkosti (astringence), zbadanja ali pikanja (npr CO₂), polnosti, ekstraktnosti, temperature in toplote vina. V tej fazi se ponovno pojavi zaznava vonja vina kot posledica višje temperature v ustih, pri čemer smo pozorni predvsem na vrsto, razvoj in trajanje intenzivnosti vonjav v primerjavi samo z vohanjem vina. Nato opišemo še pookus vina – to je vonj, ki ga zaznamo, če je po 15-30 sekundah vdihnemo zrak v pljuča (hlape vina), popijemo ali izpljunemo požirek v pljuvalnik ter izdahnemo ogrete hlape skozi nos. Glede na splošni ali končni vtis pa smo vino opisali kot harmonično ali manj harmonično (Košmerl, 2007b).

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 REZULTATI ANALIZ MOŠTA

V preglednici 5 so prikazani rezultati kemijske analize mošta rebula, ki je bila opravljena po samobistrenju in pred začetkom fermentacijskega poskusa. Sladkorna stopnje, ki smo jo določili v moštu, je bila 81,0 °Oe. Pričakovali smo višjo stopnjo sladkorja, saj je bilo grozdje potrgano približno 14 dni pozneje za prvimi sortami v tem vinogradniškem okolišu. Vrednost pH 3,48 je med 3,1 in 3,6, katera je značilna za mošte po trgatvi. Skupne (titrabilne) kisline izmerjene v moštu (5,14 g/L) so nizke, kar je posledica pozne trgatve in zrelosti grozdja. Vrednost dejanske pufrne kapacitete 40,47 mmol/L/pH je optimalna.

Preglednica 5: Rezultati kemijske analize osnovnega mošta.

Parameter	Enota	Vrednost
sladkorna stopnja	°Oe	81,0
pH		3,48
titrabilne kisline	g/L	4,92
skupne kisline	g/L	5,14
dejanska pufrna kapaciteta	mmol/L/pH	40,47
prosti SO ₂	mg/L	3,84
skupni SO ₂	mg/L	20,24

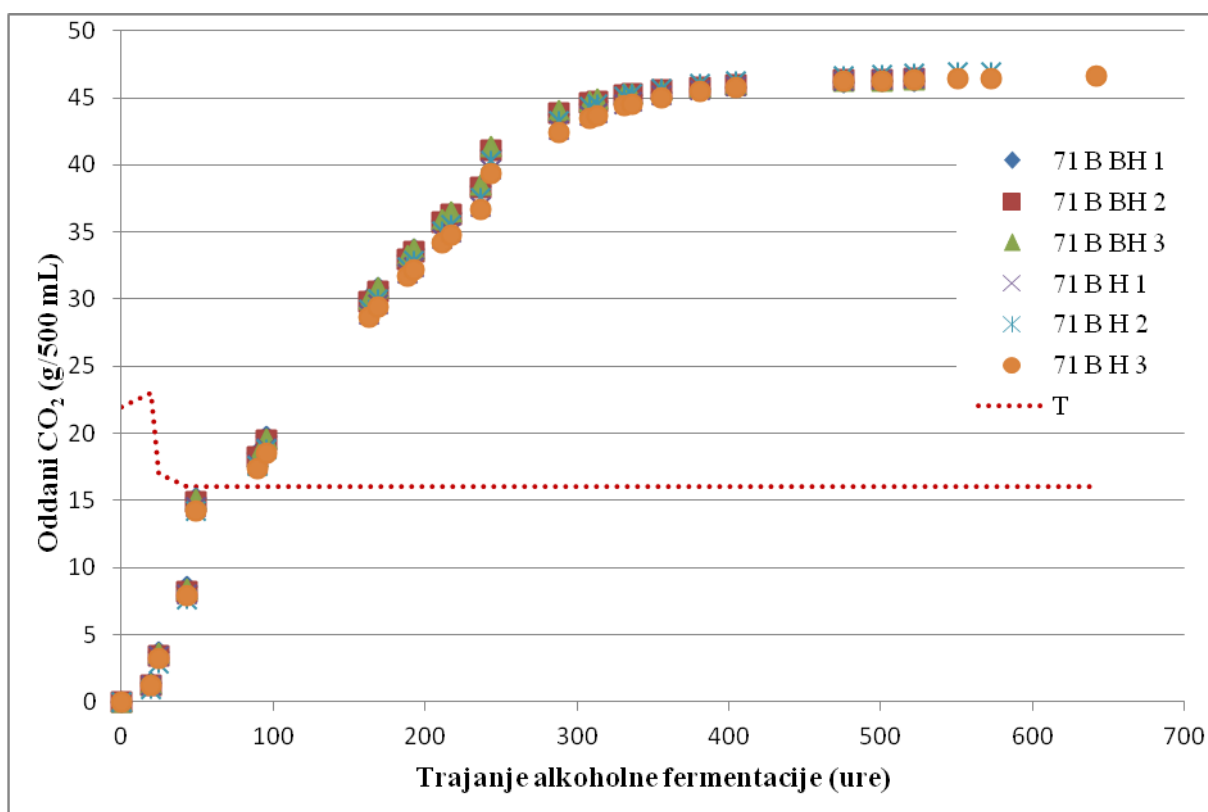
4.2 FERMENTACIJSKE KRIVULJE

Pri reakcijah alkoholne fermentacije, v kateri se sladkor spremeni v etanol, pride do oddaje CO₂ in s tem izgube mase. Količina sproščenega CO₂ in hitrost alkoholne fermentacije je odvisna od fizikalno-kemijske sestave mošta, inokuliranega seva kvasovk in temperature, pri kateri poteka alkoholna fermentacija (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

Sliki 5 in 6 prikazujeta oddani CO₂ (g/500 mL) med alkoholno fermentacijo za posamezni sev kvasovk. Količina oddanega CO₂ je med paralelkami znotraj istega seva kvasovk primerljiva. Poskus je pokazal, da ni velikih odstopanj v fermentacijski kinetiki med sevi vinskih kvasovk, ki so fermentirali samostojno, in tistimi, ki smo jim dodali hranila za kvasovke. Večjo razliko med sevi opazimo pri fazi prilagajanja kvasovk. Kvasovke 71B

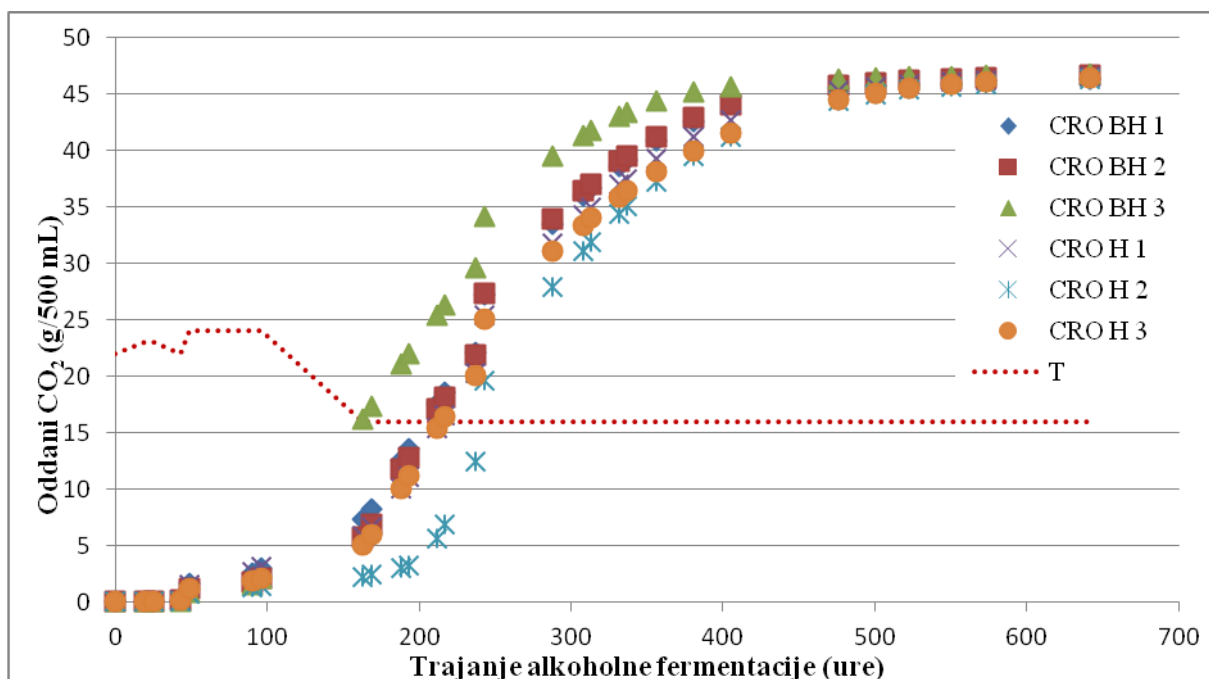
imajo hitrejši začetek fermentacije (krajša faza prilagajanja) v primerjavi s kvasovkami CRO in intenzivnejše sproščanje CO₂.

Želja vsakega vinarja je, da je lag faza oziroma faza prilagajanja kvasovk čim krajša, saj to pomeni hitrejši začetek fermentacije in s tem povezano oddajanje CO₂, kateri je pomemben zaščitnik proti oksidaciji mošta.



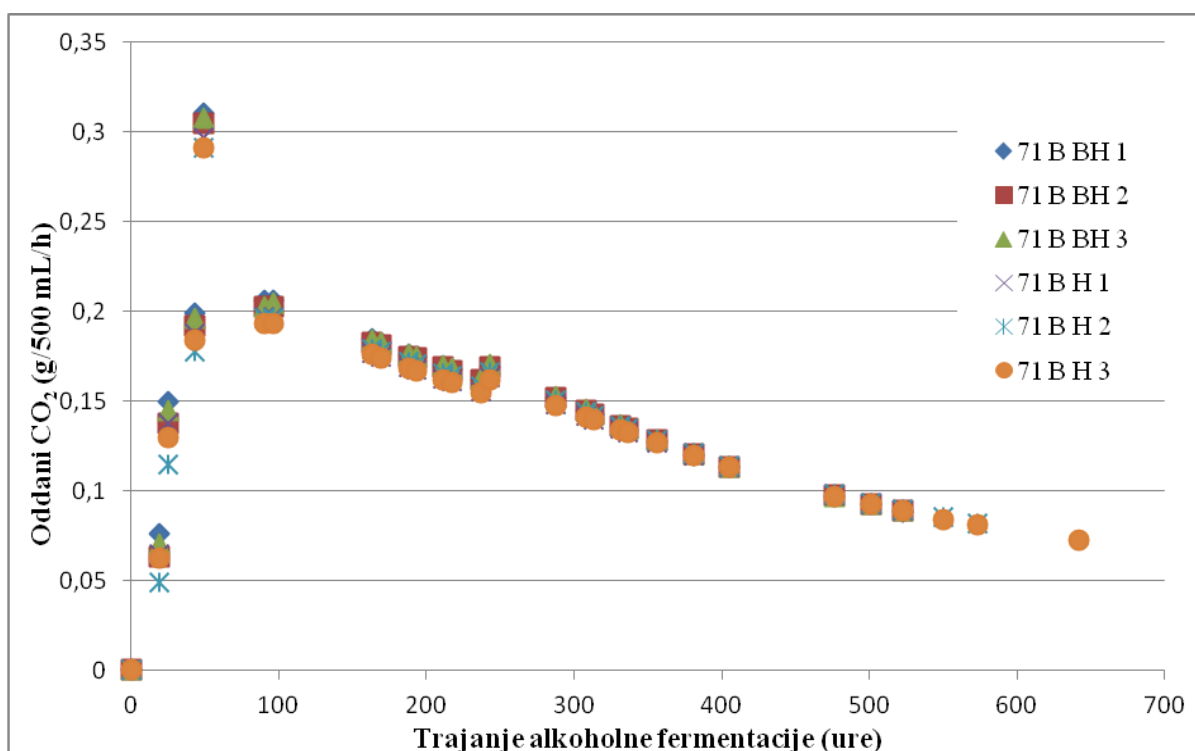
Legenda: 71B = kvasovke Lalvin 71B, BH = brez dodatka hranil, H = z dodatkom hranil, 1,2,3 = paralelke 1-3, T = temperatura fermentacijskega prostora v °C.

Slika 5: Količina oddanega CO₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije za kvasovke 71B BH in 71B H.



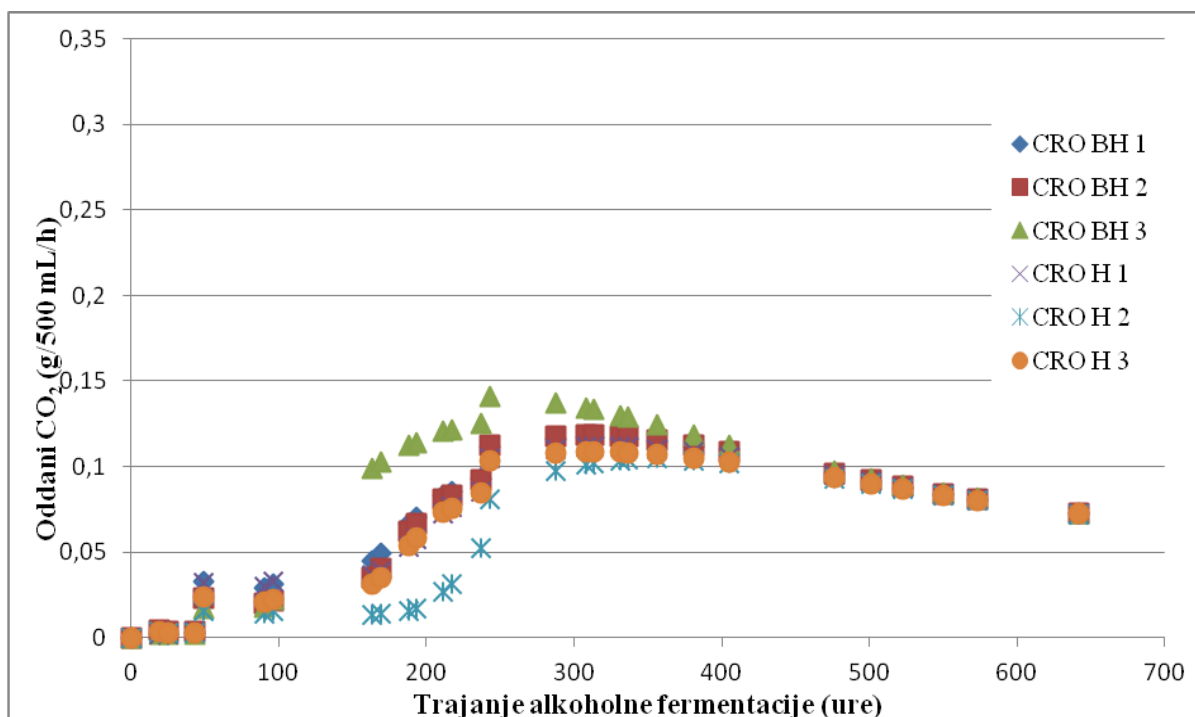
Legenda: CRO = kvasovke Cross Evolution, BH = brez dodatka hranil, H = z dodatkom hranil, 1,2,3 = paralelke 1-3, T = temperatura fermentacijskega prostora v °C.

Slika 6: Količina oddanega CO₂ (g/500 mL) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije za kvasovke CRO BH in CRO H.



Legenda: 71B = kvasovke Lalvin 71B, BH = brez dodatka hranil, H = z dodatkom hranil, 1,2,3 = paralelke 1-3.

Slika 7: Kinetika oddanega CO₂ (g/500 mL/h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije za kvasovke 71B BH in 71B H.



Legenda: CRO = kvasovke Cross Evolution, BH = brez dodatka hranil, H = z dodatkom hranil, 1,2,3 = paralelke 1-3.

Slika 8: Kinetika oddanega CO₂ (g/500 mL/h) v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije za kvasovke CRO BH in CRO H.

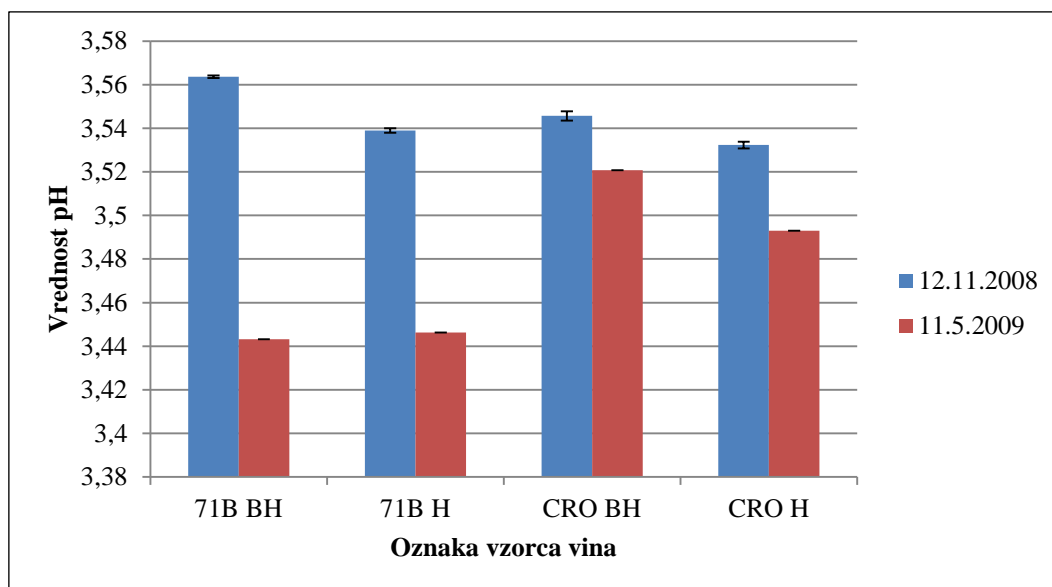
Sliki 7 in 8 prikazujeta kinetiko (hitrost) oddanega CO₂ (g/500mL/h) za posamezne vrele steklenice. S slik vidimo, da vzorci 71B dosežejo maksimalno sproščanje CO₂ po 49 urah, medtem ko vzorci CRO dosežejo maksimalno sproščanje po približno 300 urah. Pri vzorcih CRO izstopata vzorec CRO BH 3, ki v primerjavi z ostalimi vzorci CRO odda več CO₂ (g/500 mL/h) in doseže maksimalno sproščanje po 243 urah in vzorec CRO H 2, ki ima najdaljšo fazo prilagajanja. Tudi tukaj lepo razvidna daljša faza prilagajanja kvasovk CRO in zelo kratka faza prilagajanja pri kvasovkah 71B. S slik 7 in 8 je lepo razvidno, da kvasovke 71B oddajo bistveno več CO₂.

4.3 ANALIZE VINA

4.3.1 Rezultati merjenja vrednosti pH

Koncentracija oziroma aktivnost H₃O⁺ ionov, ki jih izražamo kot pH, je pomembnejši podatek kot podatek o skupnih (titrabilnih kislinah). Z dozorevanjem grozdja se pH

zvišuje. Pri moštih normalnih trgategv je vsebnost pH med 3,1 in 3,6, medtem ko je pH mladih vin manjši od 3,6 (Košmerl in Kač, 2007).

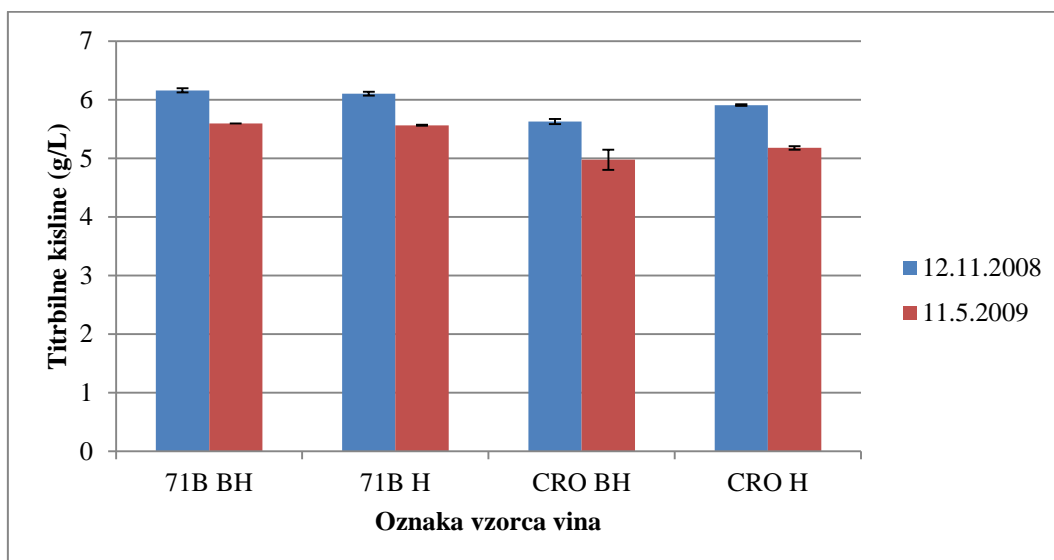


Slika 9: Spreminjanje vrednosti pH med zorenjem vina. Rezultati so prikazani kot povprečje vrednosti meritev \pm S.D.

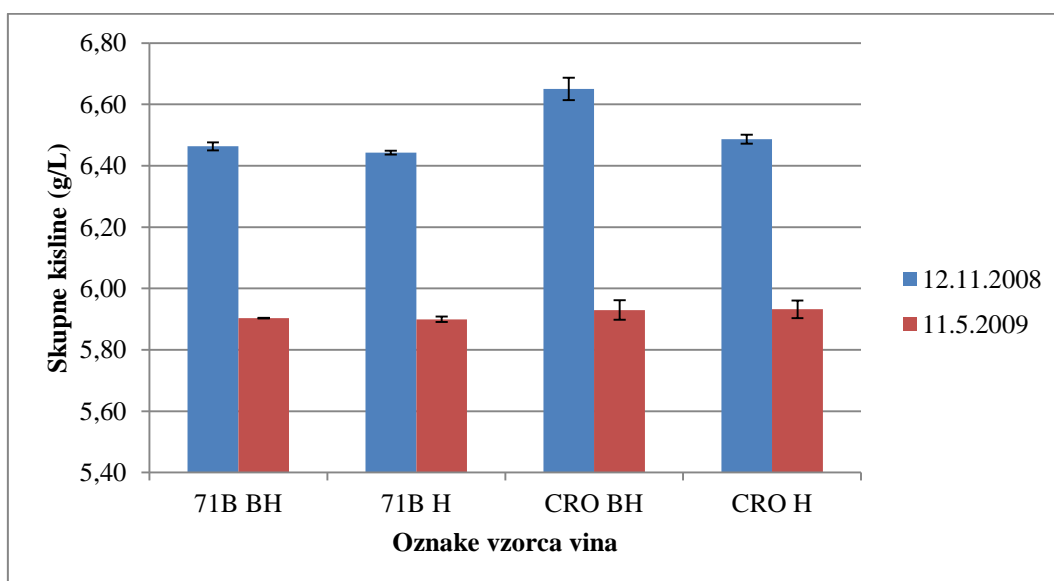
Na sliki 9 so prikazani rezultati merjenja pH po zaključeni AF in po 6 mesecih zorenja. Iz rezultatov je razvidno, da po zaključeni fermentaciji ni velikih razlik v pH vrednosti med vzorci. Najvišji pH ima vzorec 71B BH 3,56, najnižji pa vzorec CRO H 3,53. Razlika med nima je 0,03 pH enote. Večja razlika med vzorci je po 6 mesecih zorenja, kjer je vrednost pH vina, pridelanega s kvasovkami 71B 3,45 medtem ko je pri kvasovkah CRO 3,50. Izkazalo se je, da dodatek hranil za kvasovke ne vpliva bistveno na končni pH vina.

4.3.2 Rezultati merjenja vsebnosti skupnih (titrabilnih) kislin

Za določitev optimalnega časa trgatve je bistveno sprotno določanje kislosti in pH vrednosti mošta. Med dozorevanjem grozdja je značilno zmanjševanje koncentracije kislin in s tem posledično višanje pH, medtem ko med in po alkoholni fermentaciji nastanejo poleg vinske, jabolčne in citronske tudi očetna, propionska, pir, mlečna, jantarna, glikolna, galakturonska, glukonska, oksalna in fumarna kislina. Skupna vrednost karboksilnih kislin, ki jo izrazimo kot vinsko kislino je v grozdnem soku, moštu in vinu med 6 in 9 g/L, pri sladkih in desertnih vinih pa med 4 in 6,5 g/L (Košmerl in Kač, 2007).



Slika 10: Spreminjanje vsebnosti titrabilnih kislin (g/L) med zorenjem vina. Rezultati so prikazani kot povprečje vrednosti meritev \pm S.D.



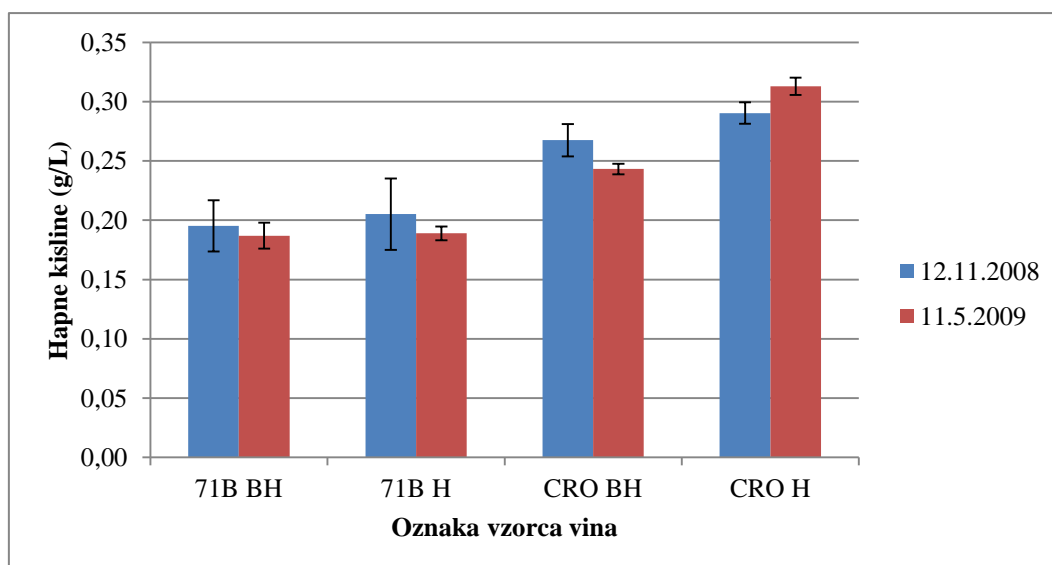
Slika 11: Spreminjanje vsebnosti skupnih kislin (g/L) med zorenjem vina. Rezultati so prikazani kot povprečje vrednosti meritev \pm S.D.

S slik 10 in 11 je razvidno, da so se koncentracije titrabilnih in skupnih kislin tekom alkoholne fermentacije povečale pri vseh štirih vzorcih iz 5,14 g/L pred začetkom alkoholne fermentacije na približno 6,45 g/L, razen vzorec CRO BH, ki je imel 6,65 g/L skupnih kislin v mladem vinu. Tekom zorenja pa je vrednost karboksilnih kislin padla na približno 5,90 g/L pri vseh štirih vzorcih. Vsi štirje vzorci zadoščajo pogoju, da je razlika

med skupnimi in titrabilnimi kisljinami med 0,3 in 1,0 g/L, kar je običajna koncentracija kislodelujočih soli v vinu.

4.3.3 Rezultati merjenja vsebnosti hlapnih kislin

Kot hlapne kisline v vinu mislimo predvsem na mravljinčno, očetno in butanojsko kislino. Mlada vina običajno vsebujejo manj hlapnih kislin kot stara. Prav tako je tvorba le-teh bistveno manjša v vinih pridelanih iz moštov z manjšo oziroma normalno koncentracijo sladkorjev v primerjavi s poznimi trgatvami (sladka vina). Manjše količine hlapnih kislin (do 0,3 g očetne kisline/L) nastanejo kot stranski produkt med čisto alkoholno fermentacijo vina s kvasovkami. Napake in bolezni vina (očetnokislinski ton in cik) sta lahko senzorično v vonju zaznavna že med 0,6-0,9 g očetne kisline/L vina (Košmerl in Kač, 2007). Koncentracija hlapnih kislin je v vinu zakonsko določena, in sicer v belih vinih ne sme presegati 1,0 g očetne kisline/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).



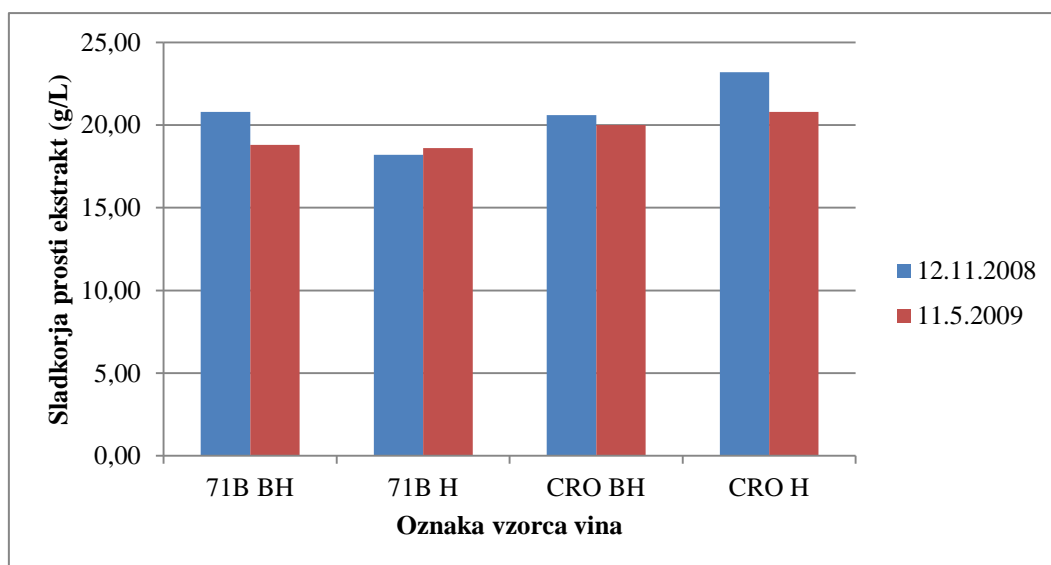
Slika 12: Vsebnost hlapnih kislin v vzorcih mladih vin (g/L) med zorenjem vina. Rezultati so prikazani kot povprečje vrednosti meritev \pm S.D.

S slike 12 je razvidno, da nobeden vzorec ne presega zakonsko določene koncentracije hlapnih kislin. Vzorci s kvasovkami CRO imajo višje koncentracije hlapnih kislin kot kvasovke 71B. Pri kvasovkah 71B je bila koncentracija hlapnih kislin takoj po alkoholni fermentaciji in tudi kasneje po zorenju vina okrog 0,20 g/L. Vzorcju vina CRO BH smo

izmerili 0,27 g/L, po šestih mesecih zorenja pa 0,24 g/L, vzorec CRO H pa 0,29 in kasneje 0,31 g/L. Slednji je imel tudi najvišjo izmerjeno koncentracijo hlapnih kislin.

4.3.4 Rezultati merjenja vsebnosti 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 začetno vsebnost sladkorja v moštu. Sladkorja prosti ekstrakt (SPE) je po definiciji razlika med skupnim ekstraktom in reducirajočimi sladkorji. Rdeča vina imajo več sladkorja prostega ekstrakta v primerjavi z rdečkastimi, rosé in belimi vini. Vsebnost ekstrakta je odvisna od sorte, zrelosti, načina trgatve in pogojev fermentacije. Vpliv različnih sevov čiste kulture v primerjavi s spontanim vrenjem po literaturnih podatkih ni statistično značilen. Vsebnost sladkorja prostega ekstrakta je 7-30 g/L, povprečno 20 g/L (Košmerl in Kač, 2007).



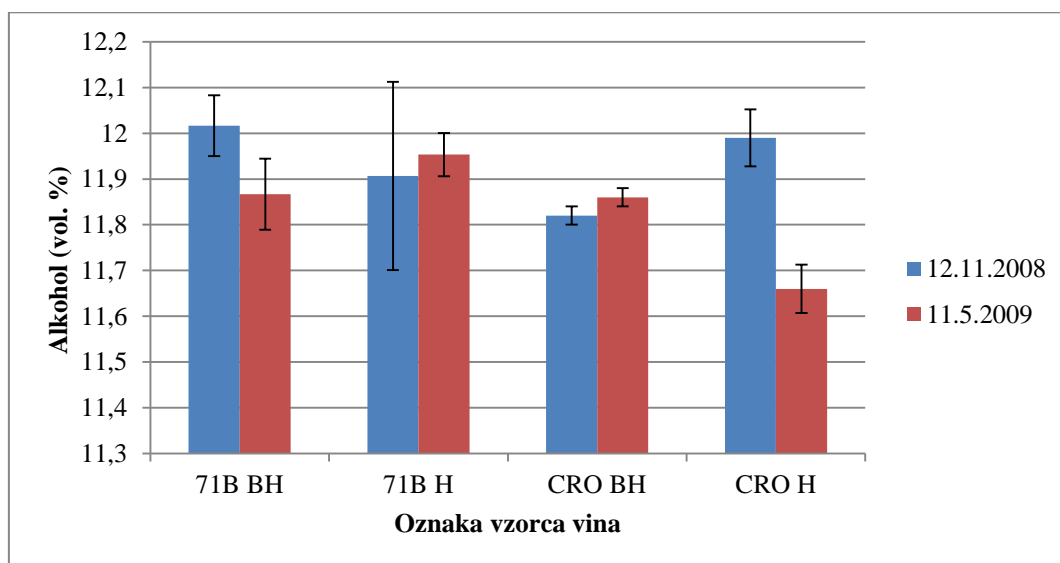
Slika 13: Vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta (g/L) v vzorcih mladih vin.

Na sliki 13 so prikazani rezultati SPE v vzorcih mladih vin. Najnižji izmerjen SPE na dan 12. 11. 2008 je pri vzorcu 71B (18,20 g/L), najvišji pa pri CRO H (23,20 g/L). Na dan 11. 5. 2008 sta imela najnižji (18,60 g/L) in najvišji (20,80 g/L) izmerjen SPE ista vzorca. Zanimivo je, da pri sevu 71B vzorec z dodatkom hranila za kvasovke imel nižji SPE kot vzorec brez dodatka hranil, medtem ko je pri sevu CRO slika obratna. Po pričakovanjih se je po šestih mesecih zorenja trem vzorcem zmanjšala koncentracija SPE, razen pri vzorcu

71B se je povečala za 0,40 g/L. Pri slednjem gre po vsej verjetnosti za analitsko napako. Zakonsko predpisana minimalna koncentracija SPE je 16 g/L za bela deželna vina PGO, medtem ko je za razred kakovostnih vin ZGP zahtevano najmanj 18 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004, priloga III). Vsi štirje vzorci so imeli večjo koncentracijo SPE od minimalno predpisane za kakovostni razred belih vin.

4.3.5 Rezultati merjenja vsebnosti alkohola

Ko govorimo o alkoholu v vinu, pomeni to etanol. Etanol je glavni produkt alkoholne fermentacije s kvasovkami *Saccharomyces cerevisiae* iz glukoze in fruktoze v moštu. Poleg etanola vsebuje vino tudi druge monohidroksi alkohole. Koncentracija etanola v vinu je odvisna od sorte, načina trgatve (ročna ali mehanska), vsebnost fermentabilnih sladkorjev (zrelost grozdja, sev kvasovk, vrelna temperatura, vsebnost hranilnih snovi v grozdnem moštu, pogoji alkoholnega vrenja. Vinu daje stabilnost, deluje kot topilo in zagotavlja posebne senzorične lastnosti (Bavčar, 2006).



Slika 14: Vsebnost alkohola (vol.%) v vzorcih mladih vin. Rezultati so prikazani kot povprečje vrednosti meritev \pm S.D.

Slika 14 prikazuje vsebnost alkohola mladih vin. 12. 11. 2008 je imel vzorec 71B najvišjo alkoholno stopnjo (12,02 vol.%), najnižjo pa smo izmerili vzorcu CRO BH (11,82 vol.%). Na dan 11. 5. 2009 smo najvišji alkohol izmerili pri vzorcu 71B H (11,95 vol.%), najnižjega pa pri vzorcu CRO H (11,66 vol.%). Tekom zorenja vina se vsebnost alkohola

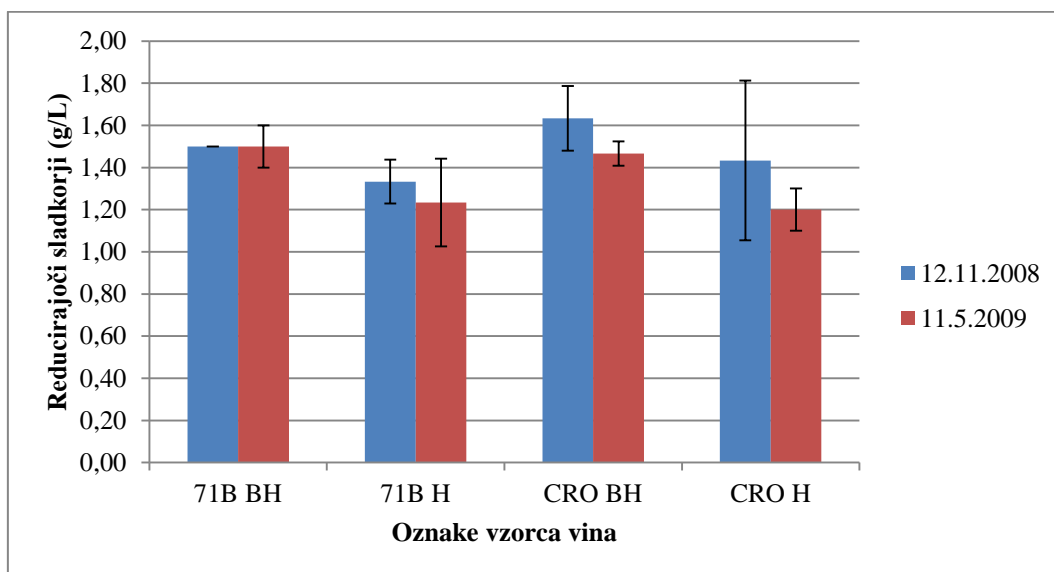
zmanjšuje zaradi oksidacije etanola v acetaldehid in reakcij esterifikacije etanola z ustreznimi kisljinami, predvsem z očetno kislino ob tvorbi etil acetata. To se je tudi zgodilo pri vzorcih 71B BH in CRO H. Višja vsebnost alkohola pri vzorcih 71B H in CRO BH je posledica analitske napake, saj je dovoljeno odstopanje 0,5 vol.%.

4.3.6 Rezultati merjenja vsebnosti reducirajočih sladkorjev

Končna koncentracija reducirajočih sladkorjev v vinu je pomembna za mikrobiološko stabilnost vina, za delitev vina v kategorije in predvsem senzorično vina (Bavčar, 2006).

Na podlagi vsebnosti nepovretilih reducirajočih sladkorjev v vinu, se mirna vina delijo na naslednje kategorije (Jug in sod., 2014; Pravilnik o pogojih..., 2004):

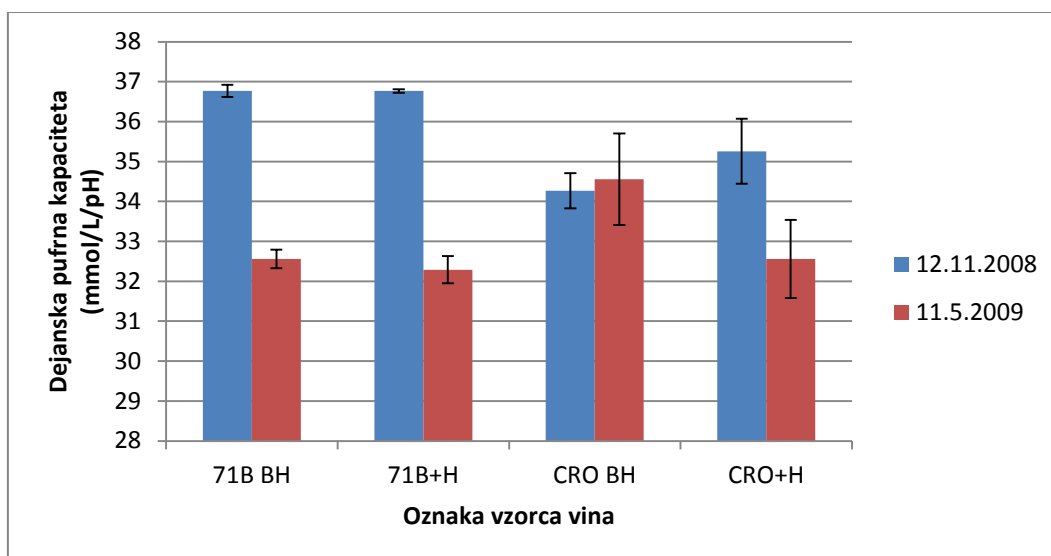
- Suho vino: največja dovoljena vsebnost reducirajočih sladkorjev je 9 g/L, največja dovoljena razlika med vsebnostjo reducirajočih sladkorjev in skupnih kislin, izraženih v g vinske kisline/L, ni več kot 2 g/L,
- polsuha vina: največja dovoljena vsebnost reducirajočih sladkorjev je 18 g/L, največja dovoljena razlika med vsebnostjo reducirajočih sladkorjev in skupnih kislin, izraženih v g vinske kisline/L, ni več kot 10 g/L,
- polsladko vino: največja dovoljena vsebnost reducirajočih sladkorjev je 45 g/L,
- sladko vino: vina z vsebnostjo reducirajočih sladkorjev nad 45 g/L.



Slika 15: Vsebnost reducirajočih sladkorjev (g/L) v mladih vinih. Rezultati so prikazani kot povprečje vrednosti meritev \pm S.D.

S slike 15 lahko razberemo, da imajo vsi štiri vzorci med 1,2 g/L CRO H in 71B in 1,6 g/L reducirajočih sladkorjev. Oba seva kvasovk, tako samostojno kot z dodatkom hranil za kvasovke, sta mošt Rebula povrela do »suhega« (manj kot 9 g/L reducirajočih sladkorjev). Pri obeh sevih kvasovk imajo po 6-mesečnem zorenju vina, pridelana z dodatkom hranil manjšo vsebnost reducirajočih sladkorjev za 0,3 g/L.

4.3.7 Rezultati merjenja dejanske pufrne kapacitete



Slika 16: Vsebnost dejanske pufrne kapacitete (mmol/L/pH) v mladih vinih. Rezultati so prikazani kot povprečne vrednosti meritev \pm S.D.

Preglednica 6: Podatki o kislinskih, bazičnih in dejanskih pufrnih kapacitetah.

vzorec	meritev 12. 11. 2008			meritev 11. 5. 2009		
	kislinska PK (mmol/L/0,5 pH)	bazična PK (mmol/L/0,5 pH)	dejanska PK (mmol/L/pH)	kislinska PK (mmol/L/0,5 pH)	bazična PK (mmol/L/0,5 pH)	dejanska PK (mmol/L/pH)
71B BH 1	16,41	20,47	36,88	15,02	17,38	32,40
71B BH 2	16,26	20,40	36,66	14,98	17,74	32,72
CRO BH 1	16,63	17,32	33,96	15,42	18,32	33,75
CRO BH 2	15,28	19,31	34,58	16,31	19,06	35,37
71B H 1	16,11	20,69	36,80	14,89	17,15	32,05
71B H 2	15,95	20,78	36,74	15,09	17,45	32,53
CRO H 1	15,06	19,62	34,68	14,62	17,25	31,87
CRO H 2	16,40	19,43	35,83	15,28	17,97	33,25

Legenda: PK = pufrna kapaciteta

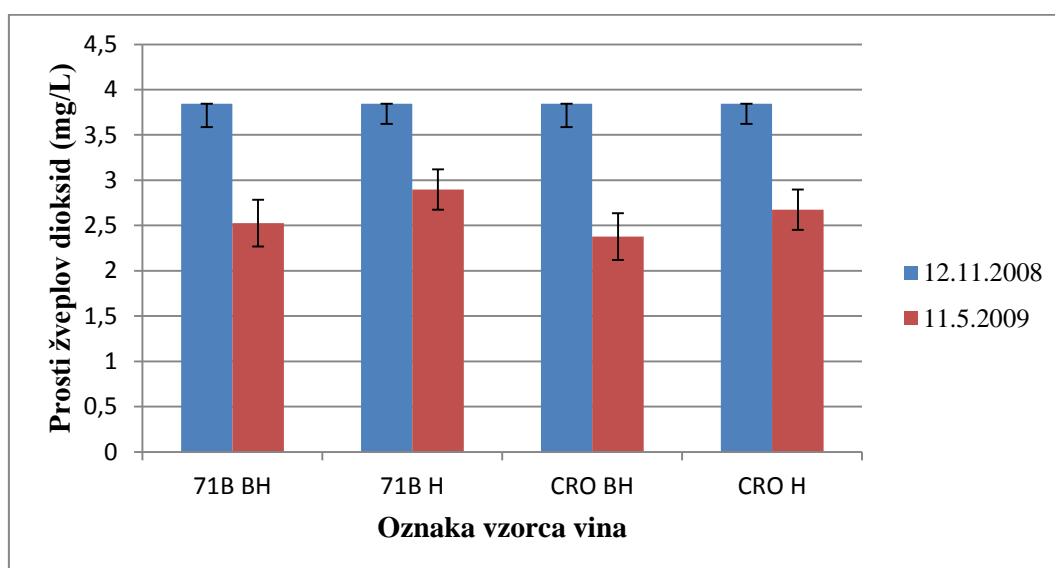
Običajno je pufrna kapaciteta od 35 do 50 mmol/L/pH, v ekstremnih primerih pa le 25 mmol/L/pH ali celo do 60 mmol/L/pH (Košmerl in Kač, 2007). Isti avtorici tudi navajata, da je običajno vrednost kislinske PK manjša v primerjavi z bazično, ter da je po vrednosti orientacijska PK večja od dejanske.

Slika 16 prikazuje dejansko pufrno kapaciteto (DPK) vzorcev. DPK mošta pred začetkom alkoholne fermentacije je bila 40,45 mmol/L/pH. Pri meritvi na dan 12. 11. 2008 je imel

najnižjo DPF vzorec CRO BH (34,27 mmol/L/pH), najvišjo pa vzorca 71B BH in 71B H (36,77 mmol/L/pH). DPK se tekom zorenja zmanjšuje. To se je zgodilo tudi pri naših vzorcih. Po šestih mesecih zorenja je bila najnižja vrednost DPK bila pri vzorcu 71B H (32,29 mmol/L/pH), najvišja pa pri vzorcu CRO BH (34,56 mmol/L/pH). Slednji vzorec je edini, ki se mu je DPK povišala v procesu zorenja, in sicer za 0,27 mmol/L/pH. Vsi vzorci so znotraj običajnih vrednostih DPK.

4.3.8 Rezultati merjenja vsebnosti prostega žveplovega dioksida

Žveplov dioksid se v vinu nahaja zaradi prisotnosti kvasovk in dodatkov kletarja med različnimi enološkimi postopki. Že same kvasovke tvorijo žveplov dioksid v koncentracijah nad 15 mg/L (Bavčar, 2006). V vinarstvu se žveplov dioksid uporablja zaradi antioksidativnega (preprečuje oksidacije) in protimikrobnega delovanja (preprečuje rasti in razmnoževanje nezaželenih kvasovk in bakterij). Prosti SO_2 je definiran kot nevezana oblika SO_2 v vinu: žveplov dioksid, ki ni vezan na acetaldehid, druge aldehide ali organske spojine, ki jih s skupnim imenom imenujemo *alfa*-hidroksi sulfonati ali pogovorno »porabniki žvepla«. V vinu je raztopljen kot SO_2 in kot HSO_3^- . Koncentracija 35 mg/L prostega SO_2 /L vina popolnoma onemogoči delovanje polifenoloksidaz. Vina običajno vsebujejo 5-40 mg/L prostega SO_2 /L (Košmerl in Kač, 2007), medtem ko je pravilniku ta koncentracija omejena le v vrhunskih vinih ZGP (Pravilnik o pogojih..., 2004).



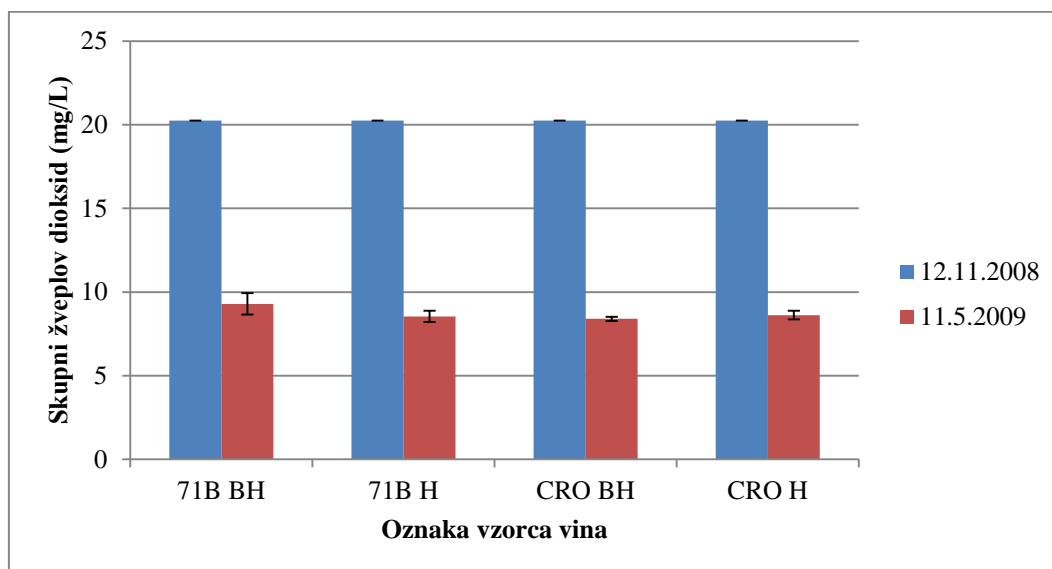
Slika 17: Vsebnosti prostega žveplovega dioksida (mg/L) v mladih vinih. Rezultati so prikazani kot povprečje vrednosti meritev \pm S.D.

S slike 17 so razvidne vsebnosti prostega SO_2 pred začetkom alkoholne fermentacije in po končanem zorenju vina. Najnižjo koncentracijo prostega SO_2 je imel vzorec CRO BH (2,4 mg/L prostega SO_2 /L), najvišjo pa vzorec 71B H (2,9 mg/L prostega SO_2 /L). Od začetka poskusa vzorcem vina nismo dodajali nobene oblike pripravkov za žveplanje, zato je vsebnost prostega žvepla tako nizka.

4.3.9 Rezultati merjenja vsebnosti skupnega žveplovega dioksida

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

Največja dovoljena koncentracija skupnega SO_2 (mg/L) je pri suhih belih in rose vinih (do 5 g/L reducirajočih sladkorjev) – 210 mg/L, pri vrednostih nad 5 g/L reducirajočih sladkorjev pa 260 mg/L (Pravilnik o pogojih..., 2004), medtem ko so po evropski uredbi te koncentracije za 10 mg/L manjše od navedenih (EC 606/2009, priloga I B).



Slika 18: Vsebnosti skupnega žveplovega dioksida v mladih vinih. Rezultati so prikazani kot povprečne vrednosti meritev \pm S.D.

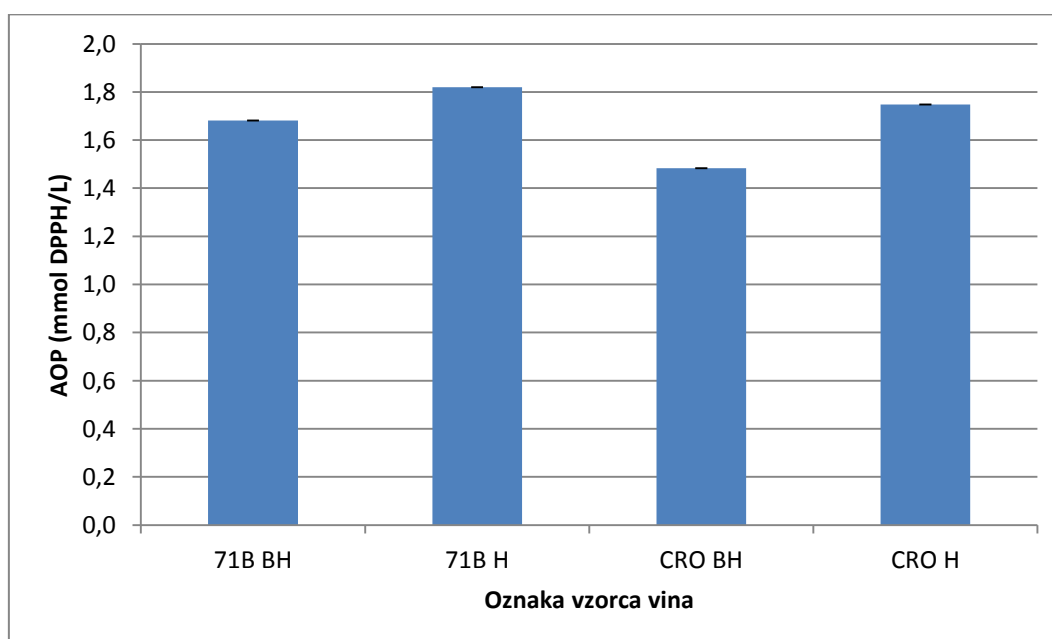
Na sliki 18 lahko vidimo vsebnost skupnega SO_2 na začetku poskusa in po zorenju. Pred začetkom alkoholne fermentacije je mošt vseboval 20,2 mg SO_2/L skupnega SO_2 . Po končanem poskusu smo izmerili najmanj skupnega SO_2 pri vzorcu CRO BH (8,4 mg SO_2/L), najvišjo koncentracijo pa pri vzorcu 71B BH (9,3 mg SO_2/L). Glede na to, da so vzorci zoreli le 6 mesecev, koncentracija skupnega SO_2 ne bi smela pasti tako nizko. Zato lahko sklepamo, da gre za analitsko napako.

4.3.10 Rezultati merjenja antioksidativnega potenciala (AOP)

Poznanih je več načinov za določanje antioksidativne učinkovitosti. V splošnem metode razvrstimo v dve skupini, in sicer (Abram, 2000):

- testi, kjer merimo učinek dodanega antioksidanta na napredovanje oksidacije v lipidnem sistemu in
- testi, kjer v modelnem sistemu merimo kako antioksidant učinkuje na izbrano tarčo (radikal, kovinski ion).

AOP mladih vin smo določali s spektrofotometrično metodo s prostim radikalom DPPH[•]. Določitev sposobnosti lovljenja radikala DPPH[•] je ena izmed starejših metod za določitev AOP vzorca oziroma za določitev sposobnosti antioksidantov za lovljenje radikalov. Metoda temelji na meritvah absorbance, ki se spreminja kot posledica spremembe barve iz vijolične v rumeno, ko radikal DPPH[•] preide v stabilen radikal DPPH[•]-H zaradi reakcije med stabilnim radikalom DPPH[•] in antioksidantom, ki je donor vodika (Abram, 2000).



Slika 19: Antioksidativni potencial vina po 6-mesečnem zorenju (mmol DPPH[•]/L). Rezultati so prikazani kot povprečne vrednosti meritev \pm S.D.

Na sliki 19 so prikazani povprečni AOP v mmol DPPH[•]/L po posameznih vzorcih vina. Merjenje AOP smo opravili po 6 mesecih zorenja. Vzorec 71B H ima najvišji AOP, in

sicer 1,820 mmol DPPH^{*}/L. Najnižji AOP smo izmerili pri vzorcu CRO BH 1,484 mmol DPPH^{*}/L. Pri sevu kvasovk 71B je razlika med 71B BH in 71 H 0,139 mmol DPPH^{*}/L, medtem ko je pri sevu kvasovk CRO 0,264 mmol DPPH^{*}/L. Pri obeh sevih kvasovk so je pokazal pozitiven vpliv dodatka hranil na višji AOP vina v primerjavi z vini, ki so bila pridelana brez dodatka hranil za kvasovke; razlika je pri kvasovkah CRO večja v primerjavi z 71B.

4.3.11 Rezultati senzorične analize vin

Senzorična analiza je znanstvena disciplina o merjenju in vrednotenju lastnosti živil s čutili, s katerimi človek zaznava videz, barvo, vonj, okus, temperaturo, idr. (Košmerl, 2007b). Nenadomestljiv dodatek kemijske analize vina je senzorična ocena vina, ki omogoča še dodatno prepoznavo različnih spojin v vinu, njihovih medsebojnih vplivov pa ne moremo določiti (Jug in sod., 2014). Dandanes je senzorična analiza priznana kot znanstvena disciplina, katere pomen se kljub številnim sodobnim in visoko občutljivim instrumentalnim analiznim metodam iz dneva v dan povečuje (Golob in sod., 2006).

Po zaključenih fizikalnih in kemijskih analizah in 6-mesečnem zorenju smo vzorce vina senzorično ocenili z metodo deskriptivne analize. Pri senzorični oceni smo sodelovali trije študenti in mentorica, ki je šolan preizkuševalec, opise vzorcev vina pa smo podali kot dogovor med vsemi nami.

Vzorec 71B BH

Na videz je bilo vino rahlo megleno z manj intenzivno vendar globoko zlatorumeno barvo. Na vonju se je čutil rahel oksidativen ton, ki je bil posledica nizke vsebnosti prostega SO₂. Sadnost in sortnost sta bili prekriti s fermentacijsko aromatiko. Pri okušanju vina nam je zaradi nizke vsebnosti skupnih kislin manjkla svežina. Posledica nizkega sladkorja prostega ekstrakta se je čutila v pomanjkanju polnosti okusa. Okus je bil omleden in trpek. Pri harmoniji je bilo moteče razmerje med trpkostjo in kislino.

Vzorec 71B H

Videz vina je bil moten, intenzivneje obarvan z rumeno-zlato barvo. Vonj je bil rahlo zaprt, ampak večplasten. Najprej se je vonjalo fermentacijske arome, nato se je razvila

sortna aromatika. Pri tem vzorcu je bil vonj bolj odprt in čist zaradi dodatka hranil za kvasovke, ki je imel za posledico višji AOP in je bil za razliko od vzorca 71B BH manj oksidiran. Na okusu se je čutila svežina, sadnost, z rahlo izstopajočo kislino, ki ni bila moteča. Imel je dolg pookus in lepo harmonijo med vonjem in okusom.

Vzorec CRO BH

Vino je bilo bistrejše. Intenzivnejša rumena barva z rahlim rjavkastim tonom na površini, nam je dajala znake začetka oksidacije, ki so bila posledica ne zaščite z žveplom oziroma nizko vsebnostjo prostega SO₂. Na nosu se je v začetku vohalo dokaj intenzivno oksidacijsko noto, vendar ko smo ga prezračili, se je pokazala nežna sortna aromatika in sadnost. Vonj je bil zaprt in srednje intenziven. V okusu je bilo polno z rahlo motečo acetaldehidno noto, ki je bila posledica oksidacije zaradi manj prostega SO₂. Moteča in obstojna grenkoba je bila posledica prisotnih fenolnih komponent. Splošno je bil okus svež in bolj saden od vonja vina.

Vzorec CRO H

Na videz je bilo vino rahlo megleno, svetlejše rumene barve, brez oksidativni ali rjavega tona. Na vonju se je zaznal etil acetat, ki je posledica delovanja oetnokislinskih bakterij. To nam kaže povišana vsebnost hlapnih kislin. Na okusu je vino manj polno, bolj kislinskega okusa, ki je posledica rahlo višjih skupnih kislin in nizkega pH. Ima dolg pookus.

Ko smo senzorično ocenili vsa vina, smo jih na koncu razvrstili po všečnosti. Na prvem mestu – najbolj všečno vino, smo uvrstili vzorec 71B H. Drugi najbolj všečen vzorec je bil CRO BH, tretji 71B BH in na zadnje, četrto mesto smo uvrstili CRO H.

Skoraj pri vseh vzorcih smo zaznali rahlo oksidativne note, kar je posledica nizke vsebnosti prostega SO₂. Namreč nobenemu vzorcu v teku poskusa nismo dodali žvepla. To je bilo najbolj zaznavno pri vzorcu CRO H, ki je bil pri senzorični oceni zelo oksidativen.

5 POVZETEK IN SKLEPI

5.1 SKLEPI

Z diplomskim delom smo poskušali ugotoviti, če dodatki hranil za kvasovke vplivajo na izboljšanje parametrov kakovosti mladega vina sorte rebula. Na podlagi raziskave smo prišli do naslednjih sklepov:

- fermentacijska kinetika ni pokazala bistvenih razlik med kvasovkami, ki so fermentirale brez dodatka hranil in tiste z dodatkom. Iz rezultatov je vidno, da imajo kvasovke CRO daljšo fazo prilagajanja. Oba seva sta speljala alkoholno fermentacijo do konca,
- vrednosti pH so se bile med seboj podobne in v pričakovanih območjih (manj kot 3,6),
- vsebnost skupnih kislin je bila na koncu zorenja pri vseh 4 vzorcih okrog 5,90 g/L, kar je malenkost pod spodnjo mejo 6,0 g/L. Tudi tukaj se niso pokazale razlike med vzorci,
- pri vsebnosti hlapnih kislin so imela vina, fermentirana s kvasovkami CRO nekoliko večjo koncentracijo. CRO BH 0,24 g/L, CRO H 0,31 g/L, medtem ko sta obe kvasovki 71B imeli vrednost 0,19 g/L; kljub razlikam je za vse vzorce pridelanih vin značilna majhna koncentracija hlapnih kislin, ki dosega manj kot tretjino največje dovoljene vsebnosti po pravilniku,
- pri SPE se je izkazalo, da ima najvišjo vrednost vzorec CRO H in sicer 20,80 g/L. Tudi pri vsebnosti SPE ni bilo velikih razlik med kvasovkami s hranili in tistimi brez,
- po zaključeni alkoholni fermentaciji smo najvišjo vsebnost alkohola (12,02 vol.%) izmerili pri vzorcu 71B BH, najnižjo (11,82 vol.%) pa pri vzorcu CRO BH. po 6-mesecih zorenja je imel vzorec 71B H najvišjo vsebnost alkohola (11,95 vol.%), najnižjo pa CRO H (11,66 vol.%) Razlika med njima je bila znotraj dovoljenega odstopanja 0,5 vol.%. Pri vzorcih 71B H in CRO BH po šestih mesecih zorenja ni prišlo do znižanja alkoholne stopnje oz. se je stopnja alkohola povišala. Predvidevamo, da je prišlo do tega zaradi analitske napake pri meritvah,

- pri obeh sevih kvasovke z dodatkom hranil so imela vina po 6 mesecih zorenja za 0,3 g/L nižjo vsebnost reducirajočih sladkorjev,
- pri vrednostih dejanske pufrne kapacitete vina, razlik med kvasovkami s hranili in tistimi brez ni opaziti; izstopa vzorec CRO BH, ki se mu je vrednost dejanske pufrne kapacitete povišala po šestih mesecih zorenja,
- ker vin nismo nič žveplali tekom poskusa, se je vsebnost prostega SO₂ med poskusom znižala in je bila pri vseh štirih vzorcih vin okrog 2,6 mg/L prostega SO₂/L,
- pri AOP smo s poskusom dokazali, da so vina, pridelana s kvasovkami z dodanimi hranili, imela višji AOP v primerjavi z vini, kjer so kvasovke fermentirale brez dodatka hranil,
- pri senzoriki nam je bil najbolj všečen vzorec 71B H, najmanj pa vzorec CRO H.

5.2 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti, ali dodatek hranil za kvasovke vpliva na izboljšanje fizikalno-kemijskih in senzoričnih lastnosti vina sorte rebula.

Za izvedbo samega poskusa smo izbrali grozdje sorte 'Rebula' iz briškega vinogradniškega okoliša, letnika 2008. Grozdje je bilo pridelano v vinogradu srednje starosti z nižjo obremenitvijo. Čeprav je bil letnik 2008 v drugi polovici septembra bolj deževen, je grozdje doseglo tehnološko zrelost.

Ker je bilo grozdje zrelo in zdravo, smo drozgo pustili na maceraciji. Po zaključenem ostrem samobistrenju, smo del mošta uporabili v poskusu. Za poskus smo zbrali dva različna seva kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*. Sev 71B naj bi proizvajal estre in tem obogatil aromatiko in polnost vina, CRO pa naj bi poudaril sortne značilnosti. Nastavili smo poskus s 4 vzorci mošta, ki so fermentirali na 16 °C. Dva vzorca brez dodatka hranil in dva vzorca z dodatkom hranil za kvasovke.

Med alkoholno fermentacijo smo spremljali izgube CO₂. Po zaključku fermentacije in šest mesečnem zorenju smo opravili vrsto fizikalno-kemijskih analiz in vzorce mladih vin senzorično ocenili z metodo deskriptivne analize.

Iz rezultatov analiz smo razbrali, da ni bistvenih razlik med vzorci brez dodatka hranil in tistimi z dodatkom hranil. Večje razlike so bile opazne zaradi različnih sevov kvasovk. Izkazalo se je, da imajo kvasovke CRO daljšo fazo prilagajanja, vino pa je imelo višjo vsebnost hlapnih kislin. Vino ki je fermentiralo s kvasovkami CRO, je imelo višjo vsebnost sladkorja prostega ekstrakta. Kvasovke 71B so imele krajšo fazo prilagajanja in enakomerno fermentacijsko krivuljo pri vseh paralelkah, vino pa malenkostno nižji pH in posledično rahlo višjo vsebnost skupnih kislin.

Vzorca z dodanimi hranili sta imela nižjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev, kar pomeni da so kvasovke prefermantirale več sladkorja. Posledično bi moral biti alkohol pri teh dveh vzorcih najvišji po šestih mesecih zorenja. Pri vzorcu 71B so se pričakovanja uresničila, za vzorec CRO H pa teorija ni držala zaradi analitske napake pri merjenju alkohola.

Pri merjenju AOP sta pri obeh sevih kvasovk vzorca z dodanimi hranili po pričakovanjih imela višjo vrednost AOP vina po šest mesečnem zorenju. Najvišji AOP smo izmerili pri vzorcu vina 71B.

Pri senzorični analizi z metodo deskriptivne analize se je kot najbolj všečen vzorec izkazal 71B H.

Vzorec 71B BH je imel najvišji pH (3,56) takoj po zaključeni alkoholni fermentaciji, nato je padel na 3,44. Vsebnost hlapnih kislin pri obeh meritvah je bila pri tem vzorcu najnižja (manj kot 0,20 g/L). Pri prvi meritvi po zaključeni alkoholni fermentaciji je imel najvišjo dejansko pufrno kapaciteto (36,77 mmol/L/pH), ki mu je kasneje pričakovano padla na 32,56 mmol/L/pH. Posledica nizkega sladkorja prostega ekstrakta (18,80 g/L) se čuti v pomanjkanju polnosti okusa.

Vzorec 71B H imel najnižjo vsebnost sladkorja prostega ekstrakta (18,60 g/L). Po 6 mesecih zorenja smo pri tem vzorcu izmerili najvišjo vsebnost alkohola (11,95 vol.%), kar sovпада z vsebnostjo reducirajočih sladkorjev (1,2 g/L), ki je bila najnižja. Pri meritvah AOP je ta vzorec imel najvišjo vrednost, in sicer 1,820 mmol DPPH[•]/L. Glede na to, da je tudi ta vzorec imel zelo nizko vsebnost prostega SO₂ (2,9 mg/L), smo pri senzorični analizi zaznali najmanj oksidativnih not. Zasluga temu gre prepisati višjemu alkoholu, ki

vino dodatno ščiti v procesih staranja in oksidacije ter izmerjeni najvišji vsebnosti AOP, ki vino ščiti pred oksidacijo.

Vzorec CRO BH je imel po šest-mesečnem zorenju najvišje izmerjen pH, in sicer 3,52 in dejansko pufrno kapaciteto 34,56 mmol/L/pH. AOP pa je bila nizka, in sicer 1,484 mmol DPPH^{*}/L. Višji pH, nekoliko višja vsebnost hlapnih kislin, nižja vsebnost prostega SO₂ in nižji AOP so vzrok, da se je pri senzorični analizi čutila oksidativna nota na vonju in na okusu.

Vzorec CRO H je imel med vsem vzorci najvišjo vsebnost hlapnih kislin (0,31 g/L), in najnižjo vsebnost alkohola (11,66 vol.%). Pri senzorični analizi je bil ta vzorec najbolj oksidiran, tako na vonju kot tudi na okusu, kar je posledica nizkega prostega SO₂.

Rezultati poskusa so pokazali, da so se med sevi kvasovk, ki smo ji izbrali za poskus, kot boljše izkazale kvasovke 71B, ker imajo krajšo fazo prilagajanja, vino pa nižji pH, nižjo vsebnost hlapnih kislin, višjo vsebnost alkohola in višji AOP.

Dodatek hranil za kvasovke se je izkazal pozitivno, saj sta vzorca z dodatkom hranil imela nižjo vsebnost reducirajočih sladkorjev, posledično višji alkohol in višji AOP, kar pomeni da so vina bolj zaščitena pred oksidacijo in imajo posledično daljši obstoj.

Na podlagi dobljenih rezultatov smo potrdili hipotezi, da je prišlo do razlik v fizikalno-kemijskih parametrih vina, pridobljenega z različnimi sevi kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* in razlike v senzorični kakovosti vina, ko so bile uporabljene kvasovke z dodatkom hranil oz. brez hranil. Hipotezo o optimalnejšem delovanju kvasovk ob prisotnosti hranil nismo potrdili.

6 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32.
- Barre P. 1998. Le levure de fermentation alcoolique. V: Oenologie: fondements scientifique et technologique. Flanzy C. (ed.) Paris, Technique & Documentation: 415-420.
- Batič K. 2005. Novejši tehnološki postopki pri predelavi grozdja sorte Rebula. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1-3.
- Bavčar D. 2006. Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas: 286 str.
- Boulton R. B., Singleton V. L., Bisson L. F. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, Chapman and Hall: 102 str.
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 28: 25-30.
- De Lorenzis G., Imazio S., Rusjan D., Vouillamoz J. F., Nikolaou N., Failla O., Scienza A., 2013. Genetic investigation of grapevine varieties 'Ribolla Gialla' (Italy), 'Rebula' (Slovenia) and 'Robola' (Ionian Islands). Scientia Horticulturae, 150: 425-431.
- Drolc H. 2014. Vpliv hranil in hrastovih trsk na fermentacijske lastnosti kvasovk na antioksidativne značilnosti vin. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 8-9.
- Fleet G.H. 2003. Yeast interactions and wine flavour. International Journal of Food Microbiology, 86: 11-22.
- Golob T., Bertonec J., Doberšek U., Jamnik M. 2006. Senzorična analiza živil. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 81 str.
- Hrček L., Korošec-Koruza Z. 1996. Sorte in podlage vinske trte. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas: 74-76.

Jenko M., Baša Česnik H., Vanzo A., Janeš L., Pelengić R., Rusjan D., Čuš F. 2011. Vpliv sevov kvasovk na sestavo in senzorično kakovost vina sorte traminer. V: Vinarski dan 2011, Ljubljana, 30. november 2011. Čuš F. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 25-36.

Jenko M., Čuš F., Košmerl T., 2012. Starterske kulture kvasovk kot možnost za izboljšanje senzorične kakovosti vina. V: Vinarski dan 2012, Ljubljana, 28. november 2012. Čuš F. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 15-32.

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

Jug T., Košuta M., Rojc Polanec A., Rusjan D. 2014. Analize grozdja in vina: Analisi dell'uva e del vino. Nova Gorica, KGZS-Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica: 46 str.

Košmerl T. 2003. Vinske kvasovke in njihova vloga med alkoholno fermentacijo. Študijsko gradivo za predavanja iz predmeta Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 2-64.

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. 2013. Vinske kvasovke, hranila in tanini. Maribor, Jurana d.o.o.: 22-25.

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.

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

Košmerl T., Rački M., Cigić B. 2005. Zveza med antioksidacijskim potencialom vina in vsebnostjo fenolnih spojin. V: Slovenski kemijski dnevi 2005. Maribor, 22. in 23. september 2005. Glavič P., Brodnjak-Vončina D. (ur.). Elektronski vir. Maribor, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Maribor: 10 str.

Lallemand. 2008. Selekcionirano iz narave. Maribor, Jurana d.o.o.: 12 str.

Molina A.M., Guadalupe V., Varela C., Swiegers J.H., Pretorius I.S., Agosin E. 2009. Differential synthesis of fermentative aroma compounds of two related commercial wine yeast strains. *Food Chemistry*, 117, 2: 189-190.

Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicfyl-hydrazil (DPPH^{*}) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 2: 211–219.

Nemanič J. 1999. Spoznajmo vino. Ljubljana, Kmečki glas: 23-36.

Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za predelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 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: 2-4

Rapp A. 1989. Aromastoffe des Weines. *Weinwirtschaft Technik*, 7: 17-27.

Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Don`eche B., Lonvaud A. 2006a. Handbook of enology. 2nd ed. Vol. 1: The microbiology of wine and vinifications. Chichester, John Wiley & Sons Ltd: 497 str.

RPGV. 2015. Register pridelovalcev grozdja in vina za leto 2015. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: spletni portal http://www.upravneenote.gov.si/informacije_javnega_znacaja/katalog_informacij_javnega_znacaja_upravne_enote/register_pridelovalcev_grozdja_in_vina/ (avgust, 2016)

Šikovec S. 1993. Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, Kmečki glas: 283 str.

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

Vrščaj Vodošek T. 2004. Vpliv vinifikacije na vsebnost dušikovih spojin v vinih malvazija in chardonnay. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 18-24.

Walker M. G. 1998. Yeast physiology and biotechnology. Chichester, John Wiley & Sons Ltd.: 350 str.

ZAHVALA

Za vso strokovno pomoč, hitro odzivnost, mentorstvo, skrben pregled diplomskega dela in veliko mero potrpežljivosti, gre velika zahvala mentorici prof. dr. Tatjani Košmerl.

Zahvaljujem se tudi recenzentki prof. dr. Poloni Jamnik za končen pregled diplomskega dela.

Hvala tudi gospe Zdenki Zupančič za pomoč pri laboratorijskem delu.

Posebna zahvala staršem, ki so mi omogočili študij in mi pri tem podpirali.

Bratu Andreju za nadomeščanje in potrpežljivost.

Na koncu bi se rad zahvali Andreji za vse spodbudne besede in preganjanja pri pisanju diplomskega dela.

Najlepša hvala vsem, ki ste mi bilo kako pomagali tekom študija.

PRILOGE

Priloga A: Rezultati analiz vzorcev vin 71B BH.

Kemijski parameter (enota)	Datum analize	Oznaka vzorca			povprečje	S.D.
		71B BH 1	71B BH 2	71B BH 3		
pH	12. 11. 2008	3,56	3,56	3,56	3,56	0,001
pH	11. 5. 2009	3,44	3,44	3,44	3,44	0,000
Titribilne kisline (g/L)	12. 11. 2008	6,20	6,14	6,14	6,16	0,034
Titribilne kisline (g/L)	11. 5. 2009	5,63	5,57	5,60	5,60	0,029
Skupne kisline (g/L)	12. 11. 2008	6,47	6,45	6,47	6,46	0,013
Skupne kisline (g/L)	11. 5. 2009	5,90	5,90	5,90	5,90	0,001
Alkohol (vol.%)	12. 11. 2008	11,96	12,00	12,09	12,02	0,067
Alkohol (vol.%)	12. 5. 2009	11,78	11,93	11,89	11,87	0,078
Hlapne kisline (g/L)	12. 11. 2008	0,22	0,18	0,18	0,20	0,022
Hlapne kisline (g/L)	12. 5. 2009	0,17	0,19	0,19	0,19	0,011
Reducirajoči slad. (g/L)	12. 11. 2008	1,5	1,5	1,5	1,5	0,000
Reducirajoči slad. (g/L)	12. 5. 2009	1,6	1,4	1,5	1,5	0,100
Prosti SO ₂ (mg/L)	22. 10. 2008	3,8	3,8	3,8	3,8	0,000
Prosti SO ₂ (mg/L)	11. 5. 2009	2,2	2,7	2,7	2,5	0,257
Skupni SO ₂ (mg/L)	22. 10. 2008	20,2	20,2	20,2	20,2	0,000
Skupni SO ₂ (mg/L)	11. 5. 2009	8,9	10,0	8,9	9,3	0,644

Legenda: Reducirajoči slad. = reducirajoči sladkor

Priloga B: Rezultati analiz vzorcev vin 71B H.

Kemijski parameter (enota)	Datum analize	Oznaka vzorca			povprečje	S.D.
		71B H 1	71B H 2	71B H 3		
pH	12. 11. 2008	3,54	3,54	3,54	3,54	0,001
pH	11. 5. 2009	3,45	3,45	3,45	3,45	0,000
Titribilne kisline (g/L)	12. 11. 2008	6,09	6,14	6,07	6,10	0,027
Titribilne kisline (g/L)	11. 5. 2009	5,56	5,57	5,56	5,56	0,007
Skupne kisline (g/L)	12. 11. 2008	6,44	6,44	6,45	6,44	0,005
Skupne kisline (g/L)	11. 5. 2009	5,91	5,89	5,89	5,90	0,007
Alkohol (vol.%)	12. 11. 2008	11,67	12,04	12,01	11,91	0,168
Alkohol (vol.%)	12. 5. 2009	11,90	11,97	11,99	11,95	0,039
Hlapne kisline (g/L)	12. 11. 2008	0,24	0,20	0,18	0,21	0,025
Hlapne kisline (g/L)	12. 5. 2009	0,19	0,19	0,18	0,19	0,005
Reducirajoči slad. (g/L)	12. 11. 2008	1,25	1,45	1,3	1,3	0,085
Reducirajoči slad. (g/L)	12. 5. 2009	1,4	1,0	1,3	1,2	0,170
Prosti SO ₂ (mg/L)	22. 10. 2008	3,8	3,8	3,8	3,8	0,000
Prosti SO ₂ (mg/L)	11. 5. 2009	3,1	2,7	2,9	2,9	0,182
Skupni SO ₂ (mg/L)	22. 10. 2008	20,2	20,2	20,2	20,2	0,000
Skupni SO ₂ (mg/L)	11. 5. 2009	8,2	8,9	8,5	8,5	0,278

Legenda: Reducirajoči slad. = reducirajoči sladkor

Priloga C: Rezultati analiz vzorcev vin CRO BH.

Kemijski parameter (enota)	Datum analize	Oznaka vzorca			povprečje	S.D.
		CRO BH 1	CRO BH 2	CRO BH 3		
pH	12. 11. 2008	3,55	3,55	3,54	3,55	0,002
pH	11. 5. 2009	3,52	3,52	3,52	3,52	0,000
Titribilne kisline (g/L)	12. 11. 2008	5,68	5,60	5,60	5,63	0,044
Titribilne kisline (g/L)	11. 5. 2009	4,83	4,93	5,16	4,98	0,172
Skupne kisline (g/L)	12. 11. 2008	6,66	6,68	6,61	6,65	0,037
Skupne kisline (g/L)	11. 5. 2009	5,91	5,97	5,91	5,93	0,032
Alkohol (vol.%)	12. 11. 2008	11,82	11,80	11,84	11,82	0,020
Alkohol (vol.%)	12. 5. 2009	11,84	11,88	11,86	11,86	0,020
Hlapne kisline (g/L)	12. 11. 2008	0,28	0,25	0,27	0,27	0,014
Hlapne kisline (g/L)	12. 5. 2009	0,24	0,24	0,25	0,24	0,004
Reducirajoči slad. (g/L)	12. 11. 2008	1,8	1,5	1,6	1,6	0,153
Reducirajoči slad. (g/L)	12. 5. 2009	1,5	1,4	1,5	1,5	0,058
Prosti SO ₂ (mg/L)	22. 10. 2008	3,8	3,8	3,8	3,8	0,000
Prosti SO ₂ (mg/L)	11. 5. 2009	2,7	2,2	2,2	2,4	0,257
Skupni SO ₂ (mg/L)	22. 10. 2008	20,2	20,2	20,2	20,2	0,000
Skupni SO ₂ (mg/L)	11. 5. 2009	8,5	8,2	8,5	8,4	0,129

Legenda: Reducirajoči slad. = reducirajoči sladkor

Priloga D: Rezultati analiz vzorcev vin CRO H.

Kemijski parameter (enota)	Datum analize	Oznaka vzorca			povprečje	S.D.
		CRO H 1	CRO H 2	CRO H 3		
pH	12. 11. 2008	3,53	3,53	3,53	3,53	0,002
pH	11. 5. 2009	3,49	3,49	3,49	3,49	0,000
Titribilne kisline (g/L)	12. 11. 2008	5,92	5,89	5,92	5,91	0,015
Titribilne kisline (g/L)	11. 5. 2009	5,16	5,16	5,21	5,18	0,029
Skupne kisline (g/L)	12. 11. 2008	6,51	6,46	6,49	6,49	0,024
Skupne kisline (g/L)	11. 5. 2009	5,94	5,92	5,94	5,93	0,013
Alkohol (vol.%)	12. 11. 2008	12,04	11,92	12,01	11,99	0,062
Alkohol (vol.%)	12. 5. 2009	11,64	11,62	11,72	11,66	0,053
Hlapne kisline (g/L)	12. 11. 2008	0,28	0,30	0,29	0,29	0,009
Hlapne kisline (g/L)	12. 5. 2009	0,32	0,31	0,31	0,31	0,007
Reducirajoči slad. (g/L)	12. 11. 2008	1	1,7	1,6	1,4	0,379
Reducirajoči slad. (g/L)	12. 5. 2009	1,1	1,3	1,2	1,2	0,100
Prosti SO ₂ (mg/L)	22. 10. 2008	3,8	3,8	3,8	3,8	0,000
Prosti SO ₂ (mg/L)	11. 5. 2009	2,5	2,7	2,9	2,7	0,223
Skupni SO ₂ (mg/L)	22. 10. 2008	20,2	20,2	20,2	20,2	0,000
Skupni SO ₂ (mg/L)	11. 5. 2009	8,5	8,9	8,5	8,6	0,257

Legenda: Reducirajoči slad. = reducirajoči sladkor

Priloga E: Rezultati meritev vzorcev vin za AOP

Parameter	Oznaka vzorca			
	71B BH	71B H	CRO BH	CRO H
Meritve (enota)				
A1 (AU)	0,33	0,28	0,416	0,305
A2 (AU)	0,348	0,301	0,427	0,32
A3 (AU)	0,367	0,3	0,428	0,339
A povprečna (AU)	0,348	0,294	0,424	0,321
S.D.	0,019	0,012	0,007	0,017
delta A	0,651	0,704	0,574	0,677
standard	0,983	0,981	0,982	0,981
A slepa proba (AU)	0,016	0,017	0,016	0,017
V vzorca (mL)	50	50	50	50
V reakcijske zmesi (mL)	0,00155	0,00155	0,00155	0,00155
n DPPH' (št. molov)	8,40E-08	9,10E-08	7,42E-08	8,74E-08
AOP (mol DPPH'/L)	1,6809E-03	1,8195E-03	1,4837E-03	1,7481E-03
AOP (mmol/L)	1,681	1,820	1,484	1,748

Legenda: A = absorbanca, 1,2,3 = paralelke 1-3, A povprečna = povprečna A 1-3 paralelk

Priloga F: Izračun masne koncentracije skupnega suhega ekstrakta (g/L) iz relativne gostote dSE pri 20 °C (Košmerl in Kač, 2007)

2. decimalno mesto	3. decimalno mesto									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Koncentracija SE (g/L)										
1,00	0,0	2,6	5,1	7,7	10,03	12,9	15,4	18,0	20,6	23,2
1,01	25,8	28,4	31,0	33,6	36,2	38,8	41,3	43,9	46,5	49,1
1,02	51,7	54,3	56,9	59,5	62,1	64,7	67,3	69,9	72,5	75,1
1,03	77,7	80,3	82,9	85,5	88,1	90,7	93,3	95,9	98,5	101,1
1,04	103,7	106,3	109,0	111,6	114,2	116,8	119,4	122,0	124,6	127,2
1,05	129,8	132,4	135,1	137,7	140,3	142,9	145,5	148,1	150,7	153,3
Koncentracija SE (g/L)	4. decimalno mesto									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	0,3	0,5	0,8	1	1,3	1,6	1,8	2,1	2,3	

SE = skupni ekstrakt