

**ŠOLSKI CENTER POSTOJNA
SREDNJA ŠOLA
GIMNAZIJA**



**VPLIV DODATKA KVASOVK IN HRANILNIH SNOVI NA POTEK
ALKOHOLNE FERMENTACIJE IN SENZORIČNO KAKOVOST
JABOLČNEGA VINA**

RAZISKOVALNA NALOGA

Tematsko področje: kemija in mikrobiologija

Dijakinji: Karolina Mulec, 3. b
Anika Sedmak, 3. a

Mentorji: dr. Zala Zorenč
prof. dr. Tatjana Košmerl
Magdalena Klasinc, univ. dipl. inž. kem. inž.

Postojna, marec 2020

ZAHVALA

Najprej se iz srca zahvaljujema najini mentorici dr. Zali Zorenč za potrpežljivo vodenje in pomoč pri izpeljavi najine seminarske naloge ter za njen trud in znanje, ki nama ga je kot odlična mentorica predala.

Za usmerjanje in nasvete se iskreno zahvaljujema prof. dr. Tatjani Košmerl.

Za vodenje in pomoč pri laboratorijskem delu se najlepše zahvaljujema gospe Zdenki Zupančič.

Najlepše zahvale gredo najini profesorici kemije prof. Magdaleni Klasinc za spodbujanje, moralno podporo in vero v naju.

Zahvaljujema se tudi prof. Mateji Rebec Hreščak za lektoriranje najine raziskovalne naloge in prof. Damijani Medvedec za lektorske popravke v angleščini.

Kazalo vsebine

ZAHVALA	2
POVZETEK	8
Ključne besede	8
ABSTRACT	9
Key words	9
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	10
1 UVOD	11
1.1 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE	11
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	11
2 TEORETIČNI DEL	13
2.1 SPLOŠNO O JABOLČNEM VINU	13
2.1.1 Zgodovina jabolčnega vina	13
2.2 IZBOR JABOLK	13
2.2.1 Sorte jabolk za pripravo soka	13
2.3 PRIDELAVA JABOLČNEGA VINA	14
2.3.1 Alkoholna fermentacija	15
2.3.1.1 Vpliv temperature na potek alkoholne fermentacije	15
2.3.1.2 Spontana alkoholna fermentacija	16
2.3.1.3 Dodatek starterske kulture vinskih kvasovk	16
2.3.1.4 Faze alkoholne fermentacije	16
2.3.2 Zorenje jabolčnega vina	16
2.3.3 Filtracija jabolčnega vina	17
2.4 MIKROBIOLOGIJA	17
2.4.1 Splošne značilnosti vinskih kvasovk	17
2.5 KEMIJSKA SESTAVA JABOLČNEGA VINA	18
2.5.1 Voda	18
2.5.2 Alkoholi	18
2.5.3 Kisline	18
2.5.4 Mineralne snovi	19
2.5.5 Ogljikovi hidrati	19
2.5.6 Vrednost pH	20
2.5.7 Aroma jabolčnega vina	20
2.6 SENZORIČNA ANALIZA	20
2.7 KAKOVOST JABOLČNEGA VINA ALI MOŠTA	21
3 MATERIALI IN METODE DE LA	23
3.1 MATERIALI IN POTEK DE LA	23
3.1.1 Priprava kvasnega nastavka in hranil za kvasovke	23
3.1.2 Opis kulture kvasovk in hranil za kvasovke, uporabljenih v poskusih	24
3.2 METODE DE LA	25
3.2.1 Fizikalne in kemijske analize mošta in jabolčnega vina	26
3.2.1.1 Določanje sladkorjev v jabolčnem soku	26
3.2.1.2 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin in kislodelujočih soli v jabolčnem soku in vinu	27
3.2.1.3 Določanje pH jabolčnega soka in vina	28
3.2.1.4 Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v jabolčnem vinu	29
3.2.1.5 Določanje reducirajočih sladkorjev v jabolčnem vinu in izračun sladkorja prostega ekstrakta	30
3.2.1.6 Določanje hlapnih kislin v vinu	32
3.2.2 Senzorična analiza	33
3.2.2.1 Prostor za senzorično ocenjevanje	33
3.2.2.2 Posoda za ocenjevanje	33
3.2.2.3 Temperatura jabolčnega vina ob ocenjevanju	34

3.2.2.4	Vrstni red vzorcev jabolčnega vina na ocenjevanju	34
3.2.2.5	Količina vzorca	34
3.2.2.6	Označevanje vzorcev	34
3.2.2.7	Senzorični obrazci	34
3.2.2.7.1	Hedonska metoda ocenjevanja	34
3.2.2.7.2	Metoda hitrega profiliranja (Flash profiling)	35
4	REZULTATI Z RAZPRAVO	36
4.1	REZULTATI KEMIJSKE ANALIZE JABOLČNEGA SOKA	36
4.1.1	Meritve sladkorne stopnje	36
4.1.2	Rezultati potencialne koncentracije etanola v jabolčnem vinu	36
4.1.3	Meritve titrabilnih in skupnih kislin	36
4.1.4	Meritve pH	36
4.2	POTEK ALKOHOLNE FERMENTACIJE	37
4.2.1	Primerjava krivulj alkoholne fermentacije kontrolnih vzorcev (brez dodatkov)	37
4.2.2	Primerjava krivulj fermentacijske kinetike kontrolnih vzorcev (brez dodatkov)	37
4.2.3	Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorcev z dodatkom Uvaferm BC/Fermaid E	38
4.2.4	Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorcev z dodatkom Uvaferm BC/Fermaid E	38
4.2.5	Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorcev z dodatkom Cross Evolution/Fermaid O	39
4.2.6	Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorcev z dodatkom Cross Evolution/Fermaid O	39
4.2.7	Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorcev z dodatkom Biodiva/Fermaid O	40
4.2.8	Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorcev z dodatkom Biodiva/Fermaid O	40
4.2.9	Primerjava sproščenega CO ₂ med alkoholno fermentacijo pri nižji in višji fermentacijski temperaturi	41
4.3	REZULTATI KEMIJSKE ANALIZE JABOLČNEGA VINA	41
4.3.1	Rezultati vsebnosti titrabilnih kislin	41
4.3.2	Rezultati vsebnosti skupnih kislin	42
4.3.3	Rezultati vsebnosti kislodelujočih soli	43
4.3.4	Rezultati pH	43
4.3.5	Rezultati vsebnosti alkohola	44
4.3.6	Rezultati vsebnosti reducirajočih sladkorjev	45
4.3.7	Rezultati vsebnosti skupnega ekstrakta	46
4.3.8	Rezultati vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta	47
4.3.9	Rezultati vsebnosti hlapnih kislin	48
4.4	REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE	50
4.4.1	Obdelava podatkov hedonskega ocenjevanja	50
4.4.1.1	Rezultati hedonskega ocenjevanja kontrolnih vzorcev	50
4.4.1.2	Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev z dodatkom Uvaferm BC/Fermaid E	50
4.4.1.3	Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev z dodatkom Cross Evolution/Fermaid O	51
4.4.1.4	Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev z dodatkom Biodiva/Fermaid O	51
4.4.1.5	Primerjava rezultatov hedonskega ocenjevanja vzorcev pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)	52
4.4.1.6	Primerjava rezultatov hedonskega ocenjevanja vzorcev pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)	53
4.4.2	Obdelava podatkov po metodi hitrega profiliranja	54
4.4.2.1	Najintenzivneje izraženi opisniki za vzorce jabolčnih vin pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)	54
4.4.2.1	Najintenzivneje izraženi opisniki za vzorce jabolčnih vin, fermentiranih pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)	55
4.4.2.1	Primerjava najintenzivneje izraženih opisnikov za vzorce jabolčnih vin, fermentiranih pri obeh temperaturah	56
5	SKLEPI/ ZAKLJUČKI	57
6	VIRI	59
7	PRILOGE	61

Kazalo slik

Slika 1: Digitalni refraktometer (Sedmak, 2019).....	27
Slika 2: pH-meter. (Sedmak, 2019).....	28
Slika 3: Denzimeter (Mulec, 2019).....	29
Slika 4: Destilacijska naprava (Mulec, 2019).....	30
Slika 5: Raztopina CuSO_4 in raztopina $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6$ (Sedmak, 2019).....	31
Slika 6: Električni grelec z raztopino (Zorenč, 2019).....	31
Slika 7: Bireta s titrantom (Zorenč, 2019).....	32
Slika 8: Barva zmesi v erlenmajerici po končani titraciji z $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Sedmak, 2019).....	32
Slika 9: Destilacijska naprava (Mulec, 2019).....	33
Slika 10: Barva zmesi v erlenmajerici po končani titraciji z NaOH (Zorenč, 2019).....	33
Slika 11: 9-točkovna hedonska lestvica.....	35
Slika 12: 100-milimetrska lestvica hitrega profiliranja.....	35
Slika 13: Primerjava krivulj alkoholne fermentacije kontrolnega vzorca (1, 2, 3) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno).....	37
Slika 14: Primerjava krivulj fermentacijske kinetike kontrolnega vzorca (1, 2, 3) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno).....	37
Slika 15: Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorca z dodano kvasovko Uvaferm BC in hranilom Fermaid E (4, 5, 6) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno).....	38
Slika 16: Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorca z dodano kvasovko Uvaferm BC in hranilom Fermaid E (4, 5, 6) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno).....	38
Slika 17: Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorca z dodano kvasovko Cross Evolution in hranilom Fermaid O (7, 8, 9) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno).....	39
Slika 18: Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorca z dodano kvasovko Cross Evolution in hranilom Fermaid O (7, 8, 9) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno).....	39
Slika 19: Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorca z dodano kvasovko Biodiva in hranilom Fermaid O (10, 11, 12) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno).....	40
Slika 20: Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorca z dodano Biodiva in hranilom Fermaid O (10, 11, 12) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno).....	40
Slika 21: Primerjava celokupnega oddanega CO_2 (g/L) med alkoholno fermentacijo pri nižji in višji fermentacijski temperaturi.....	41
Slika 22a: Rezultati vsebnosti titrabilnih kislin (g vinske kisline/L), prikazani kot povprečje \pm standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	42
Slika 22b: Rezultati vsebnosti skupnih kislin (g vinske kisline/L), prikazani kot povprečje standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	42
Slika 23: Rezultati vsebnosti kislodelujočih soli (mg vinske kisline/L), prikazani kot povprečje \pm standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	43
Slika 24: Rezultati vrednosti pH, prikazani kot povprečje \pm standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	44
Slika 25: Rezultati vsebnosti alkohola (vol. %), prikazani kot povprečje standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	45
Slika 26: Rezultati vsebnosti reducirajočih sladkorjev (g/L), prikazani kot povprečje \pm standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	46
Slika 27a: Rezultati vsebnosti skupnega ekstrakta (g/L), prikazani kot povprečje \pm standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	47
Slika 27b: Rezultati vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta (g/L), prikazani kot povprečje \pm standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	48
Slika 28: Rezultati vsebnosti hlapnih kislin (g očetne kisline/L), prikazani kot povprečje \pm standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih.....	48

Slika 29: Rezultati hedonskega ocenjevanja jabolčnega vina brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke (spontana fermentacija).....	50
Slika 30: Rezultati hedonskega ocenjevanja jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Uvaferm BC in hranila za kvasovke Fermaid E	50
Slika 31: Rezultati hedonskega ocenjevanja jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Cross Evolution in hranila za kvasovke Fermaid O	51
Slika 32: Rezultati hedonskega ocenjevanja jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Biodiva in hranila za kvasovke Fermaid O.....	51
Slika 33: Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)	52
Slika 34: Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)	53
Slika 35: Rezultati ocenjevanja po metodi hitrega profiliranja vzorcev, fermentiranih pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C).....	54
Slika 36: Rezultati ocenjevanja po metodi hitrega profiliranja vzorcev, fermentiranih pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C).....	55
Slika 37: Primerjava rezultatov ocenjevanja po metodi hitrega profiliranja za vzorce jabolčnih vin, fermentiranih pri višji (20 °C) in nižji (15°C) fermentacijski temperaturi	56

Kazalo preglednic

Preglednica 1: Kombinacije kvasovk in hranil za kvasovke	23
Preglednica 2: Označitev vzorcev jabolčnega vina za senzorično analizo	34
Preglednica 3: Povprečna vrednost treh meritev (\pm standardni odklon) sladkorne stopnje jabolčnega soka	36
Preglednica 4: Povprečje rezultatov potencialne koncentracije alkohola v vinu na podlagi sladkorne stopnje v jabolčnem soku ($^{\circ}$ Brix)	36
Preglednica 5: Povprečna vrednost treh meritev (\pm standardni odklon) titrabilnih in skupnih kislin v jabolčnem soku.....	36
Preglednica 6: Povprečna vrednost treh meritev (\pm standardni odklon) vrednosti pH v jabolčnem soku	36

Kazalo prilog

Priloga 1: Rezultati kemijskih analiz sladkorne stopnje jabolčnega soka (v $^{\circ}$ Oe in $^{\circ}$ Brix) in izračuna potencialne koncentracije etanola v vinu po alkoholni fermentaciji (vol. %)	61
Priloga 2: Rezultati kemijskih analiz titrabilnih in skupnih kislin jabolčnega soka (g vinske kisline/L) ..	61
Priloga 3: Rezultati kemijskih analiz pH jabolčnega soka (g vinske kisline/L)	61
Priloga 4: Rezultati kemijskih analiz titrabilnih in skupnih kislin, kislodelujočih soli (g vinske kisline/L) in pH jabolčnega vina pri nižji fermentacijski temperaturi (15 $^{\circ}$ C).....	62
Priloga 5: Rezultati kemijskih analiz titrabilnih in skupnih kislin, kislodelujočih soli (g vinske kisline/L) in pH jabolčnega vina pri višji fermentacijski temperaturi (20 $^{\circ}$ C).....	63
Priloga 6: Rezultati kemijskih analiz koncentracije alkohola (vol. %) in koncentracije skupnega ekstrakta (g/L) jabolčnega vina pri nižji fermentacijski temperaturi (15 $^{\circ}$ C)	64
Priloga 7: Rezultati kemijskih analiz koncentracije alkohola (vol. %) in koncentracije skupnega ekstrakta (g/L) jabolčnega vina pri višji fermentacijski temperaturi (20 $^{\circ}$ C)	65
Priloga 8: Rezultati kemijskih analiz reducirajočih sladkorjev (g/L), koncentracije sladkorja prostega ekstrakta (g/L) in hlapnih kislin (g oetne kisline /L) jabolčnega vina pri nižji fermentacijski temperaturi (15 $^{\circ}$ C)	66
Priloga 9: Rezultati kemijskih analiz reducirajočih sladkorjev (g/L), koncentracije sladkorja prostega ekstrakta (g/L) in hlapnih kislin (g oetne kisline /L)jabolčnega vina pri višji fermentacijski temperaturi (20 $^{\circ}$ C)	67
Priloga 10: Senzorični obrazec za Hedonsko metodo ocenjevanja	68
Priloga 11: Senzorični obrazec za metoda hitrega profiliranja (Flash profiling)	69

POVZETEK

Alkoholna fermentacija je pretvorba sladkorja v alkohol in ogljikov dioksid. Pri tem sodelujejo različne kvasovke – iz jabolčnega soka nastane jabolčno vino.

Kot starterske kulture smo pri jabolčnem soku uporabili različne komercialno dostopne kvasovke (*Saccharomyces* in ne-*Saccharomyces*) in hranila za kvasovke (Fermaid E in Fermaid O) ter jih primerjali s kontrolnim vzorcem, v katerega kvasovk in hranil nismo dodali. Ugotoviti smo želeli, katere kombinacije kvasovk in hranil za kvasovke so optimalne za kakovost jabolčnega vina z vidika kemijske sestave in senzorične kakovosti. Fermentacijski poskusi so potekali hkrati pri dveh različnih fermentacijskih temperaturah (15 in 20 °C). S pomočjo tehtanja mase oddanega CO₂ smo spremljali kinetiko alkoholne fermentacije, ki je pokazatelj vpliva rasti kvasovk na spreminjanje kemijske sestave jabolčnega soka. Po končani alkoholni fermentaciji smo fermentacijske krivulje grafično prikazali in pridelana mlada jabolčna vina kemijsko in senzorično analizirali.

Pred alkoholno fermentacijo smo fizikalno-kemijsko analizirali tudi jabolčni sok. V soku smo določili pH, titrabilne in skupne kisline ter vsebnost sladkorjev, v vinu pa dodatno še alkohol, hlapne kisline in skupni suhi ekstrakt. Pri senzorični analizi so potrošniki ocenili vina z metodo hitrega profiliranja, s katero so določili intenzivnost okusa, vonja in barve ter njihovo stopnjo ugajanja na 9-točkovni hedonski lestvici.

Alkoholna fermentacija je pri višji temperaturi, ki je ugodnejša za rast kvasovk, pričakovano potekala hitreje in intenzivneje kot pri nižji temperaturi. Vendar pa je pri višji temperaturi nastalo tudi več hlapnih kislin, ki so v večjih koncentracijah neželene komponente vina. V kontrolnih vzorcih spontana alkoholna fermentacija ni potekla do konca, kar se je odrazilo v ostanku reducirajočih sladkorjev in najmanjšem deležu nastalega alkohola.

Ključne besede

alkohol
alkoholna fermentacija
hranila
jabolčni sok
jabolčno vino
kakovost
vinske kvasovke
senzorična analiza

ABSTRACT

Alcohol fermentation is the conversion of sugar into alcohol and carbon dioxide. Different yeasts are involved in this apple wine (cider) production from apple juice.

Various commercially available yeasts (*Saccharomyces* and non-*Saccharomyces*) and yeast nutrients (Fermaid E and Fermaid O) were added to apple juice and compared to control samples where no yeasts and nutrients were added. We wanted to find out which combinations of yeasts and yeast nutrients are optimal for the quality of apple wine in terms of chemical composition and sensory quality. Fermentation experiments were carried out simultaneously at two different fermentation temperatures (15 and 20 °C). Alcoholic fermentation kinetics was monitored by weighing the released CO₂, which is an indicator of the influence of yeast growth on the changing chemical composition of apple juice. After the alcoholic fermentation was completed, the fermentation curves were graphically presented and the young apple wines produced were chemically and sensorial analysed.

Apple juice was also analysed on several basic physico-chemical parameters prior to alcoholic fermentation. The pH value, titratable and total acids and sugar content were determined in the juice. In addition to the mentioned parameters, alcohol, volatile acids and total dry extract were determined in the wine. In sensory analysis, consumers evaluated wines using the rapid profiling method, with their own definition of descriptors and their intensity, as well as the level of liking (pleasing, preference) on a 9-point hedonic scale.

Alcoholic fermentation was expected to be faster and more intense at a higher temperature, which is more favourable for yeast growth, compared to a lower temperature. However, at higher temperatures, more volatile acids were formed, which are in higher concentrations the undesirable component of the wine. In the control samples, the spontaneous alcoholic fermentation did not end completely which was reflected in the residual reducing sugars and the minimum alcohol production.

Key words

alcohol
alcoholic fermentation
nutrients
apple juice
apple wine
quality
wine yeast
sensory analysis

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

CuSO_4	bakrov(II) sulfat(VI)
$\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6$	kalijev-natrijev tartrat
KI	kalijev jodid
H_2SO_4	žveplova(VI) kislina
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	natrijev tiosulfat
NaOH	natrijev hidroksid
CaO	kalcijev oksid
CO_2	ogljikov dioksid
$^\circ\text{Oe}$	Oekslejeva stopinja (enota sladkorne stopnje)

1 UVOD

Alkoholne pijače so v današnji družbi zelo zaželeni in popularni tako med mladimi kot tudi med starejšimi. Priljubljene so predvsem zaradi psihofizičnih učinkov na osrednje živčevje. Pretirano uživanje alkoholnih pijač žal povzroča zasvojenost, odvajanje od tovrstne zasvojenosti pa je težko in dolgotrajno. Kot mladostnici (dijakinji 3. letnika) opažava, da so alkoholne pijače, kljub temu da vsi poznamo njihove škodljive učinke, skoraj nepogrešljive spremljevalke zabav, ki so del vsakdanjika mladih.

Pri raziskovanju naju je zanimal povsem drug vidik alkoholnih pijač – ne samo to, koliko odstotkov alkohola vsebuje pijača, kar sicer piše na vsaki pločevinki ali steklenici, ampak tudi njihova pridelava in lastnosti, za katere se v vsakdanjem življenju običajno niti ne zmenimo.

Med pijače, ki so bolj osvežilne in imajo manjšo vsebnost alkohola, spada jabolčno vino, ki ima v Sloveniji in po svetu že dolgoletno tradicijo; zanj v določenih podeželskih okoljih uporabljajo različne udomačene izraze, kot so: jabolčnik, kukla, mošt, tolkec, tolkovec, tukla ... Zanimalo naju je, kakšen je postopek pridelave jabolčnega vina, katere vrste kvasovk obstajajo, kako in koliko časa poteka alkoholna fermentacija in kaj vse je potrebno, da na koncu pristane jabolčno vino v steklenicah na policah trgovin.

Za pridelavo kakovostnega jabolčnega vina je potrebno veliko znanja, zato se nama je zdela pridelava jabolčnega vina zelo zanimiva in je za naju predstavljala precejšen izziv. Izkoristili sva priložnost in se prijavili na projekt SKOZ (Središče karijerne orientacije zahod) ter v okviru Katedre za tehnologije rastlinskih živil in vino Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani izvedli postopek pridelave jabolčnega vina. Ob tem sva se naučili veliko novega, pridobili dragocene izkušnje pri laboratorijskem delu in ugotovili, koliko znanja in izkušenj potrebujejo vinarji pri svojem delu. V praksi sva spoznali tudi razlike pri uporabi najprimernejših sevov kvasovk in hranil za kvasovke ter njihov namen, razne postopke filtracije itd.

1.1 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

Zanimal naju je vpliv temperature ter dodatka različnih kvasovk (*Saccharomyces* in ne-*Saccharomyces*) in hranil za kvasovke na potek alkoholne fermentacije. Raziskati sva želeli, kako ti dejavniki vplivajo na kakovost jabolčnega vina, ki ga ovrednotimo s kemijsko in senzorično analizo.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevali sva:

- pri višji temperaturi bo alkoholna fermentacija potekala hitreje, ker je višja temperatura za mikroorganizme oz. kvasovke primernejša za razvoj in delovanje;
- zaradi izhajanja CO₂ se bo masa fermentacijskih plastenkov z jabolčnim sokom med potekom alkoholne fermentacije s časom zmanjševala;

- vsebnost sladkorja se bo po alkoholni fermentaciji zmanjšala, posledično pa se bo povečala vsebnost alkohola;
- tudi v kontrolnih fermentacijskih plastenkah z jabolčnim sokom (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke) bo potekla spontana alkoholna fermentacija, vendar bo nastanek alkohola manjši.

2 TEORETIČNI DEL

2.1 SPLOŠNO O JABOLČNEM VINU

Jabolčno vino oz. jabolčnik, poznan tudi kot cider, je prevret jabolčni sok, ki je pridelan iz različnih sort jabolk. Jabolčno vino se prideluje na podoben način kot vino iz grozdja in spada med naravne pijače z manj alkohola, saj vsebuje približno 5–8 vol. % alkohola. Da bi dobili končni izdelek želene kakovosti, se v procesu pridelave jabolčnega vina velikokrat uporabi različne kvasovke in hranila za kvasovke, za bistrenje se uporablja različne načine filtracije, za shranjevanje in obstojnost pa razne druge dodatke, kot je npr. žveplov dioksid (Jakubik, 2011).

2.1.1 Zgodovina jabolčnega vina

Zgodovina jabolčnega vina sega v Evropi daleč v preteklost. V osrednjo Evropo so tradicijo pridelovanja prinesli že stari Rimljani in od tam se je razširila še drugam po Evropi. V različnih pokrajinah so se razvila različna imena za jabolčni sok oz. vino, pojavile so se različne tehnike pridelovanja, zato so tudi vina po okusu zelo različna. Angleži jabolčno vino poznajo pod imenom cider, zaradi dodanega sladkorja njihovo vino vsebuje precej več alkohola. Francozi svoje vino, imenovano cidre, pridelujejo kar v steklenicah, zato se ta v kozarcu zelo peni (Jakubik, 2011).

2.2 IZBOR JABOLK

Za pripravo kakovostnega jabolčnega vina je potrebno kakovostno sadje. Potrebujemo zrela, sveža in zdrava jabolka (brez črvov in plesni). Za kakovost je pomembna tudi sortna sestava, ki jo uporabimo za pridelavo jabolčnega vina. Priporočeni sta dve tretjini sladkih sort in ena tretjina jabolk, ki vsebujejo večjo vsebnost kislin (Jakubik, 2011).

Jabolka za jabolčno vino morajo biti primerno zrela in razvita. Poznamo več sort jabolk, vendar niso prav vse sorte primerne za sadjevec, lahko pa jih seveda mešamo. V povprečju znaša vsebnost sladkorja od 45–65 °Oe, vsebnost skupnih kislin pa od 4–10 g/L; jabolčnik iz takih sestavin pa od 5–7 vol. % in 2–5 g/L skupnih kislin (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003). Za določitev optimalnega časa obiranja plodov je pomembno sprotno določanje vsebnosti kislin in sladkorjev (Košmerl in Kač, 2007).

2.2.1 Sorte jabolk za pripravo soka

Za pripravo jabolčnega vina oziroma cidra se uporablja sorte jabolk, ki se jih uporablja tudi za domačo uporabo. V najini nalogi sva uporabili jabolčni sok, ki so ga pridelali na fakulteti. Sok je bil narejen iz štirih različnih sort jabolk, ki so bila pridelana v Sadjarstvu Blanca. Med postopkom predelave so odstranili poškodovane in nagnite plodove, sledilo je mletje jabolk in stiskanje jabolčne kaše, jabolčni sok so pasterizirali pri temperaturi 80–83 °C in vročega

polnili v steklenice. Uporabili so štiri različne sorte jabolk: Gala, Jonagold, Idared in Zlati delišes.

Gala (Gala delicious):

Je novozelandska sorta (Kidd's orange x Zlati delišes). Plodove se obira v septembru, uporabna je takoj po obiranju, ohranja pa se do januarja. Plodovi so drobni do srednje debeli, ploščato okrogli ter nekoliko rebrasti. Meso je rumenkasto, hrustljivo ter sočno, okus pa je aromatičen in sladek (Črnko, 1990).

Idared

Je ameriška sorta (Jonatan x Wagener). Plodove se obira v oktobru in novembru, je uporabna od decembra do konca junija. Plodovi so debeli, okroglaste in nekoliko sploščene oblike. Meso je sočno in čvrsto, okus pa je brez posebne arome in prijetno kiselkast. Sorta je zelo primerna za svežo uporabo in predelavo (Črnko, 1990).

Jonagold

Je sorta, ki so jo vzgojili na raziskovalni postaji Geneva v državi New York (Zlati delišes x Jonatan). Njene plodove se obira v drugi polovici septembra, uporabna je do konca novembra ali decembra. Plodovi so debeli, pravilno okroglaste, a nekoliko sploščene oblike. Meso je sočno in fine konsistence, okus pa je prijetno sladko-kisel s srednje izraženo aromo (Črnko, 1990).

Zlati delišes (Stark Golden Delicious; Grimes golden x Golden reinette):

Je približno sto let stara ameriška sorta. Njene plodove se obira zadnjih deset dni septembra in so uporabni od oktobra do januarja. Plodovi so srednje debeli do debeli, podolgovato kopasti in simetrični. Meso je sočno, okus pa je sladek, z blago kislino in močno aromo (Črnko, 1990).

2.3 PRIDELAVA JABOLČNEGA VINA

Pridelava jabolčnega vina je precej podobna pridelavi vina iz grozdja. Tako kot pri pridelavi vsakega soka ali vina se vse začne z obiranjem, ki se nadaljuje v mletje ter stiskanje jabolk. Edina razlika je v tem, da se jabolka za proizvodnjo soka ali vina, za razliko od grozdja, pred mletjem pere. Človek je že kmalu ugotovil, da jabolka niso namenjena samo prehranjevanju, ampak da lahko iz njih izdelata tudi jabolčno vino oz. cider. Jabolčno vino je naravna pijača z manjšo vsebnostjo alkohola. Bogastvo le-tega je odvisno od kakovosti sadja in sestavin, ki ob procesih vrenja mošta in zorenja jabolčnega vina okus še oplemenitijo (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003).

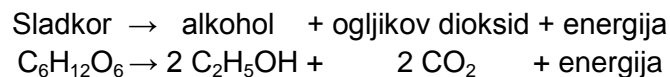
V procesu pridelave jabolčnega vina je zelo pomemben proces pasterizacija, kar ni enako sterilizaciji, saj s tem procesom ne uničimo vseh mikroorganizmov. **Pasterizacija** je postopek toplotne obdelave živila, s katerim zmanjšamo število mikroorganizmov, ki bi lahko povzročili bolezen, kvarjenje ali celo nezaželeno fermentacijo živila. Hkrati tudi inaktiviramo encime v živilu in mu s tem podaljšamo kakovost in obstojnost. Proces se imenuje po Louisu Pasteurju, ki je prvi uporabil toploto za kontrolo kvarjenja vina. Pasterizacija ni sinonim za sterilizacijo, saj niso uničeni vsi mikroorganizmi.

2.3.1 Alkoholna fermentacija

Osnovna biokemijska sprememba pri alkoholnem vrenju jabolčnega soka je spreminjanje sladkorja v etilni alkohol in ogljikov dioksid (CO₂) ob sproščanju toplote. Na alkoholno fermentacijo vplivajo različni dejavniki, tako **fizikalni** (temperatura, notranja površina in tlak CO₂) kot tudi **kemijski** (količina SO₂ in O₂ – vpliv na razmnoževanje kvasovk in potek vrenja; količina N₂ – kvasovke rabijo hrano; količina težkih kovin – Fe, Cu, Al, Zu; alkohol – različne kvasovke prenesajo različno količino alkohola; ostanki pesticidov, ki ovirajo vrenje) (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003).

Pri kvasovkah vrste *Saccharomyces cerevisiae* je najpomembnejši vir energije glukoza. Glikoliza je glavna metabolna pot za pretvorbo glukoze do piruvata. Vzporedno z glikolizo nastaja tudi energija v obliki ATP, tvorijo pa se tudi vmesni produkti, imenovani intermedijati. Poznamo dve osnovni metabolni poti za nadaljnjo razgradnjo piruvata za pridobivanje energije:

- **aerobni proces** – dihanje ali respiracija, v tem procesu nastaja biomasa in gre za popolno oksidacijo;
- **anaerobni proces** – vrenje ali fermentacija, v tem procesu nastaja etanol in gre za nepopolno oksidacijo, pri tem procesu je acetaldehid končni akceptor elektronov.



V obojih razmerah, aerobnih in anaerobnih, poteka glikoliza po enaki poti, in sicer s fruktozo-1,6-difosfata in 3-fosfo glicerata. Med fermentacijo jabolčnega soka se reducirani sladkorji presnavljajo v bioprosesu glikolize. Končni rezultat glikolize je piruvat – piruvična kislina, ki je pomembna stopnja v procesu alkoholne fermentacije. V nadaljevanju sledi dekarboksilacija piruvične kisline in v tem trenutku se v procesu alkoholne fermentacije pojavi CO₂, pri katerem se tvori acetaldehid, ki se v zadnji encimski fazi reducira do etanola. Volumen nastanka CO₂ je od 40-krat do 50-krat večji od volumna fermentirajočega mošta, 1 mol CO₂ je 22,4 L plina (180 g/L sladkorja (1 mol) → 44,8 L plina). Čeprav je CO₂ prisoten povsod v naravi, je lahko, če se njegova koncentracija poveča preko naravne koncentracije, potrebno prezračevanje. Izkoristek alkoholne fermentacije (= količina nastalega etanola, proizvedenega na enoto porabljenega sladkorja) predstavlja po teoretičnih izračunih 51 %. Teoretično se po spodnji enačbi alkoholne fermentacije 180 g sladkorja pretvori v 92 g etanola in 88 g CO₂ (Košmerl, 2007), praktični izkoristek pa je manjši.



2.3.1.1 Vpliv temperature na potek alkoholne fermentacije

Splošno znano je, da na hitrost rasti vseh mikroorganizmov vpliva temperatura, tako vpliva tudi na metabolizem oziroma delovanje kvasovk, čeprav na vsako vrsto oz. sev kvasovk različno. Tako je prispevek kvasovk rodov ne-*Saccharomyces* pri nižjih temperaturah večji kot pri višjih temperaturah; npr. pri 20 °C je njihov prispevek večji kot pri 25 °C, saj je v temperaturnem območju 10–20 °C povečana odpornost kvasovk rodov ne-*Saccharomyces* na etanol. Od temperature pa je seveda tudi odvisna poraba sladkorja (Košmerl, 2007).

Za alkoholno fermentacijo oz. vrenje jabolčnega soka je najprimernejša temperatura med 15 in 18 °C (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003).

2.3.1.2 Spontana alkoholna fermentacija

Alkoholna fermentacija je torej pretvorba sladkorja v alkohol in CO₂. Za številne mikroorganizme je začetna količina sladkorja nad njihovo optimalno koncentracijo. Med potekom alkoholne fermentacije pa tvorijo mikroorganizmi tudi produkte (npr. očetno kislino, maščobne kisline ...), ki lahko ovirajo fermentacijo ali celo toksično delujejo na ostale rodove kvasovk. Alkoholno fermentacijo delimo na inokulirano (vzpodbujeno ali inducirano) in na spontano alkoholno fermentacijo. Spontana (lahko tudi divja ali naravna) alkoholna fermentacija poteka s pomočjo endogene kvasne mikroflore, ki je prisotna v naravi oz. je divja. Poimenovanje tega procesa kot spontana alkoholna fermentacija sploh ni ustrezno, saj vsi fermentacijski procesi potekajo z najmanj eno vrsto kvasovk, ki je prisotna v naravi (naj bo to vrsta starterske kulture ali pa ne) (Košmerl, 2007).

2.3.1.3 Dodatek starterske kulture vinskih kvasovk

Starterske kulture imajo velik pomen pri alkoholni fermentaciji, saj vsebujejo različne seve kvasovk, ki lahko omogočajo dejavnejšo alkoholno fermentacijo. Pri izbiri kvasovk moramo biti pozorni na dobre fermentacijske lastnosti, aromatične značilnosti ter dobre metabolne in tehnološke lastnosti. Potrebna je tudi prisotnost anaerobnih razmer ter primerna fermentacijska temperatura med 16 in 20 °C (Košmerl, 2007).

2.3.1.4 Faze alkoholne fermentacije

Proces alkoholne fermentacije lahko razdelimo na več posameznih faz (Jakubik, 2011):

- 1) rast kvasovk (V tej fazi alkoholna fermentacija še ne poteka, ker morajo kvasovke najprej zrasti do zadostne celične gostote; navadno traja ta faza le nekaj dni.)
- 2) začetek alkoholne fermentacije (Ko je kvasovk številčno dovolj, sprožijo vrenje.)
- 3) intenzivna alkoholna fermentacija (vrenje je zelo intenzivno, pojavi se pena, ki nastane zaradi ogljikovega dioksida, jabolčnik se začne bistriti, zaradi sproščanja toplote se lahko posoda segreje.)
- 4) tiho končana alkoholna fermentacija (Pojavi se po intenzivnem vrenju in ni več mehurčkov.)

2.3.2 Zorenje jabolčnega vina

Po fermentaciji jabolčnega vina sta okus in aroma dokaj intenzivna. Posledice biokemijskih ali mikrobioloških procesov so pomembne spremembe v sestavi jabolčnega vina. Med zorenjem je potrebno spremljati spremembe z degustacijo, s katero ugotovimo dejansko senzorično kakovost in stanje proizvoda. Ta mora biti bister, primerne barve, vonja, okusa in harmoničnosti. Najprimernejša temperatura za dozorevanje je 12–14 °C, za donegovanje pa 8–12 °C (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003). Spremljanje razlik v vsebnosti hlapnih in nehlapnih kislin je pomembno tudi po končani alkoholni fermentaciji, torej med zorenjem ali staranjem vina (Košmerl in Kač, 2007).

2.3.3 Filtracija jabolčnega vina

Fazo filtriranja uvrščamo med zaključne procese in je tehnika ločevanje suspenzije (Kogej, 1996). Filtracija jabolčnega vina je ločevanje motnih, trdnih delcev iz tekočine s pomočjo filtra. Jabolčno vino mora teči skozi porozno površino filtrirnega sredstva, imenovano filtrirna slojnica ali membrana (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003). Sila, uporabljena pri filtraciji, je lahko ustvarjena z nadtlakom ali vakuumom (Kogej, 1996). Bistrost vina je odvisna od velikosti por filtrirne membrane, s pomočjo katere se iz tekočine odstranijo grobi in tudi najfinejši delci. Filtracijo delimo glede na namen na (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003):

- mehansko filtracijo oz. bistrenje, s katero iz jabolčnega vina odstranimo motne delce in
- razklično – EK filtracijo, ki je namenjena samo za odstranjevanje živih celic drobnokživk, katere cilj je “doseči mikrobiološko stabilnost vina”.

2.4 MIKROBIOLOGIJA

Mikrobiota (po starem imenovana mikrobna združba) vinskih kvasovk je razdeljena glede na prisotnost določene kvasovke v različnih fazah pridelovanja jabolčnega vina, in sicer na (Košmerl, 2007):

- vinograd (zemljo),
- vinarsko-predelovalno okolje in
- opremo.

Jabolčni sok, ki je sveže stisnjen, vsebuje različne mikrobne združbe, npr. različne vrste kvasovk in bakterij, ki kasneje vplivajo na alkoholno fermentacijo. Nekaterim bakterijam in kvasovkam pa jabolčni sok ne predstavlja okolja, v katerem bi lahko rasle in se razvijale, saj ima le-ta visoko stopnjo kislosti in jim ne ustreza (Košmerl, 2007).

2.4.1 Splošne značilnosti vinskih kvasovk

Vrsta *Saccharomyces cerevisiae* velja za “vinsko kvasovko”, vendar ta vrsta prevladuje le na koncu alkoholne fermentacije, medtem ko na površini grozdne jagode in v jabolčnem soku prevladujejo avtohtoni in endogeni rodovi ne-*Saccharomyces* kvasovk (npr. *Torulaspota delbrueckii*), ki na koncu odmrejo. Kvasovke rodov *Schizosaccharomyces*, *Metchnikowia*, *Pichia* pa navadno veljajo za kvasovke kvarljivke. Večini vinarjem je vinska kvasovka znana še pod starim imenom vrste *Saccharomyces bayanus* (Košmerl, 2007).

Poleg starterskih kultur smo v praktičnem delu poskusa dodali tudi hranila za kvasovke, saj lahko z dodatkom ustreznega hranila vplivamo na fermentacijsko kinetiko kvasovk. Količinsko najbolj zastopano hranilo je sladkor, ki služi kot vir energije in ogljika kvasnim celicam. Drugo najpomembnejše hranilo pa so dušikove spojine, ki služijo izgradnji lastnih strukturnih in funkcijskih beljakovin kvasovk. Njihovo pomanjkanje lahko povzroči številne probleme med fermentacijo, npr. njeno upočasnitev, prekinitev ali pa tvorbo neželenih spojin (npr. vodikovega sulfida, uree ...) (Košmerl, 2007).

2.5 KEMIJSKA SESTAVA JABOLČNEGA VINA

Iz jabolčnega soka z alkoholnim vrenjem dobimo jabolčno vino. Sestava jabolčnega vina se spreminja glede na sorto jabolk, pogoje ob zorenju (kot so klima in tla), zrelost jabolk ob trgatvi, način predelave jabolk v jabolčni sok in nego jabolčnega vina (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Sestavine v jabolčnem vinu lahko razvrstimo glede na:

- alkohole, kisline, sladkorje, polifenole ...
- glavne in stranske produkte,
- hlapne in nehlapne snovi.

2.5.1 Voda

Voda predstavlja večinski delež jabolčnega vina, v njej so topne mnoge druge sestavine. Manj kot je vode v jabolčnem vinu, boljša je kakovost jabolčnega vina (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

2.5.2 Alkoholi

Alkohol je glavni produkt alkoholnega vrenja. Največ je etanola oz. etilnega alkohola (C_2H_5OH), ki nastane iz glukoze in fruktoze v jabolčnem soku. Koncentracija etanola v jabolčnem vinu je odvisna od raznih razmer med alkoholno fermentacijo, seva kvasovk, fermentacijske temperature, fermentacijskih sladkorjev in vsebnosti hranil v jabolčnem soku (Košmerl in Kač, 2007).

Alkohol deluje kot konzervans jabolčnega vina, zato so jabolčna vina, ki so bogatejša z alkoholom, obstojnejša. S staranjem oz. zorenjem jabolčnega vina se količina alkohola počasi zmanjšuje (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Skupni alkohol = dejanski (prisotni) alkohol + potencialni alkohol

Dejanski alkohol je alkohol, ki je prisoten v jabolčnem vinu in je napisan na etiketi steklenice jabolčnega vina. **Potencialni alkohol** je preračunana količina nepovretega sladkorja v jabolčnem vinu. **Skupni alkohol** je vsota dejanskega alkohola v jabolčnem vinu in preračunanega potencialnega alkohola (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

V jabolčnem vinu je približno 5 do 7 vol. % alkohola (Jakubik, 2011). Tako po vsebnosti alkohola spada med lahka vina, ki vsebujejo do 10 vol. % (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

2.5.3 Kisline

Ustreznost kislin v vinu je pomembna za hranjenje. Ob pomanjkanju kislin se lahko pojavijo bolezni. Jabolčno vino vsebuje več različnih kislin in njihovih soli. Delimo jih na organske in neorganske, hlapne in nehlapne (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999). V jabolčnem soku prevladujejo organske kisline, kot so: vinska, jabolčna in citronska kislina (Košmerl in Kač, 2007).

Vinska kislina in njene soli (tartrati) so prisotne že v jabolku in jabolčnem soku. **Jabolčna kislina in njene soli (malati)** so produkti nepopolne oksidacije sladkorja v listih jablane, ki se prenesejo na plodove in se tam delno pretvorijo v vodo in ogljikov dioksid. **Citronska kislina in njene soli (citrati)** so v majhnih količinah prisotni v jabolčnem soku in jabolčnem vinu. Mlečnokislinske bakterije razgradijo jabolčno kislino na milejšo **mlečno kislino (laktat)**, ta mikrobiološki proces imenujemo biološki razkis (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Neorganske kisline so v jabolčnem vinu prisotne v manjših količinah v obliki nevtralnih soli, ki sestavljajo mineralne snovi (npr. fosfati, sulfati, silikati in borati) (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Hlapne kisline so prisotne v vseh vinih, a v različnih količinah, običajno jih je v mlajših vinih manj, v starejših pa več. V jabolčnem vinu so to predvsem mravljinčna, očetna in butanojska kislina (Košmerl in Kač, 2007). Njihova povečana vsebnost nakazuje na to, da z jabolčnim vinom nekaj ni v redu (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

2.5.4 Mineralne snovi

Mineralne snovi organizmu pripomorejo pri ohranjanju zdravja in zvišajo senzorično oceno vina. Posebno kakovost imajo vina z nekoliko več mineralnimi snovmi. Pomembnejši kationi so K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} in Fe^{3+} , anioni pa SO_4^{2-} , Cl^- , BO_3^{3-} in NO_3^- . Med alkoholnim vrenjem in po stabilizaciji vina se količina mineralnih snovi zmanjša, zato je v jabolčnem soku vedno več mineralnih snovi kot v jabolčnem vinu (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

2.5.5 Ogljikovi hidrati

Pri alkoholni fermentaciji se iz sladkorja tvori alkohol. Kvasovke lahko povrejo sladkor skoraj v celoti, del sladkorja pa lahko ostane nepovret. Pri kemijski analizi določamo ostanek nepovretega sladkorja (koncentracijo reducirajočih sladkorjev) v jabolčnem vinu. Na podlagi reducirajočih sladkorjev v jabolčnem vinu določimo, ali je to vino suho, polsuho, polsladko ali sladko. V primeru nepravilnega hranjenja jabolčnega vina, ki vsebuje nepovret sladkor, lahko pride do ponovnega vrenja. Pri tem moramo biti pozorni tudi na nekatere bolezni, katerih vzrok je lahko prav nepovret sladkor, ki ga prisotni mikroorganizmi presnavljajo (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

V jabolčnem soku in jabolčnem vinu so prisotni različni sladkorji, ki jih delimo na monosaharide, disaharide in polisaharide. Prevladujoča sladkorja sta **glukoza** in **saharoz** (Košmerl in Kač, 2007). Sladkorji **pentoze** (ki spadajo med monosaharide) ostanejo v jabolčnem vinu kot sestavni del ekstrakta, ker ga kvasovke ne morejo prevreti v alkohol. Med alkoholno fermentacijo poteče encimska hidroliza, pri čemer **saharoz** pretvorijo tiste kvasovke, ki vsebujejo encim saharaza, pri tem nastaneta **glukoza** in **fruktoza**. Topnost polisaharidov, kot so araban, manan in glukan, se zmanjšuje z večanjem alkohola v jabolčnem vinu. Če se pojavijo v velikih količinah, ovirajo filtrabilnost jabolčnega vina, prav tako kot pektini, ki imajo podobno zgradbo kot polisaharidi (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Sladkor v jabolčnem soku ali jabolčnem vinu lahko določamo z moštnimi tehtnicami – areometri, refraktometrom ali kemijsko. V današnjem času največkrat uporabljamo

refraktometer, lahko pa tudi Oechslejevo ali Klosterneuburško moštno tehtnico (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003).

2.5.6 Vrednost pH

Vrednost pH je podatek o dejanski kislosti jabolčnega soka in vina, ki je izražena s koncentracijo vodikovih ionov (H^+). Vrednost pH mošta se navadno giblje od 3,0 do 3,6, vrednost pH jabolčnega vina pa od 3,4 do 3,8. Od vrednosti pH so odvisni mnogi procesi v jabolčnem vinu. Višja pH-vrednost je ugodna za razvoj škodljivih bakterij (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999). Praviloma je pH jabolčnega soka manjši od pH mladega jabolčnega vina (Košmerl in Kač, 2007).

2.5.7 Aroma jabolčnega vina

Aroma jabolčnega vina je občutek, ki ga s čutili za voh in okus zaznamo ob fizikalnih dražljajih. Tako zaznamo hlapne in nehlapne sestavine jabolčnega vina. Glede na to lahko razdelimo jabolčna vina na dve skupini, na nevtralna in aromatična (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Arome delimo na :

1. **primarne** arome, ki nastanejo v sadežu;
2. **sekundarne** arome, ki nastanejo med predelavo sadeža (mletje, mešanje, stiskanje) in raznimi kemijskimi, kemijsko-encimskimi in termičnimi reakcijami v jabolčnem soku;
3. **vrelne** arome, ki nastanejo med alkoholnim vrenjem jabolčnega soka;
4. **ležalne** arome, ki nastanejo med zorenjem jabolčnega vina zaradi kemijskih reakcij ob nastanku novih estrov (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

2.6 SENZORIČNA ANALIZA

Senzorična analiza je znanstvena disciplina in organoleptična ocena živil s čutili, ki zajema kakovostne značilnosti vina, kot so bistrost, barva, vonj, okus in harmoničnost. Naša čutila z receptorji zaznajo različne dražljaje, ki jih prejmejo od jabolčnega vina in so skupek okušanja, vohanja in drugih taktilnih zaznav (Košmerl, 2018).

Pri senzoričnemu ocenjevanju jabolčnega soka ali vina se lahko uporabljajo različne analize (Košmerl, 2018):

- opisna ali deskriptivna analiza,
- diferencialni testi,
- intenzivnostne lestvice.

Dober primer intenzivne lestvice predstavlja ocenjevalna metoda flash profiling oz. metoda hitrega profiliranja, ki je cenovno zelo ugodna, njena prednost je v tem, da lahko ocenjevalec uporabi svoje opisne izraze. Uporablja se za primerjalno vrednotenje vseh vrst vina.

Za senzorično analizo morajo biti degustatorji oz. ocenjevalci usposobljeni, pred seboj imajo vse vzorce vina, ocenjujejo razlike med njimi, ki jih predstavijo kot oznako intenzivnosti na izbrani lestvici. Navadno hitro profiliranje poteka v dveh korakih, saj v prvem koraku

ocenjevalci določijo opisnike, po katerih naj bi ločili vzorce med seboj, v drugem delu ocenjevanja pa ocenjevalci razvrstijo vzorce vin po intenzivnosti izbranega opisnika na lestvici (Korošec in Košmerl, 2014).

Usposabljanje ocenjevalcev navadno temelji na pravilnem načinu ocenjevanja po intenzivnosti in razvoju besednega zaklada, saj ravno ta predstavlja izziv, ker je število pojmov veliko in jih je težko pravilno opredeliti, poleg tega pa si vsi izrazi med seboj niso enotni. Metoda flash profiling je opisana kot zadovoljiva alternativa kvantitativnih senzoričnih analiz, saj je poleg opisnikov, ki vzorec opišejo, dodana tudi intenzivnost le-tega (Liu in sod., 2016).

- Hedonski testi (primerni za laične ocenjevalce).

Pri hedonskem ocenjevanju se ugotavlja potrošnikova sprejemljivost izdelka, zato so najbolj primerni nešolani preizkuševalci, saj šolani v tem primeru ne bi reprezentativno predstavljali potrošnika. Ker torej svojo oceno povedo nešolani potrošniki, test oz. ocenjevanje imenujemo tudi potrošniški test. Pri hedonski metodi ocenjevanja ne ocenjujemo le posamezne lastnosti, temveč izdelek kot celoto oziroma njegovo všečnost potrošniku (Golob in sod., 2005).

Potrošnik na lestvici označi stopnjo ugajanja preizkusnega vina z namenom, da se ugotovi sprejemljivost vina med njimi. Ocenjevalni listek (obrazec ali formular) mora biti sestavljen tako, da čim bolje predstavlja ciljnega potrošnika. Najpogosteje se uporablja 9-točkovna hedonska lestvica, saj je najprimernejša za meritve sprejemljivosti. Če pa so naši preizkuševalci otroci, pa je bolje, da uporabimo 3-, 5-, ali 7-stopenjsko lestvico. Preizkuševalec se mora pri tej metodi ocenjevanja odločiti, katera izjava najboljše ustreza njegovemu zaznavanju živila (Moskowitz in sod., 2012).

Pri ocenjevanju ima pomembno vlogo tudi vrstni red vzorcev (Košmerl, 2018):

- suha vina pred vini s preostankom sladkorja,
- alkoholno revnejša pred alkoholno bogatejšimi,
- ekstraktno lažja vina pred ekstraktno bogatejšimi vini.

Pojavi se lahko tudi zakrivanje ali maskiranje raznih značilnosti v jabolčnem vinu, kar pomeni zmanjšano intenzivnost enega dražljaja zaradi sočasnega delovanja drugega (Košmerl, 2018). Primer tega je nizek pH; to pomeni, da je jabolčno vino kislo, a ima še vedno sladek okus, če vsebuje velike vsebnosti reducirajočih sladkorjev (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

2.7 KAKOVOST JABOLČNEGA VINA ALI MOŠTA

“Kakovost je skupek lastnosti ali značilnosti, ki omogočajo, da proizvod zadovolji navedene ali pričakovane potrebe” (Košmerl T., 2018). Kakovost določimo s senzorično in kemijsko analizo. S kemijsko analizo določimo ustreznost kemijske sestave jabolčnega vina, s senzorično analizo pa ustreznost barve, okusa in vonja.

Za harmonijo jabolčnega vina je pomembno razmerje med sladkorji in kislinami že v sveže stisnjem jabolčnem soku (Jakubik, 2011).

Za kakovost jabolčnega vina je pomembna vsebnost sladkorjev in skupnih kislin (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003).

3 MATERIALI IN METODE DE LA

3.1 MATERIALI IN POTEK DE LA

3.1.1 Priprava kvasnega nastavka in hranil za kvasovke

Za pripravo kvasnega nastavka smo zatehtali 0,1125 g kvasovk in v plastenke s prostornino 0,5 L nalili 450 mL jabolčnega soka, kar je predstavlja do datek 25 g kvasovk/hL jabolčnega soka. Zatehtano količino kvasovk smo prelili z 10-kratno količino (1,125 mL) tople vode (40 °C), da je potekel proces rehidracije, kar pomeni, da smo kvasovke obudili. Po 15 minutah rehidracije vrelnega nastavka smo v kozarčke dolili še 10-kratno količino (1,125 mL) jabolčnega soka in s tem omogočili popolno rehidriranje kvasovk ter prilagoditev le-teh na t. i. novo okolje; temu postopku pravimo aklimatizacija. Ponovno smo pustili kvasovke počivati 15 minut. Po pretečenem času smo v kozarčke dodali še 0,1575 g hranil za kvasovke (32,8 g/hL), ki smo jih zatehtali že prej, nekoliko premešali in vse skupaj zlili v fermentacijsko plastenko (450 mL), a ne do vrha zaradi poteka alkoholne fermentacije, plastenko pa zamašili z vrelnu veho.

Pri zastavi poskusa smo uporabili različne vrste kvasovk, ki smo jih kombinirali z različnimi hranili (Preglednica 1). Vsako kombinacijo smo ponovili 6-krat in vzorce razdelili na polovico. Prvo polovico smo postavili na 20 °C, drugo na 15 °C.

Preglednica 1: Kombinacije kvasovk in hranil za kvasovke

Kombinacija	Številka vzorca	Vrsta kvasovk	Tržno ime kvasovk	Tržno ime hranil
1	1	Kontrola	/	/
	2			
	3			
2	4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Uvaferm BC	Fermaid E
	5			
	6			
3	7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cross Evolution	Fermaid O
	8			
	9			
4	10	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Biodiva	Fermaid O
	11			
	12			

3.1.2 Opis kulture kvasovk in hranil za kvasovke, uporabljenih v poskusih

Glede na veliko biotsko raznolikost kvasovk v okolju, v katerem lahko najdemo veliko različnih vrst in podvrst kvasovk (razen seveda vrste *Saccharomyces cerevisiae*), ki so prav tako prisotne v večini jabolčnih sokov, le-te izkoriščamo premalo. Mikrobiotska populacija med spontano alkoholno fermentacijo povzroči aktivnost encimov, ki lahko na kakovost jabolčnega vina vplivajo pozitivno ali negativno. V raziskovalnem in razvojnem programu firme Lallemand so za upravljanje alkoholne fermentacije začeli uvajati uporabo nekonvencionalnih vrst kvasovk, kot so *Torulaspora delbrueckii* (to vrsto sva uporabili tudi v najinem poskusu) in vrsto *Metschnikowia pulcherrima* pri zaporednih inokulacijah. Kvasovke, ki smo jih uporabili, pripadajo rodovom ne-*Saccharomyces* in *Saccharomyces* (vrsta *Saccharomyces cerevisiae* odpira nove možnosti v vinarstvu).

Skupina I: Brez kvasovk / Brez hranil

Skupina II: Uvaferm BC / FERMAID E

Skupina III: Cross evolution / FERMAID O

Skupina IV: BIODIVA / FERMAID O

Uvaferm BC je izbrana kombinacija kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*. Zahvaljujoč majhnim potrebam po hranilih za kvasovke in po stopnji fermentacije, je eden najvarnejših sevov, ki so na voljo za vinarje, in se lahko uporablja za fermentacijo tako belega kot rožnatega (rožnatega) in rdečega mošta. Njene fermentacijske sposobnosti so idealno orodje za težka enološka stanja, kot so:

- zelo prečiščen bel in rožnat mošt, s preverjenim pomanjkanjem dušika,
- mošt iz gnilega grozdja,
- močno »onesnaženi« beli, rožnati ali rdeči mošt z avtohtonimi kvasovkami in bakterijami.

To kvasovko se lahko uporablja tudi za ponovni zagon zaustavljene fermentacije ali pa kot kvasovko za izvedbo sekundarne fermentacije (za pridelavo penečih vin).

Mikrobiološke in enološke lastnosti:

Kvasovka Uvaferm BC je občutljiva za kompetitivni faktor K_2 , ima visoko toleranco do alkohola do 18 vol. % in kratko fazo prilagajanja. Za fermentacijo te kvasovke je značilna visoka hitrost ter velik temperaturni razpon (optimalno med 15 in 30 °C) fermentacije. Zahteva po asimilativnem dušiku je majhna, tvori majhno vsebnost hlapnih kislin (približno 0,24 g/L, izraženo kot očetna kislina), povečana pa je proizvodnja pene (Scott Laboratories, 2008).

Cross Evolution je naravni hibrid (križanec) med enološkimi kvasovkami *Saccharomyces cerevisiae* in je primerna za bele in rdeče sorte, pri katerih sta zaželena intenziven okus in aromatičnost (vključno s proizvodnjo estrov), prav tako pa je tudi zelo priporočljiva za uporabo v proizvodnji vin iz jabolk in hrušk. Na splošno je za to kvasovko značilno dobro razmerje med občutkom v ustih (volumnom) in kislostjo. Priporočljiva je za fermentacijo različnih vinskih sort, kot so npr. dišeči traminec, sivi pinot in sauvignon, v katerih daje dobro ravnotežje med rastlinskimi notami in izrazito sadnimi aromami. Kvasovka je plod raziskav na Inštitutu za biotehnologijo vina Univerze Stellenbosch v Južni Afriki. Ta kvasovka je bila izbrana iz narave in se od takrat izboljšuje z lastniškim postopkom Lallemand, imenovanim YSEO® (zaščita kvasovk in senzorična optimizacija; Yeast Security and Sensory Optimization).

Mikrobiološke in enološke lastnosti:

Fermentacija kvasovke Cross Evolution poteka v temperaturnem območju 14–20 °C, v katerem se tvori srednja količina pene, visoka stopnja glicerola in nizek relativni potencial tvorbe SO₂. Med fermentacijo je moč vrenja zmerna z daljšo fazo prilagajanja. Prav tako imajo kvasovke relativno majhno potrebo po dušiku (v seveda nadzorovanih laboratorijskih pogojih), zato običajno dobro delujejo tudi pri manjših koncentracijah asimilativnega dušika (YAN). Alkoholna toleranca je 15 vol. % (Lallemandwine, 2013).

Biodiva je čista kultura kvasovk vrste *Torulaspota delbrueckii*, izbrana zaradi svojih lastnosti, ki povečajo aromatičnost vina in kompleksnosti okusa. Uporablja se pri zaporednih cepitvah z združitvijo izbranih kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*, ki jih je preučil in priporočil Lallemand. Biodiva pomaga nadzorovati razvoj aromatičnih vin, s tem da daje prednost nastanku in zaznavi nekaterih estrov, ne da bi pri tem prevzeli okus vina. Zaradi svoje majhne tvorbe hlapnih kislin in tolerance na osmotski šok je prilagojena je za fermentiranje poznih trgategv in ledenih vin.

Mikrobiološke in enološke lastnosti:

Biodiva ima optimalno temperaturo vrenja vina višjo od 16 °C, tvorba hlapnih kislin je zelo majhna in ima zmerno dolgo fazo prilagajanja. Toleranca kvasovke na alkohol ni najboljša, zato je za fermentacijo sladkorno bogatih moštov priporočljivo uporabiti tudi zaščitno sredstvo za zmanjšanje osmotskega stresa. Zelo dobro je kvasovka združljiva z jabolčno-mlečnokislinsko (malolaktično) fermentacijo (Scott Laboratories, 2008).

Fermaid E je hranilo za kvasovke, ki spada med bolj kompleksna hranila. Pri moštu kompenzira pomanjkanje mikrohranil in dušika. Med vrenjem prinaša v mošt dušik v anorganski in organski obliki. Kot hranilo pa prav tako pripomore k velikemu donosu vitaminov in mineralov. Doziramo ga tako, da raztopini dodamo od 20 do 40 g/hL soka/mošta (Lallemandwine, 2013).

Fermaid O je najnovejše hranilo in je mešanica inaktiviranih frakcij kvasovk, bogatih z organskim dušikom. Fermaid O ne vsebuje dodanih amonijevih soli (DAP; diamonijev hidrogenfosfar) ali mikronutrientov in zaradi velike vsebnosti organskega dušika pomaga vinarjem pri doseganju enakomernega poteka fermentacij in hkrati omejuje temperaturne vrhove. Kadar dodatek anorganskega dušika (DAP) ni zaželen, je priporočljiva uporaba Go-Ferm ali GO-FERM PROTECT in Fermaid O. S tem zagotovimo potrebna mikrohranila med rehidracijo kvasovk in Fermaid O dobavi kritična hranila in dejavnike preživetja, da kvasovkam prepreči stresne razmere (Lallemandwine, 2013).

3.2 METODE DELA

Potek alkoholne fermentacije smo spremljali s pomočjo oddanega CO₂, ki se je kazal v zmanjševanju mase fermentacijskih plasten. Fermentacijske plastenke smo tehtali 21 dni 2-krat dnevno, ob 6.35 in 16.00. Po končani glavni alkoholni fermentaciji smo vzorce odnesli v laboratorij in jih prefiltrirali s filtrirnim papirjem.

3.2.1 Fizikalne in kemijske analize mošta in jabolčnega vina

Jabolčni sok analiziramo pred začetkom alkoholne fermentacije. Če tega ne storimo takoj, moramo jabolčnem soku dodati 1 mL čistega formalina, ki preprečuje fermentacijo. Analize jabolčnega vina pa opravimo po končani fermentaciji, ko CO₂ ne nastaja več oz. se masa pri tehtanju ne zmanjšuje, ampak ostaja konstantna (Košmerl in Kač, 2007).

Jabolčnem soku smo določili:

- sladkorno stopnjo,
- titrabilne in skupne kisline,
- pH.

Jabolčnem vinu smo določili:

- reducirajoče sladkorje,
- hlapne kisline,
- titrabilne in skupne kisline,
- pH,
- alkohol,
- skupni ekstrakt.

Poleg naštetih določitev smo izračunali še dva parametra, in sicer koncentraciji kislodelujočih soli in sladkorja prostega ekstrakta.

3.2.1.1 Določanje sladkorjev v jabolčnem soku

Ročni refraktometer meri sladkorno stopnjo v jabolčnem vinu s pomočjo lomnega količnika mošta. Lahko ima od 1 do 3 skale: samo v Brixovih (Brix) stopinjah, samo v Oechslejevih (Oe) stopinjah, samo v Klosterneuburških (KI) stopinjah ali kar v vseh treh. Danes obstaja tudi **digitalni refraktometer** (slika 1), ki deluje tako, da s kapalko na čutilo nanese nekaj kapljic vzorca jabolčnega soka, na zaslonu pa se izpišejo rezultati v vseh treh enotah.

Ker ves razpoložljiv sladkor ne povre v etanol, je njegova koncentracija manjša od pričakovane. Nekaj etanola se izgubi tudi pri izhlapevanju in izhajanju CO₂. Približno koncentracijo oz. volumski delež alkohola (ali etanola) izračunamo po formuli (Košmerl in Kač, 2007):

$$c \text{ (vol. \%)} = \text{°Brix} \cdot 0,59$$

c - koncentracija alkohola (vol. %)

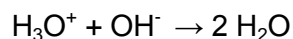
°Brix - Brixove stopinje



Slika 1: Digitalni refraktometer (Sedmak, 2019)

3.2.1.2 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin in kislodelujočih soli v jabolčnem soku in vinu

Skupne oz. titrabilne kisline v jabolčnem soku ali vinu določamo s kislinsko-bazno potenciometrično titracijo. Najprej izmerimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni v vzorec. Pri tem uporabimo kombinirano stekleno elektrodo, v katero sta združeni referenčna in merilna elektroda. Za merjenje uporabljamo pH-meter: Mettler Toledo DL50 Graphix (slika 2), ki ga umerimo s komercialnima pufrnima raztopinama, potem preverimo še pH standardne raztopine (to je raztopina kalijevega hidrogenkarbonata), ki naj bi imela pH točno 3,75. Nato v čašo odpipetiramo 25 mL vzorca jabolčnega soka in s pH-metrom odčitamo začetno vrednost pH. Potem izberemo metodo: dvotočkovna titracija, pri tem avtomatsko titriramo jabolčno vino z 0,09737 M bazično raztopino NaOH. Pri titraciji z bazo poteka reakcija:



Najprej titriramo do pH 7,0, odčitamo porabo baze (a_1) in nadaljujemo s titracijo do pH 8,2, tam zopet odčitamo porabo baze (a_2), ki se je porabila od pH 7 do pH 8,2. Potem izračunamo celotno porabo baze od začetne pH vrednosti do 8,2 ($a_3 = a_1 + a_2$). Na podlagi porabe baze pri titraciji do pH 7,0 (a_1) izračunamo titrabilne kisline (TK_1). S porabo baze pri titraciji do pH 8,2 (a_2) pa skupne kisline (TK_2) v g vinske kisline/L. Pazimo, da elektrodo med meritvami na različnih vzorcih temeljito očistimo z destilirano vodo (Košmerl in Kač, 2007).

$$\text{TK}_1 \text{ (g/L)} = \frac{a_1 \text{ (mL)} \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)}}{v \text{ (mL)} \cdot n}$$

$$TK_2 \text{ (g/L)} = \frac{a_3 \text{ (mL)} \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)}}{v \text{ (mL)} \cdot n}$$

$$a_3 = a_1 + a_2$$

TK_1 - titrabilne kisline (g vinske kisline/L)

TK_2 - skupne kisline (g vinske kisline/L)

a_1 - volumen porabljene baze pri titraciji do pH 7,0 (mL)

a_2 - volumen porabljene baze pri titraciji od pH 7,0 do pH 8,2 (mL)

a_3 - volumen porabljene baze pri titraciji do pH 8,2 (mL)

c - koncentracija baze NaOH = 0,09737 M

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

v - volumen vzorca = 25 mL

n - molsko razmerje med NaOH in vinsko kislino = 2



Slika 2: pH-meter. (Sedmak, 2019)

Kislodelujoče soli so razlika med skupnimi in titrabilnimi kisljinami v vinu oz. moštu. Ker so razlike navadno majhne, jih izražamo v mg vinske kisline/L.

$$KS \text{ (mg/L)} = (TK_2 \text{ (g/L)} - TK_1 \text{ (g/L)}) \cdot 1000$$

KS - kislodelujoče soli (mg vinske kisline/L)

TK_1 - titrabilne kisline (g vinske kisline/L)

TK_2 - skupne kisline (g vinske kisline/L)

3.2.1.3 Določanje pH jabolčnega soka in vina

Vrednost pH jabolčnega soka ali vina določimo s koncentracijo oz. aktivnostjo H_3O^+ ionov. To izmerimo v obliki razlike v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni v vzorec. Pri tem ponavadi uporabimo kombinirano stekleno elektrodo, v katero sta združeni referenčna in merilna elektroda. Referenčna elektroda ima stalen in znan potencial, merilna steklena elektroda pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ v raztopini. Za merjenje uporabljamo pH-meter: Mettler Toledo DL50 Graphix (slika 2). S komercialnima pufrnima raztopinama pH-meter umerimo, eno s pH 4,00 in drugo s pH 7,02. Po umerjanju pH-metra moramo preveriti pH standardne raztopine (to je raztopina kalijevega hidrogenatratata), ki naj bi imela pH točno 3,75. Pri merjenju pH vzorcev jabolčnega soka ali vina moramo biti previdni, da je elektroda

popolnoma potopljena v vzorec in da jo med meritvami temeljito očistimo, tako da jo speremo z destilirano vodo. Vsakemu vzorcu vsaj dvakrat izmerimo pH, kot končni rezultat podamo aritmetično sredino meritev, zaokroženo na dve decimalni mesti (Košmerl in Kač, 2007).

3.2.1.4 Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v jabolčnem vinu

Relativna gostota je razmerje med gostoto jabolčnega soka ali vina in gostoto vode pri 20 °C (Košmerl in Kač, 2007).

Ekstrakt tvorijo snovi, ki ostanejo po destilaciji vina. Sestavine so razni ogljikovodiki, glicerol, višji alkoholi, nehlapne kisline, dušikove spojine, polifenoli in mineralne snovi (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999). **Skupni ekstrakt** vina je sestavljen iz nehlapnih snovi v vinu, kot so sladkorji, fiksne kisline itd. (Košmerl in Kač, 2007).

Vzorcu vina z 20 °C (to temperaturo dosežemo tako, da vzorce za krajši čas termostatiramo na vodni kopeli) izmerimo relativno gostoto z denzimetrom Mettler Toledo DE45 Density Meter (slika 3). Najprej z injekcijsko brizgo resonančno U-cevko denzimetra najprej speremo z vzorcem, nato cevko ponovno napolnimo z vzorcem vina tako, da v cevki ni več mehurčkov zraka. Denzimeter najprej izenači temperaturo vzorca in opravi 10 meritev relativne gostote in izračuna povprečje (d_v), ki se nam izpiše na zaslonu.



Slika 3: Denzimeter (Mulec, 2019)

Destilat pridobimo tako, da predestilirano vino, ki je bilo v merilni bučki termostatirano 20 min (20 °C). Natanko 100 mL vzorca tega vina kvantitativno prenesemo v destilacijsko posodo (merilno bučko večkrat speremo z deionizirano vodo) ter dodamo 5 mL 12 % raztopine CaO (zaradi boljše prevodnosti) in nekaj kapljic protipenilca. Destiliramo v merilno bučko, da dobimo približno 75 do 80 mL destilata (slika 4), ki ga zopet postavimo v vodno kopel za 20 min (20 °C). Potem dopolnimo merilno bučko do oznake 100 mL z deionizirano vodo in dobro premešamo. Z denzimetrom, kot pri vzorcu vina, ponovno izmerimo relativno gostoto ekstrakta (d_A) in izpišemo še koncentracijo (volumski delež) alkohola, ki se prav tako izpiše na zaslonu v vol. %. (Košmerl in Kač, 2007).



Slika 4: Destilacijska naprava (Mulec, 2019).

Na podlagi meritev izračunamo še relativno gostoto skupnega ekstrakta vina (d_{SE}) s Tabariejevim obrazcem:

$$d_{SE} = d_V - d_A + 1,000$$

d_{SE} - relativna gostota skupnega ekstrakta vina

d_V - relativna gostota vzorca vina

d_A - relativna gostota ekstrakta

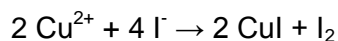
S pomočjo izračunane relativne gostote skupnega ekstrakta zapišemo še masno koncentracijo skupnega ekstrakta (g skupnega ekstrakta/L vina), ki jo odčitamo iz preglednice.

3.2.1.5 Določanje reducirajočih sladkorjev v jabolčnem vinu in izračun sladkorja prostega ekstrakta

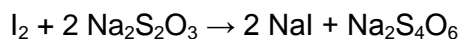
Reducirajoče sladkorje v jabolčnem vinu lahko določimo po metodi po Rebeleinu (Košmerl in Kač, 2007).

V erlenmajerico odpipetiramo 10 mL raztopine CuSO_4 , 5 mL raztopine $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6$ in 2 mL vzorca jabolčnega vina. Raztopino dobro premešamo in jo postavimo na že ogret 300 W električni grelec za minuto in pol. V zmesi poteče oksidacija reducirajočih sladkorjev v kisline. Pri tem nastane presežek Cu^{2+} ionov.

Takoj po segrevanju erlenmajerico z raztopino ohladimo pod tekočo vodo. Dodamo 10 mL raztopine 16 % H₂SO₄, 10 mL raztopine škrobovice in 10 mL raztopine KI ter zmes premešamo.



Bireto do vrha napolnimo s titrantom. Titrant je v tem primeru raztopina Na₂S₂O₃. Ohlajeno temno modro zmes v erlenmajerici titriramo do slamnato rumene barve, ki je obstojna vsaj 3 do 5 sekund. Porabljeni volumen titranta je enak koncentraciji reducirajočih sladkorjev (g/L) (Košmerl in Kač, 2007).



Slika 5: Raztopina CuSO₄ in raztopina C₄H₄KNaO₆ (Sedmak, 2019)



Slika 6: Električni grelec z raztopino (Zorenč, 2019)



Slika 7: Bireta s titrantom (Zorenč, 2019)



Slika 8: Barva zmesi v erlenmajerici po končani titraciji z $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Sedmak, 2019)

Sladkorja prosti ekstrakt (SPE) je razlika med skupnim ekstraktom in reducirajoči sladkorji (Košmerl in Kač, 2007).

$$\text{SPE (g/L)} = \text{SE (g/L)} - \text{RS (g/L)}$$

SPE - koncentracija sladkorja prostega ekstrakta (g/L)

SE - koncentracija skupni ekstrakt (g/L)

RS - koncentracija reducirajočih sladkorjev (g/L)

3.2.1.6 Določanje hlapnih kislin v vinu

Pri določanju hlapnih kislin uporabimo destilacijsko napravo Gibertini (slika 9). V destilacijsko bučko odpipetiramo 20 mL vzorca jabolčnega vina, 1 mL 50 % raztopine vinske kisline in nekaj kapljic protipenilca. Vzorec z vodno paro destiliramo dokler nimamo 150 mL destilata. Brezbarvnemu destilatu nato dodamo nekaj kapljic alkoholne raztopine fenolftaleina (služi kot indikator) in ga titrimo s 0,094428 M raztopino NaOH do prehoda v svetlo rožnato barvo, ki jo obstojna vsaj 15 do 20 sekund. Nato z birete odčitamo porabo titranta in izračunamo koncentracijo hlapnih kislin, ki jih izrazimo kot masno koncentracijo očetne kisline (g/L) (Košmerl in Kač, 2007).

$$\text{HK}_1 = a_1 \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)} \cdot \left(\frac{50}{1000} \right)$$

HK₁ - koncentracija hlapnih kislin (g očetne kisline/L)

a₁ - poraba titranta (mL)

c - koncentracija NaOH = 0,094428 mol/L

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



Slika 9: Destilacijska naprava (Mulec, 2019)



Slika 10: Barva zmesi v erlenmajerici po končani titraciji z NaOH (Zorenč, 2019)

3.2.2 Senzorična analiza

V senzorični analizi je sodelovalo dvanajst nešolanih preizkuševalcev, zato smo izbrali primerni senzorični metodi zanje. Izbrali smo raznoliko spolno (šest moških in šest žensk) in starostno sestavo (od 18 do 70 let), zato da smo dobili čim bolj splošno senzorično oceno jabolčnih vin.

3.2.2.1 Prostor za senzorično ocenjevanje

Za ocenjevanje pridelanih vin smo skušali zagotoviti prostor, ki bi čim bolj ustrezal mednarodnim predpisom, da mora biti prostor miren, svetel (neposredna dnevna svetloba), dobro prezračen, s primerno temperaturo zraka ($20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$). Miza, na kateri se je pokušanje izvajalo, je imela belo podlago, na kateri je bil kozarec z navadno vodo. Potrebna je bila tudi luč za ugotavljanje bistrosti in barve vina ter ločenost ocenjevalcev (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003).

3.2.2.2 Posoda za ocenjevanje

Jabolčno vino so preizkuševalci ocenjevali v kozarcih za vino s pecljem. Kozarci za ocenjevanje morajo biti brezbarvni, gladki, tanki, pecljati in čisti. Pokuševalni kozarec mora biti tudi primerne oblike. Najprimernejši je degustacijski kozarec z oznako INAO (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003).

3.2.2.3 Temperatura jabolčnega vina ob ocenjevanju

Vsi vzorci jabolčnega vina, ki so ga pokuševalci pokušali, so imeli enako temperaturo (20 °C).

3.2.2.4 Vrstni red vzorcev jabolčnega vina na ocenjevanju

Vzorci vina so si sledili po osnovnem pravilu, ki velja za pokuševanje vina. Vedno se začne z vzorci vina, ki so manj sladki, lahki, bogati na kislini, z manj alkohola, nevtralni in so mlajši letnik ter se stopnjuje do tistih vin, ki so bolj sladka, bogatejša, manj kislila, bogatejša na alkoholu, aromatična in so starejšega letnika (Vodovnik in Vodovnik Plevnik, 2003).

3.2.2.5 Količina vzorca

Vsakemu pokuševalcu posebej sva v kozarec nalili približno 0,2 L jabolčnega vina.

3.2.2.6 Označevanje vzorcev

Vzorci, ki so bili označeni od 1 do 12 smo združili iz treh paralelk v en vzorec (pri posamezni temperaturi) (Preglednica 2). Vsakemu vzorcu smo dodelili trimestno kodo, da pokuševalci ne bi mogli izvedeti, katere vzorce predstavljajo in ne bi bili pri svoji oceni subjektivni.

Preglednica 2: Označitev vzorcev jabolčnega vina za senzorično analizo

Temperatura	Kombinacija	Številka vzorca	Koda	Alkohol (vol. %)
15 °C	1	1, 2, 3	651	0,37
	2	4, 5, 6	896	6,00
	3	7, 8, 9	431	5,46
	4	10, 11, 12	762	5,67
20 °C	1	1, 2, 3	387	0,13
	2	4, 5, 6	936	5,97
	3	7, 8, 9	542	5,94
	4	10, 11, 12	315	6,02

3.2.2.7 Senzorični obrazci

Za izvedbo senzorične analize smo uporabili dve metodi, in sicer hedonsko metodo ocenjevanja in metodo hitrega profiliranja.

3.2.2.7.1 Hedonska metoda ocenjevanja

Pokuševalci so morali vsak vzorec oceniti s hedonskim ocenjevanjem, in sicer z 9-točkovno hedonsko lestvico. Lestvico z opisi stopenj ugajanja smo pretvorili v numerično oceno, in sicer 1 točka pomeni 'ekstremno mi ne ugaja', 9 točk pa pomeni 'ekstremno mi ugaja' (Slika 11).

Ekstremno ne ugaja	Zelo ne ugaja	Dokaj ne ugaja	Rahlo ne ugaja	Niti ugaja niti ne ugaja	Rahlo ugaja	Dokaj ugaja	Zelo ugaja	Ekstremno mi ugaja
--------------------	---------------	----------------	----------------	-----------------------------	-------------	-------------	------------	--------------------

Slika 11: 9-točkovna hedonska lestvica

3.2.2.7.2 Metoda hitrega profiliranja (Flash profiling)

S to metodo so potrošniki po okušanju vseh vzorcev zraven črte, na kateri je bil napisan opisnik, razvrstili ocenjevane vzorce glede na izraženo intenzivnost tega opisnika na 100-milimetrski lestvici. Zahteva se, da potrošniki sami določijo od tri do pet opisnikov, ki odlikujejo in razlikujejo ocenjevane vzorce. Pri našem flash profilingu jabolčnih vin smo pokuševalcem zaradi nešolanosti opisnik določili že kar mi (Slika 12).

(opisnik) _____
najmanj najbolj

Slika 12: 100-milimeterska lestvica hitrega profiliranja

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 REZULTATI KEMIJSKE ANALIZE JABOLČNEGA SOKA

4.1.1 Meritve sladkorne stopnje

Preglednica 3 prikazuje sladkorno stopnjo v dveh različnih lestvicah, in sicer v °Oe in °Brix. Sladkorna stopnja izmerjena v laboratoriju z refraktometrom je znašala $44 \pm 0,0$ °Oe oziroma $11,03 \pm 0,05$ °Brix.

Preglednica 3: Povprečna vrednost treh meritev (\pm standardni odklon) sladkorne stopnje jabolčnega soka

MERITVE	Sladkorna stopnja (°Oe)	Sladkorna stopnja (°Brix)
povprečje	$44 \pm 0,0$	$11,03 \pm 0,05$

4.1.2 Rezultati potencialne koncentracije etanola v jabolčnem vinu

Preglednica 4 prikazuje izračun pričakovane koncentracije etanola glede na začetno vsebnost sladkorjev v jabolčnem soku. Vrednost $6,51 \pm 0,03$ vol. % je optimalna predvidena koncentracija etanola, ki bi nastala, če bi se med alkoholno fermentacijo porabili vsi sladkorji.

Preglednica 4: Povprečje rezultatov potencialne koncentracije alkohola v vinu na podlagi sladkorne stopnje v jabolčnem soku (°Brix)

REZULTATI	Potencialna koncentracija etanola v vinu (vol.%)
povprečje	$6,51 \pm 0,03$

4.1.3 Meritve titrabilnih in skupnih kislin

Preglednica 5 prikazuje vsebnost titrabilnih in skupnih kislin v jabolčnem soku. Kot pričakovano je bilo skupnih kislin ($4,32 \pm 0,0$ g vinske kisline/L) več kot titrabilnih kislin ($4,14 \pm 0,0$ g vinske kisline/L). Razlika je predstavljala $0,18$ g vinske kisline/L.

Preglednica 5: Povprečna vrednost treh meritev (\pm standardni odklon) titrabilnih in skupnih kislin v jabolčnem soku

MERITVE	Titrabilne kisline (g vinske kisline/L)	Skupne kisline (g vinske kisline/L)
povprečje	$4,14 \pm 0,0$	$4,32 \pm 0,0$

4.1.4 Meritve pH

Preglednica 6 prikazuje vrednost pH, ki je bila $3,50 \pm 0,0$. Opazimo, da je bil jabolčni sok kisel, in ne bazičen. Običajno je pH sadnih sokov med 3,1 in 3,6, kar pomeni, da so naši rezultati ustrezali povprečnim vrednostim.

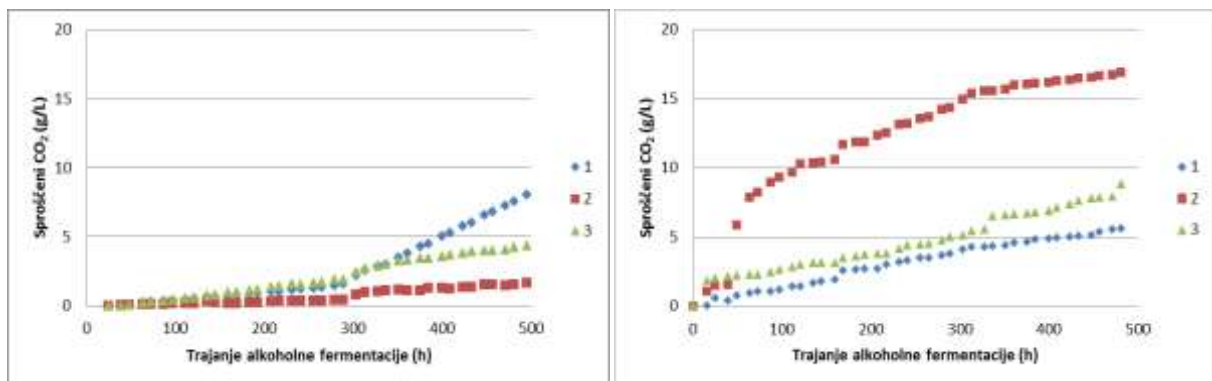
Preglednica 6: Povprečna vrednost treh meritev (\pm standardni odklon) vrednosti pH v jabolčnem soku

MERITVE	pH
povprečje	$3,50 \pm 0,0$

4. 2 POTEK ALKOHOLNE FERMENTACIJE

Alkoholna fermentacija jabolčnega vina je potekala 21 dni. Potek alkoholne fermentacije smo spremljali gravimetrično ter na podlagi izmerjene izgubljene mase preračunali, koliko CO₂ se je pri tem sprostil. Fermentacijske krivulje in krivulje fermentacijske kinetike posameznih vzorcev pri dveh temperaturah (15 °C in 20 °C) so predstavljene v nadaljevanju.

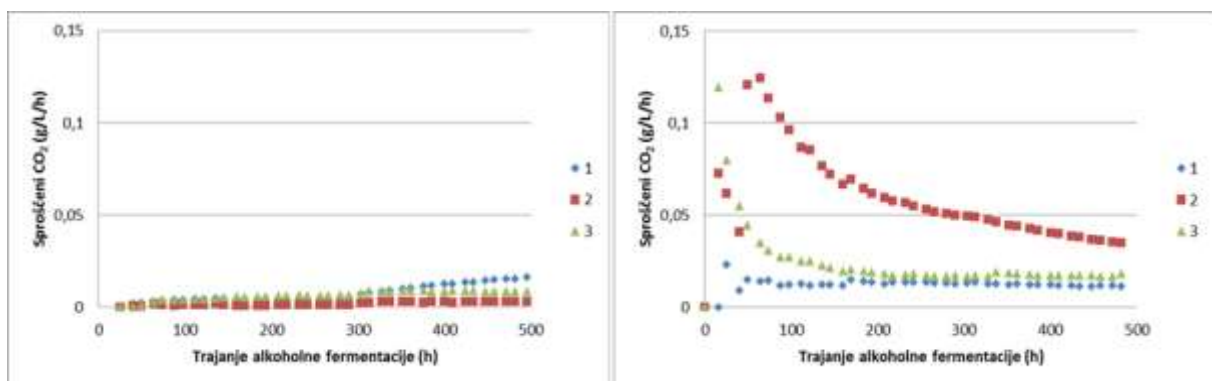
4.2.1 Primerjava krivulj alkoholne fermentacije kontrolnih vzorcev (brez dodatkov)



Slika 13: Primerjava krivulj alkoholne fermentacije kontrolnega vzorca (1, 2, 3) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno)

Slika 13 prikazuje oddani CO₂ (g/L) med alkoholno fermentacijo kontrolnih vzorcev jabolčnega vina (brez dodatka kvasovk in hranil). Pri višji temperaturi (20 °C) so se avtohtone kvasovke hitreje prilagodile in proizvedle v povprečju skoraj 2-krat več CO₂ (predvsem na račun vzorca 2, ki je izstopal) kot avtohtone kvasovke pri nižji temperaturi (15 °C). Posledično smo pričakovali nekoliko več alkohola v vzorcih, ki so bili izpostavljeni višji temperaturi in več reducirajočih sladkorjev v vzorcih pri nižji temperaturi.

4.2.2 Primerjava krivulj fermentacijske kinetike kontrolnih vzorcev (brez dodatkov)

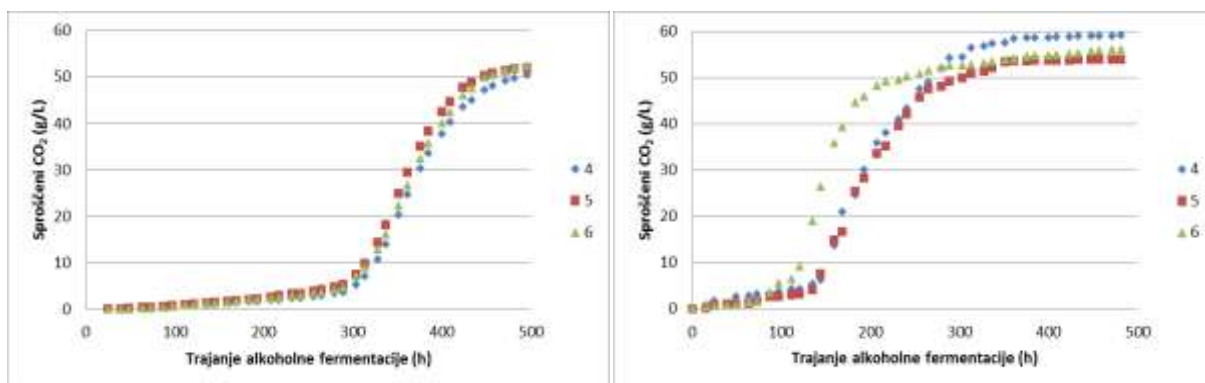


Slika 14: Primerjava krivulj fermentacijske kinetike kontrolnega vzorca (1, 2, 3) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno)

Slika 14 prikazuje kinetiko oddanega CO₂ v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije (g/L/h) pri kontrolnih vzorcih jabolčnega vina (brez dodatka kvasovk in hranil). Razvidno je,

da je bila kinetika sproščanja CO₂ pri višji temperaturi v začetku alkoholne fermentacije veliko večja kot pri vzorcih pri nižji temperaturi. Vidne so bile tudi razlike med vzorci pri višji temperaturi, saj je vzorec 2 v oddajanju CO₂ močno presegal vzorca 1 in 3. Vzrokov je lahko več, med drugim je lahko tudi posledica prisotnosti večje količine kisika pri vzorcu 2, ki je omogočal kvasovkam boljšo rast.

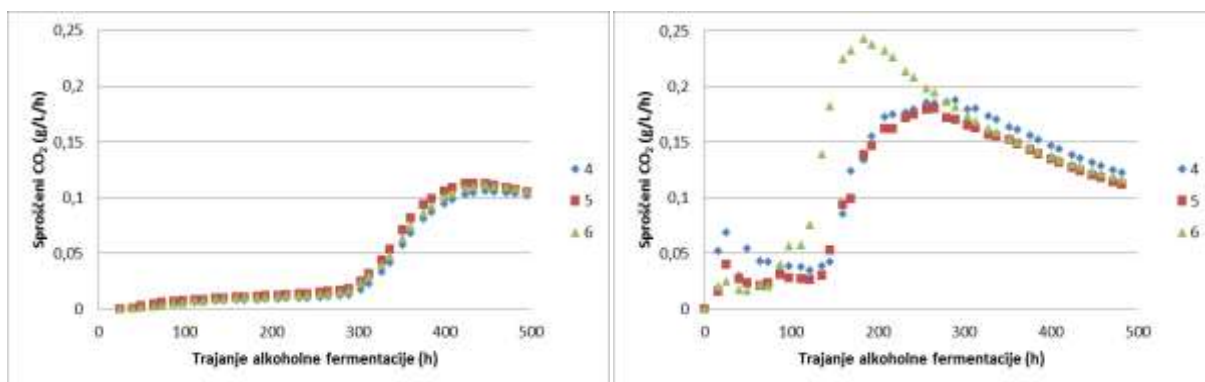
4.2.3 Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorcev z dodatkom Uvaferm BC/Fermaid E



Slika 15: Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorca z dodano kvasovko Uvaferm BC in hranilom Fermaid E (4, 5, 6) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno)

Slika 15 prikazuje oddani CO₂ (g/L) med alkoholno fermentacijo vzorcev jabolčnega vina z dodatkom kvasovke Uvaferm BC in hranila za kvasovke Fermaid E. Alkoholna fermentacija je intenzivno potekala pri višji temperaturi med časom 100 ur in 300 ur, medtem ko je pri nižji temperaturi začela intenzivneje potekati šele po 300 urah. Kvasovke so torej imele na 15 °C zelo dolgo fazo prilagajanja. Maksimalna vrednost sproščenega CO₂ se ni razlikovala veliko, pri višji temperaturi je bila 59 g CO₂/L, pri nižji pa 51 g CO₂/L. Med tremi paralelkami na višji temperaturi se je vzorec 6 hitreje prilagodil na okolje, zato je alkoholna fermentacija stekla približno 40 ur prej.

4.2.4 Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorcev z dodatkom Uvaferm BC/Fermaid E

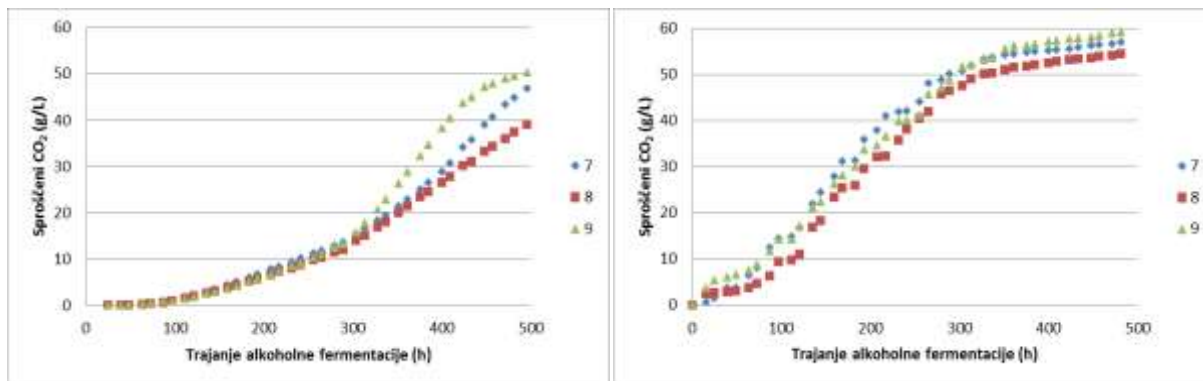


Slika 16: Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorca z dodano kvasovko Uvaferm BC in hranilom Fermaid E (4, 5, 6) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno)

Slika 16 prikazuje kinetiko oddanega CO₂ v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije (g/L/h) pri vzorcih jabolčnega vina z dodatkom kvasovke Uvaferm BC in hranila za kvasovke

Fermaid E. Tudi tukaj je iz grafov razvidno, da se je pri višji temperaturi CO₂ začel sproščati veliko prej kot pri nižji temperaturi. Izmed treh paralelek je pri višji fermentacijski temperaturi opazno odstopal vzorec 6, ki je dosegel največje sproščanje CO₂.

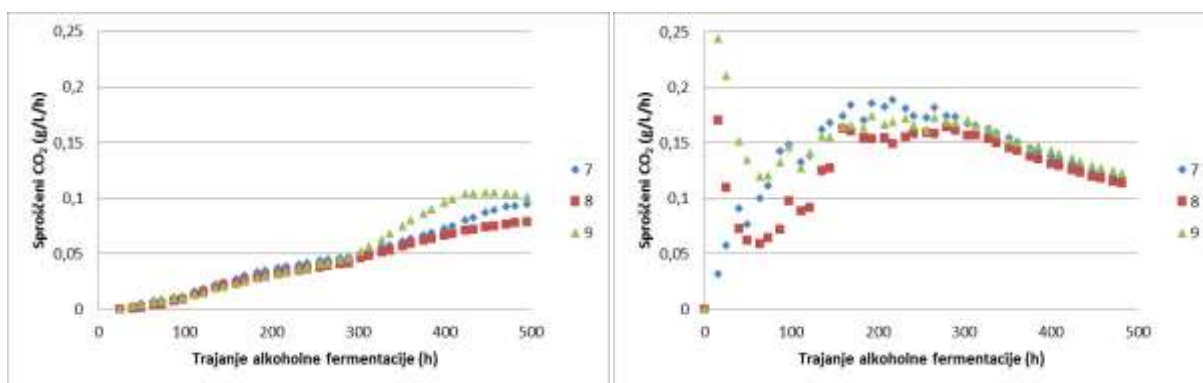
4.2.5 Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorcev z dodatkom Cross Evolution/Fermaid O



Slika 17: Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorca z dodano kvasovko Cross Evolution in hranilom Fermaid O (7, 8, 9) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno)

Slika 17 prikazuje oddani CO₂ (g/L) med alkoholno fermentacijo vzorcev jabolčnega vina z dodatkom kvasovke Cross Evolution in hranila za kvasovke Fermaid O. Opazimo, da je alkoholna fermentacija pri nižji temperaturi potekala počasi, saj so kvasovke potrebovale več kot 100 ur, da so se prilagodile na novo okolje. Vrednost sproščenega CO₂ se je pred koncem tehtanja (malo pred 500 urami) še vedno povečevala. Pri višji temperaturi je alkoholna fermentacija potekla občutno hitreje in v primerjavi z nižjo temperaturo ob koncu alkoholne fermentacije dosegla večjo vrednost sproščenega CO₂.

4.2.6 Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorcev z dodatkom Cross Evolution/Fermaid O

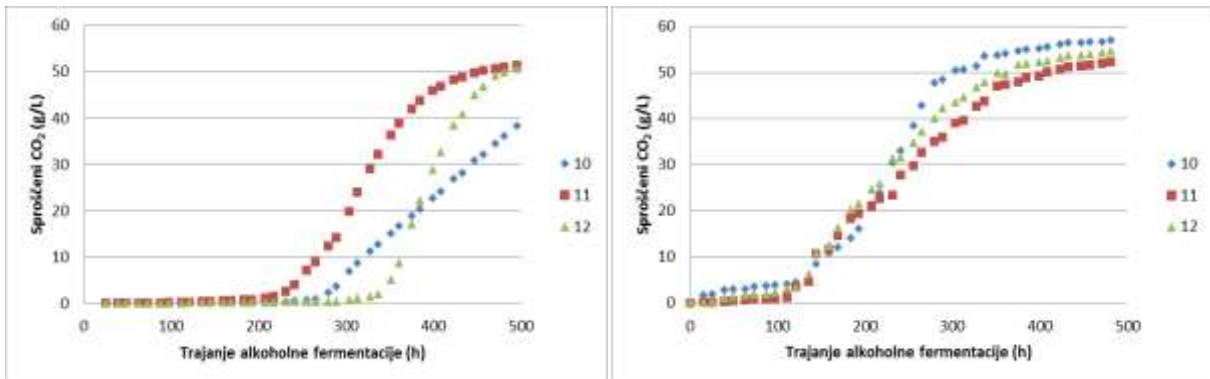


Slika 18: Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorca z dodano kvasovko Cross Evolution in hranilom Fermaid O (7, 8, 9) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno)

Slika 18 prikazuje kinetiko oddanega CO₂ v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije (g/L/h) pri vzorcih jabolčnega vina z dodatkom kvasovke Cross Evolution in hranila za kvasovke Fermaid O. Razvidno je, da sta vzorca 8 in 9 pri višji temperaturi dosegla maksimalno sproščanje CO₂ dvakrat, in sicer na samem začetku alkoholne fermentacije (med 0,17 in 0,24 g/L/h) in po približno 200 urah, kar je več kot neobičajno. Pri nižji

temperaturi pa tudi proti koncu merjenja mas vzorcev (med 400 in 500 urami trajanja) alkoholna fermentacija ni potekla optimalno, saj so vzorci sprostili občutno manj CO₂ (največ 0,11 g/L/h).

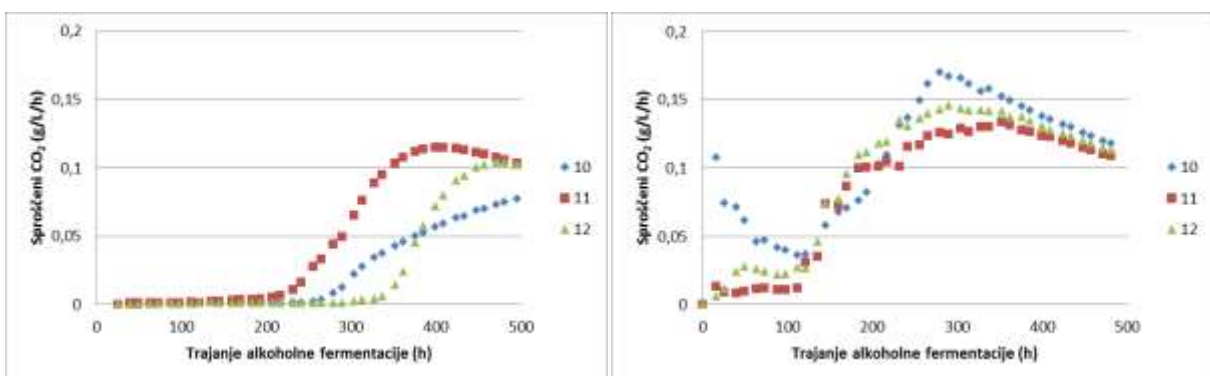
4.2.7 Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorcev z dodatkom Biodiva/Fermaid O



Slika 19: Primerjava krivulj alkoholne fermentacije vzorca z dodano kvasovko Biodiva in hranilom Fermaid O (10, 11, 12) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno)

Slika 19 prikazuje oddani CO₂ (g/L) med alkoholno fermentacijo vzorcev jabolčnega vina z dodatkom kvasovke Biodiva in hranila za kvasovke Fermaid O. Pri nižji temperaturi so kvasovke potrebovale dvakrat več časa za prilagoditev oziroma začetek alkoholne fermentacije v primerjavi z višjo temperaturo (100 v primerjavi z 200-300 urami). Količina sproščenega CO₂ se je pri nižji temperaturi začela dvigovati šele po 210–300 urah, pri višji temperaturi pa po 100 urah. Pri fermentacijski temperaturi 15 °C lahko torej opazimo tudi veliko večjo razliko med posameznimi paralelkami.

4.2.8 Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorcev z dodatkom Biodiva/Fermaid O

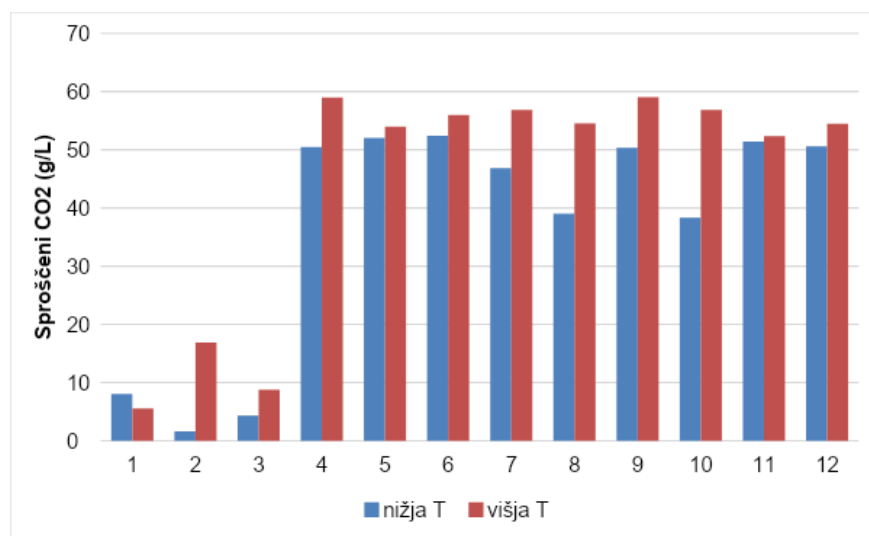


Slika 20: Primerjava krivulj fermentacijske kinetike vzorca z dodatno Biodiva in hranilom Fermaid O (10, 11, 12) pri nižji (levo) in višji fermentacijski temperaturi (desno)

Slika 20 prikazuje kinetiko oddanega CO₂ v odvisnosti od trajanja alkoholne fermentacije (g/L/h) pri vzorcih jabolčnega vina z dodatkom kvasovke Biodiva in hranila za kvasovke Fermaid O. Vidimo lahko, da so vzorci pri višji fermentacijski temperaturi dosegli maksimalno sproščanje CO₂ malo pred 300 urami, ko je bila fermentacijska kinetika največja (0,17 g/L/h pri vzorcu 10), medtem ko je bilo pri nižji fermentacijski temperaturi največ oddanega CO₂ po

približno 350 urah (0,11 g/L/h pri vzorcu 11). Opazimo lahko tudi večje razlike v intenzivnosti sproščenega CO₂ med posameznimi paralelkami pri nižji fermentacijski temperaturi.

4.2.9 Primerjava sproščenega CO₂ med alkoholno fermentacijo pri nižji in višji fermentacijski temperaturi



Slika 21: Primerjava celokupnega oddanega CO₂ (g/L) med alkoholno fermentacijo pri nižji in višji fermentacijski temperaturi

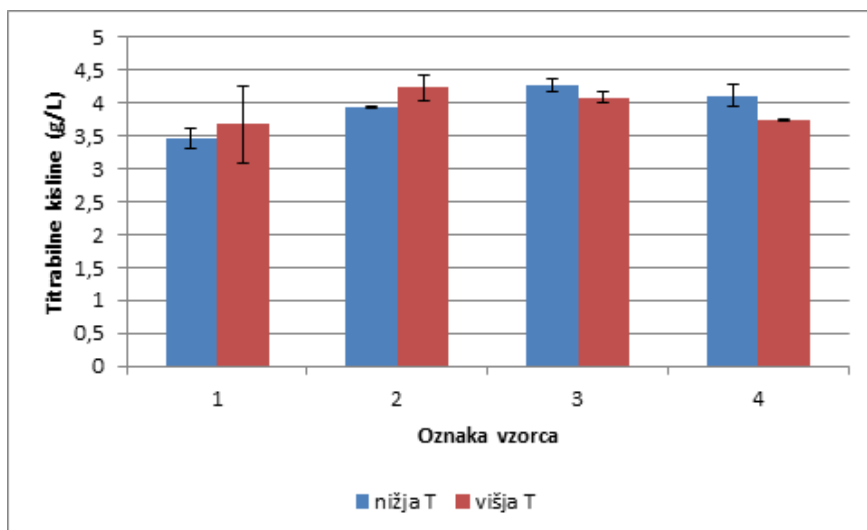
Legenda: 1, 2, 3: kontrola (spontana fermentacija); 4, 5, 6: Uvaferm BC + Fermaid E; 7, 8, 9: Cross Evolution + Fermaid O; 10, 11, 12: Biodiva + Fermaid O

Slika 21 prikazuje celokupno maso oddanega CO₂ (g/L) med alkoholno fermentacijo pri nižji (15 °C) in višji (20 °C) fermentacijski temperaturi. Razvidno je, da so vzorci brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke, torej ob spontani fermentaciji pri obeh fermentacijskih temperaturah sprostili najmanjšo količino CO₂ (med 1,6 in 16,9 g CO₂/L). Pri vseh vzorcih lahko vidimo, da je bila količina sproščenega večja pri višji fermentacijski temperaturi, z izjemo kontrolnega vzorca 1. Če primerjamo oddani CO₂ pri obeh temperaturah, lahko rečemo, da so bile večje razlike med vzorci opažene pri nižji temperaturi. Vzorec 8 s kvasovko Cross Evolution in hranilom Fermaid O je med alkoholno fermentacijo sprostil 13,4 g/L manj CO₂ (39,0 g/L) v primerjavi z vzorcem 6, pridelanim s kvasovko Uvaferm BC in hranilom Fermaid E, ki je oddal največ CO₂ (52,4 g/L). Pri višji temperaturi je bila razlika med najmanjšo količino CO₂, ki jo je sprostil vzorec 11 (52,3 g/L) (Biodiva + Fermaid O), in največjo vsebnostjo (59,0 g/L), ki sta jo tvorila vzorca 4 (Uvaferm BC + Fermaid E) in 9 (Cross evolution + Fermaid O), 6,7 g/L.

4.3 REZULTATI KEMIJSKE ANALIZE JABOLČNEGA VINA

4.3.1 Rezultati vsebnosti titrabilnih kislin

Kislina so pomembne komponente, saj dajejo vinom prijetno svežino. Najpomembnejše organske kisline v vinu so vinska, jabolčna in citronska kislina. V uporabi sta izraza titrabilne in skupne kisline, rezultate katerih bomo predstavili v nadaljevanju. Načeloma je kislin več v soku kot v vinu, zaradi česar se navadno pH vrednost vina poveča. V povprečju vsebujejo vina med 6 in 9 g/L skupnih kislin (Košmerl in Kač, 2009).



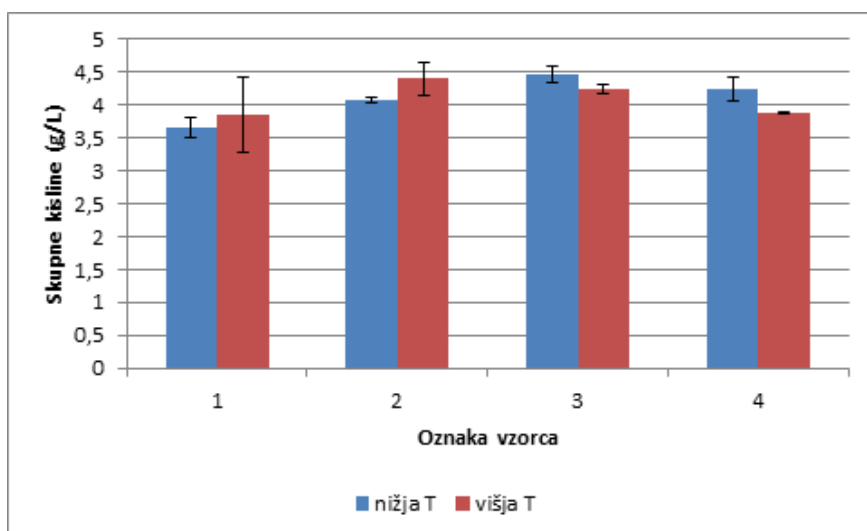
Slika 22a: Rezultati vsebnosti titrabilnih kislin (g vinske kisline/L), prikazani kot povprečje ± standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

Slika 22a prikazuje povprečno končno vsebnost titrabilnih kislin (g vinske kisline/L) v jabolčnem vinu. Vidimo lahko, da sta največ titrabilnih kislin vsebovala dva vzorca, in sicer vzorec pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) s kvasovkami Uvaferm BC in z dodatkom hranil Fermaid E (4,23 ± 0,16 g vinske kisline/L) in vzorec pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) s kvasovkami Cross evolution in z dodatkom hranil Fermaid O (4,27 ± 0,07 g vinske kisline/L). Najmanj titrabilnih kislin pa je vseboval kontrolni vzorec (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke) pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) (3,47 ± 0,12 g vinske kisline/L).

4.3.2 Rezultati vsebnosti skupnih kislin

Najmanjša zahtevana koncentracija skupnih kislin je 3,5 g vinske kisline/L (Košmerl in Kač, 2009). Po naši nacionalni zakonodaji je ta izraz dejansko vezan na vsebnost titrabilnih kislin (končna točka titracije pH 7,0), ki so prikazane v prejšnjem poglavju.



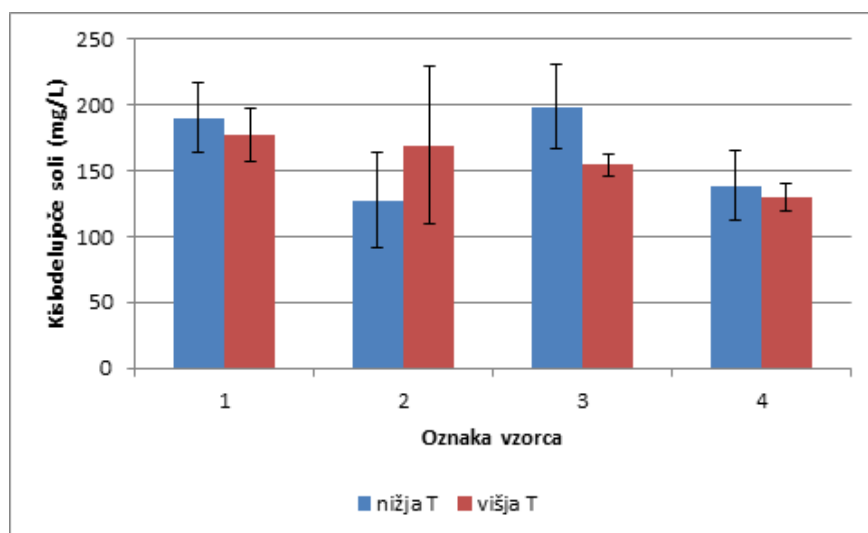
Slika 22b: Rezultati vsebnosti skupnih kislin (g vinske kisline/L), prikazani kot povprečje ± standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

Slika 22b prikazuje povprečno vsebnost skupnih kislin (g vinske kisline/L) v jabolčnem vinu. Kot je razvidno s slike, so imeli vsi naši vzorci koncentracijo skupnih kislin večjo od 3,5 g vinske kisline/L. Največja vsebnost skupnih kislin (prav tako kot že prej titracijskih) je bila pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) v vzorcih z dodatkom Cross Evolution in Fermaid O ($4,47 \pm 0,10$ g vinske kisline/L). Skoraj toliko ($4,40 \pm 0,21$ g vinske kisline/L) skupnih kislin smo izmerili tudi v vzorcih z dodatkom Uvaferm BC in Fermaid E pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C). Najmanjšo vsebnost skupnih kislin (prav tako kot že prej titrabilnih) je vseboval kontrolni vzorec (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke) pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) ($3,66 \pm 0,12$ g vinske kisline/L). Načeloma se med alkoholno fermentacijo lahko tvorijo nove organske kisline, kar je v povezavi s selekcijskimi kriteriji posameznih starterskih kultur kvasovk, uporabljenih tudi v našem poskusu.

4.3.3 Rezultati vsebnosti kislodelujočih soli

Razliko med skupnimi in titrabilnimi kislinami predstavljajo kislodelujoče soli, katerih povprečne vsebnosti v mladih pridelanih jabolčnih vinih smo jih prikazali na Sliki 21.



Slika 23: Rezultati vsebnosti kislodelujočih soli (mg vinske kisline/L), prikazani kot povprečje \pm standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

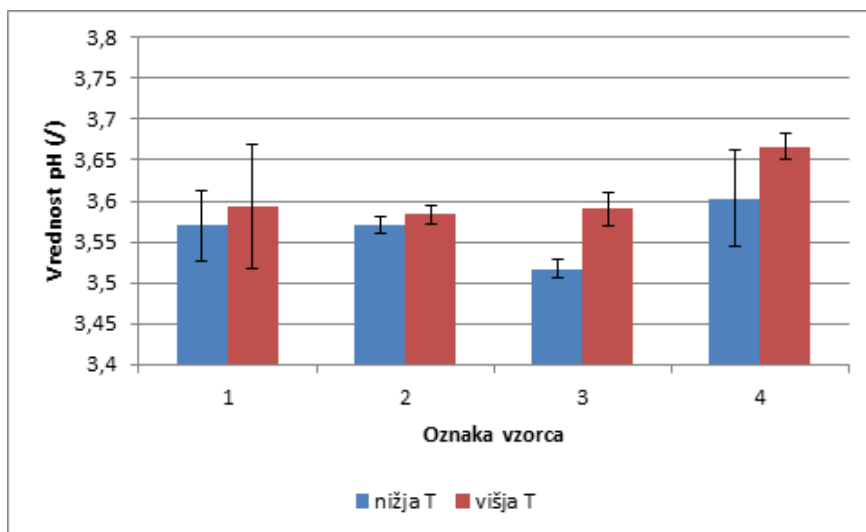
Slika 23 prikazuje povprečno vsebnost kislodelujočih soli (mg vinske kisline/L) v jabolčnem vinu. S slike je razvidno, da je bila vsebnost kislodelujočih soli v vzorcih pri nižji fermentacijski temperaturi večja kot v vzorcih pri višji fermentacijski temperaturi. Izjema je bil vzorec 2 z dodatkom Uvaferm BC in Fermaid E, v katerem je bila vsebnost kislodelujočih soli večja pri višji fermentacijski temperaturi ($167 \pm 64,3$ mg vinske kisline/L) v primerjavi z vzorcem pri nižji temperaturi ($130 \pm 34,64$ mg vinske kisline/L).

4.3.4 Rezultati pH

Običajne vrednosti pH vina so pod 3,6. Praviloma je pH mladega vina višji od pH soka, iz katerega smo vino pridelali (Košmerl in Kač, 2009).

Višji pH pridelanih mladih vin je najpogosteje povezan z zmanjšanjem kislin na račun izločanja vinskega kamna (Košmerl in Kač, 2009). Nižji pH vina nam zagotavlja

mikrobiološko in fizikalno-kemijsko stabilnost vina. V začetnem jabolčnem soku je bila vrednost pH 3,5, po alkoholni fermentaciji pa se je v vseh vzorcih povišala, kar je v skladu s pričakovanji.



Slika 24: Rezultati vrednosti pH, prikazani kot povprečje ± standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

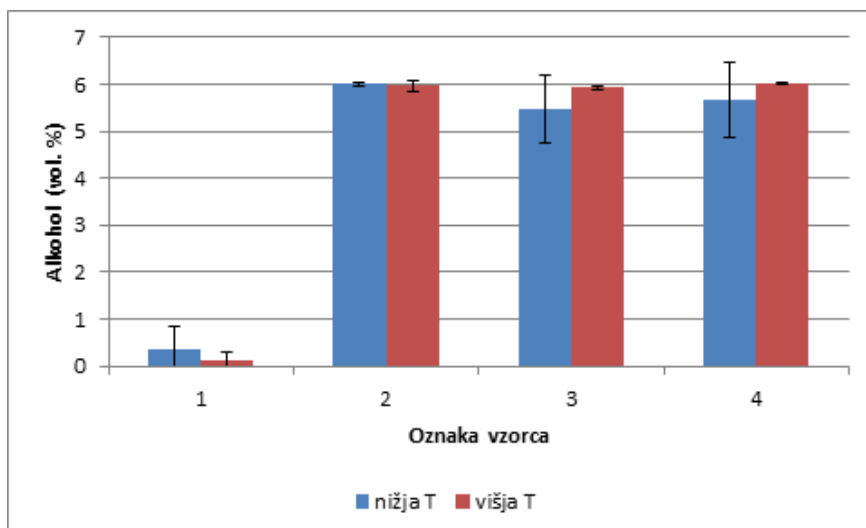
Slika 24 prikazuje povprečno končno vrednost pH v jabolčnem vinu. V povprečju je bil najnižji pH izmerjen pri vzorcu 3 z dodatkom Cross Evolution in Fermaid O ($3,52 \pm 0,01$) in fermentaciji pri nižji fermentacijski temperaturi ($15\text{ }^{\circ}\text{C}$). Najvišji povprečni pH ($3,67 \pm 0,01$) pa je imel vzorec 4 pri višji fermentacijski temperaturi ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$) z dodatkom Biodiva in Fermaid O.

4.3.5 Rezultati vsebnosti alkohola

Po vsebnosti alkohola razdelimo jabolčna vina na (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999):

- lahka (do 10 vol. %),
- srednje težka (10 do 12,5 vol. %) in
- težka (več kot 12,5 vol. %)

Z vsebnostjo alkohola so povezane vrednosti reducirajočih sladkorjev in kislodelujočih kislin. Načeloma velja, da več kot je alkohola, manjša je vsebnost reducirajočih sladkorjev in obratno, saj je etanol glavni produkt alkoholne fermentacije, ki nastane iz glukoze in fruktoze v soku.



Slika 25: Rezultati vsebnosti alkohola (vol. %), prikazani kot povprečje standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

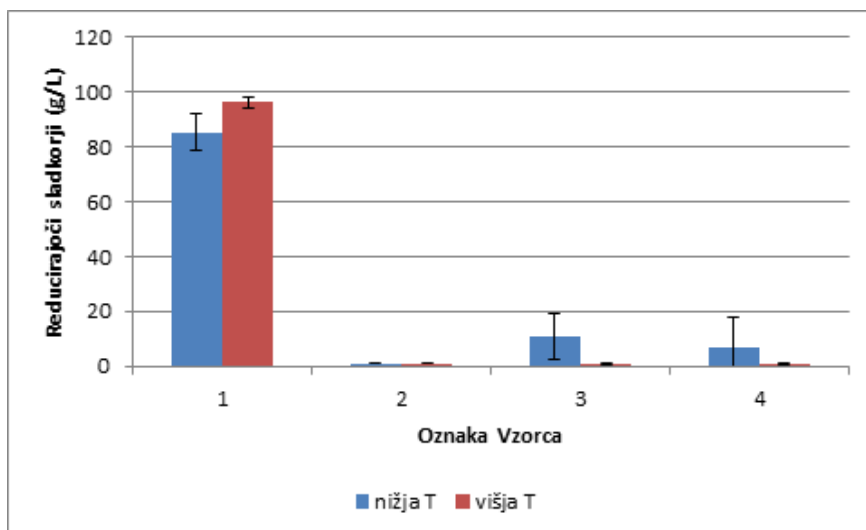
Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

Slika 25 prikazuje povprečno vsebnost alkohola (vol. %) v jabolčnem vinu. Razvidno je, da je v kontrolnih vzorcih (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke), nastalo najmanj alkohola tako pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) ($0,37 \pm 0,38$ vol. %) kot pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) ($0,13 \pm 0,13$ vol. %). Največ alkohola pri nižji fermentacijski temperaturi je nastalo v vzorcu 2 z dodatkom Uvaferm BC in Fermaid E ($6,00 \pm 0,03$ vol. %), pri višji fermentacijski temperaturi pa v vzorcu 4 z dodatkom Biodiva in Fermaid O ($6,02 \pm 0,01$ vol. %).

4.3.6 Rezultati vsebnosti reducirajočih sladkorjev

Popolnoma suha vina vsebujejo približno 1 g reducirajočih sladkorjev/L. Na podlagi reducirajočih sladkorjev razdelimo vina v sladkorne stopnje (Košmerl in Kač, 2010):

- suho vino (koncentracija reducirajočih sladkorjev do 9 g/L)
- polsuho vino (koncentracija reducirajočih sladkorjev do 18 g/L)
- polsladko vino (koncentracija reducirajočih sladkorjev do 45 g/L)
- in sladko vino (koncentracija reducirajočih sladkorjev več kot 45 g/L).



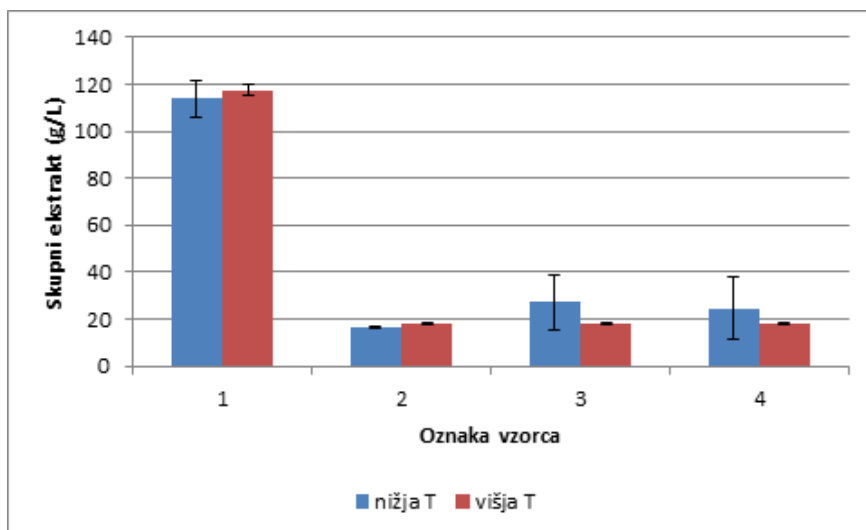
Slika 26: Rezultati vsebnosti reducirajočih sladkorjev (g/L), prikazani kot povprečje ± standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

Slika 26 prikazuje povprečno vsebnost reducirajočih sladkorjev (g/L) v jabolčnem vinu. Razvidno je, da je v kontrolnih vzorcih (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke) ostalo največ reducirajočih sladkorjev ($85,2 \pm 5,5$ g/L in $96,3 \pm 1,5$ g/L), kar je skladno tudi z rezultati najmanjšega volumenskega deleža alkohola (Slika 23). Pri vzorcih, v katere smo dodali kvasovke in hranila za kvasovke, pa je bilo največ reducirajočih sladkorjev izmerjenih v vzorcu 3 s Cross Evolution in Fermaid O ($10,9 \pm 7,0$ g/L). Pri vzorcih, v katere smo dodali kvasovke in hranila za kvasovke, smo v povprečju izmerili najmanjše vsebnosti reducirajočih sladkorjev v vzorcih, fermentiranih pri višji temperaturi (20 °C) z dodatkom Cross Evolution in Fermaid O ($0,9 \pm 0,1$ g/L) ter z dodatkom Biodiva in Fermaid O ($0,9 \pm 0,1$ g/L).

4.3.7 Rezultati vsebnosti skupnega ekstrakta

Skupni suhi ekstrakt vina (krajše skupni ekstrakt) sestavljajo po definiciji O.I.V. pri 100 °C nehlapne komponente vina (sladkorji, fiksne kisline, organske soli, ...) (Košmerl in Kač, 2009).



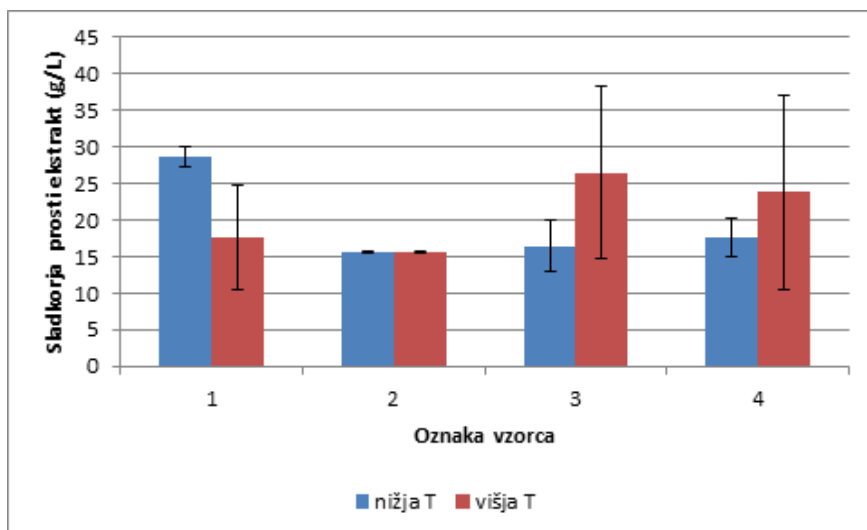
Slika 27a: Rezultati vsebnosti skupnega ekstrakta (g/L), prikazani kot povprečje ± standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

Slika 27a prikazuje povprečno vsebnost skupnega ekstrakta (g/L) v pridelanih jabolčnih vinih. Vidimo lahko, da je vsebnost skupnega ekstrakta največja v kontrolnih vzorcih (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke), in sicer v vzorcu pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) s koncentracijo $117,61 \pm 2,72$ g/L. Prav tako je bila v teh vzorcih tudi največja vsebnost reducirajočih sladkorjev (Slika 24). V preostalih treh vzorcih je bila vsebnost skupnega ekstrakta pri višji temperaturi manjša od kontrolnega vzorca za skoraj 100 g/L. Najmanjša je bila v vzorcu 2 z dodatkom Uvaferm BC in Fermaid E s koncentracijo $18,01 \pm 0,56$ g/L. Pri višji temperaturi je bila med vzorci z dodanimi starterskimi kulturami in hranili največja vsebnost skupnega ekstrakta v vzorcu 3 s kvasovko Cross Evolution + Fermaid O ($27,35 \pm 11,80$ g/L) in najmanjša vsebnost v vzorcu 2 s kvasovko Uvaferm BC + Fermaid E ($16,59 \pm 0,10$ g/L).

4.3.8 Rezultati vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta

Sladkorja prosti ekstrakt je razlika med skupnim suhim ekstraktom in reducirajočimi sladkorji. Vsebnost ekstrakta je pomemben kakovosti parameter, zato so tudi v vinih, pridelanih iz grozdja, zakonsko predpisane minimalne vrednosti (Košmerl in Kač, 2009).



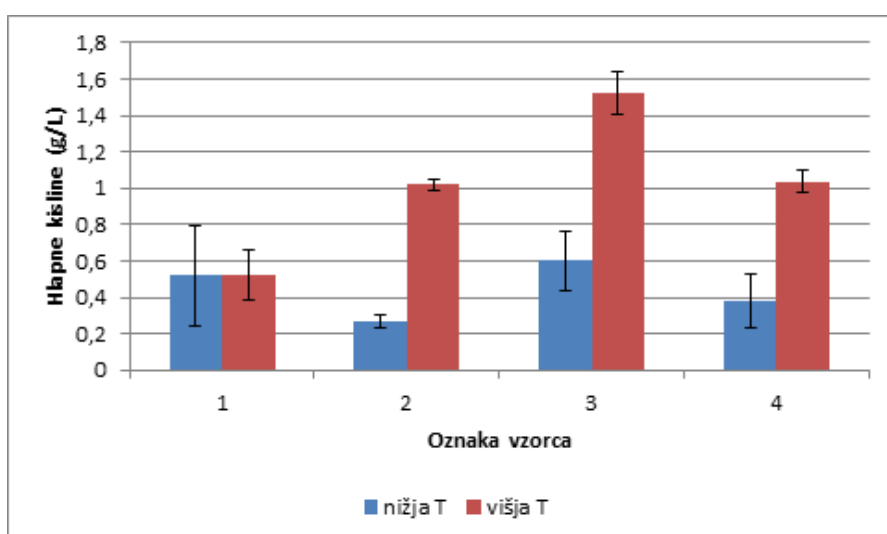
Slika 27b: Rezultati vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta (g/L), prikazani kot povprečje ± standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

Slika 27b prikazuje povprečno vsebnost sladkorja prostega ekstrakta (g/L) v naših pridelanih mladih jabolčnih vinih. Vidimo lahko, da je povprečna vsebnost sladkorja prostega ekstrakta pri obeh fermentacijskih temperaturah (15 °C in 20 °C) največja v kontrolnih vzorcih (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke) ($21,30 \pm 4,57$ g/L oziroma $28,70 \pm 1,38$ g/L). Med obravnavanji, pri katerih smo dodali startetrsko kulturo in hranila, pa so bile v povprečju največje vsebnosti pri obeh temperaturah v vzorcu 4 s kvasovko Biodiva in hranilom Fermaid O (oboje 17,60 g/L).

4.3.9 Rezultati vsebnosti hlapnih kislin

Hlapne kisline so v prevelikih vsebnostih neželena komponenta vina, zato so v vinih, pridelanih iz grozdja vinske trte, določene zgornje meje hlapnih kislin, izraženih kot očetna kislina (Košmerl in Kač, 2009).



Slika 28: Rezultati vsebnosti hlapnih kislin (g očetne kisline/L), prikazani kot povprečje ± standardni odklon v pridelanih jabolčnih vinih

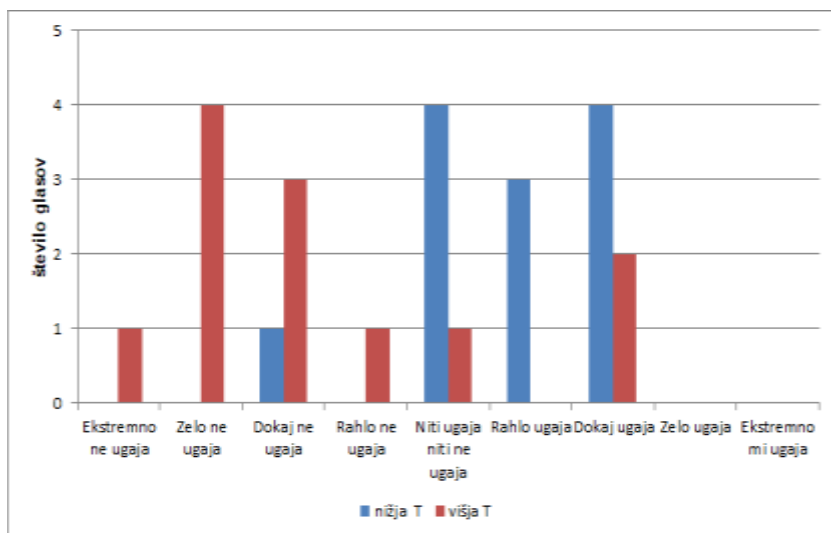
Legenda: 1: kontrola (spontana fermentacija); 2: Uvaferm BC + Fermaid E; 3: Cross Evolution + Fermaid O; 4: Biodiva + Fermaid O

Slika 28 prikazuje povprečno končno vsebnost hlapnih kislin v jabolčnem vinu. V vzorcih, ki smo jim dodali kvasovke in hranila za kvasovke je, pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) nastalo bistveno več hlapnih kislin kot pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C). Pri kontrolnih vzorcih je v povprečju pri spontani fermentaciji nastalo enako hlapnih kislin ($0,52 \pm 0,23$ g/L oz. $0,53 \pm 0,11$ g/L) ne glede na temperaturo fermentacije. Vidimo lahko, da je kvasovka Cross Evolution z dodatkom hranil Fermaid O tvorila največjo vsebnost hlapnih kislin ($1,52 \pm 0,10$ g/L) med vzorci tako pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) kot pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) ($0,60 \pm 0,13$ g/L). Podobno velike koncentracije hlapnih kislin (nad 1 g/L), ki bi lahko bile senzorično zaznavne, so tvorila ostala obravnavanja z dodatkom starterske kulture in hranili na višji temperaturi.

4.4 REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE

4.4.1 Obdelava podatkov hedonskega ocenjevanja

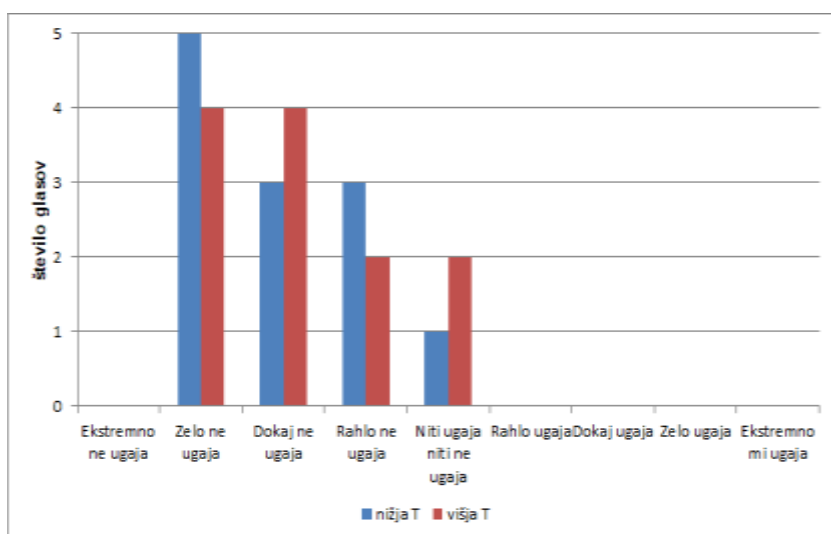
4.4.1.1 Rezultati hedonskega ocenjevanja kontrolnih vzorcev



Slika 29: Rezultati hedonskega ocenjevanja jabolčnega vina brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke (spontana fermentacija)

Slika 29 prikazuje rezultate hedonskega ocenjevanja kontrolnih vzorcev jabolčnega vina (brez dodatka kvasovk in hranil). S slike lahko vidimo, da so vzorci, fermentirani pri nižji fermentacijski temperaturi bolj ugajali poskuševalcem kot pa vzorci višje fermentacijske temperature.

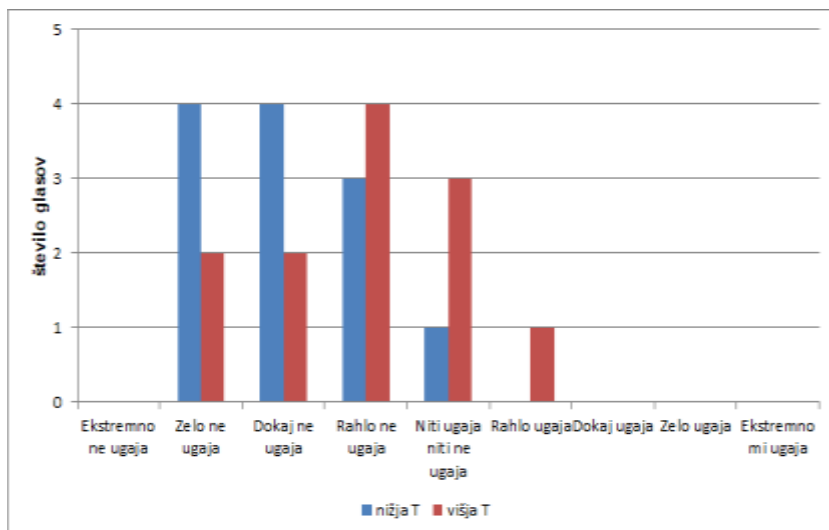
4.4.1.2 Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev z dodatkom Uvaferm BC/Fermaid E



Slika 30: Rezultati hedonskega ocenjevanja jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Uvaferm BC in hranila za kvasovke Fermaid E

Slika 30 prikazuje rezultate hedonskega ocenjevanja vzorcev jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Uvaferm BC in hranil za kvasovke Fermaid E. Vidimo lahko, da so poskuševalci v povprečju bolje ocenili vzorce višje fermentacijske temperature kot pa vzorce nižje fermentacijske temperature.

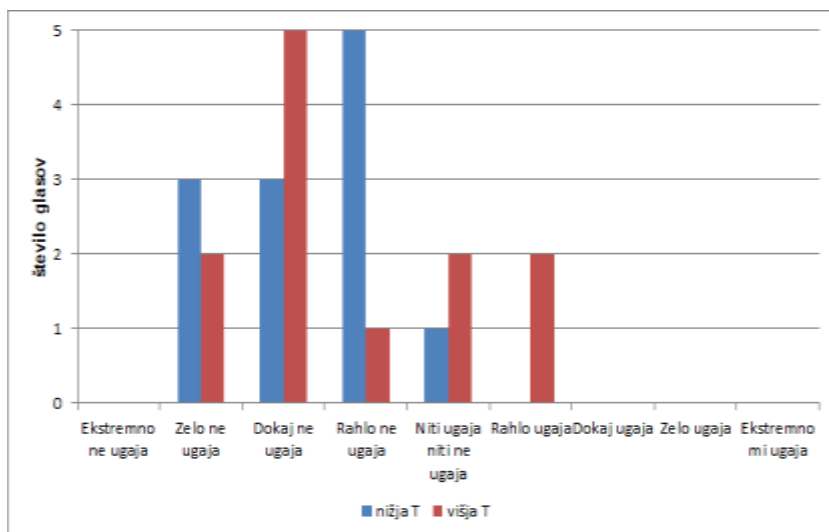
4.4.1.3 Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev z dodatkom Cross Evolution/Fermaid O



Slika 31: Rezultati hedonskega ocenjevanja jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Cross Evolution in hranila za kvasovke Fermaid O

Slika 31 prikazuje rezultate hedonskega ocenjevanja vzorcev jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Cross Evolution in hranil za kvasovke Fermaid O. S slike je razvidno, da so poskuševalcem bolj ugajali vzorci višje fermentacijske temperature kot pa vzorci nižje fermentacijske temperature.

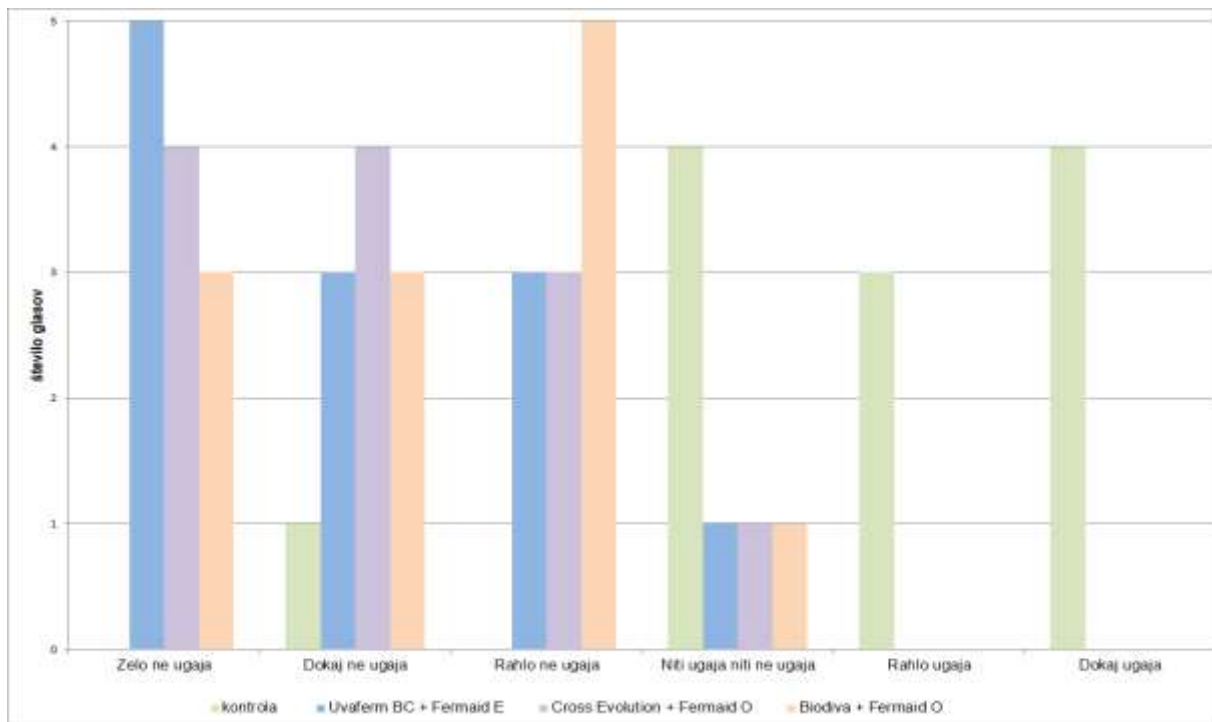
4.4.1.4 Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev z dodatkom Biodiva/Fermaid O



Slika 32: Rezultati hedonskega ocenjevanja jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Biodiva in hranila za kvasovke Fermaid O

Slika 32 prikazuje rezultate hedonskega ocenjevanja vzorcev jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Biodiva in hranil za kvasovke Fermaid O. Vidimo lahko, da sta v povprečju pokuševalcem bila oba vzorca, tako vzorec višje kot nižje fermentacijske temperature, približno enako všečna (rahlo ne ugaja oziroma dokaj ne ugaja, kar je ocenilo največje število ocenjevalcev).

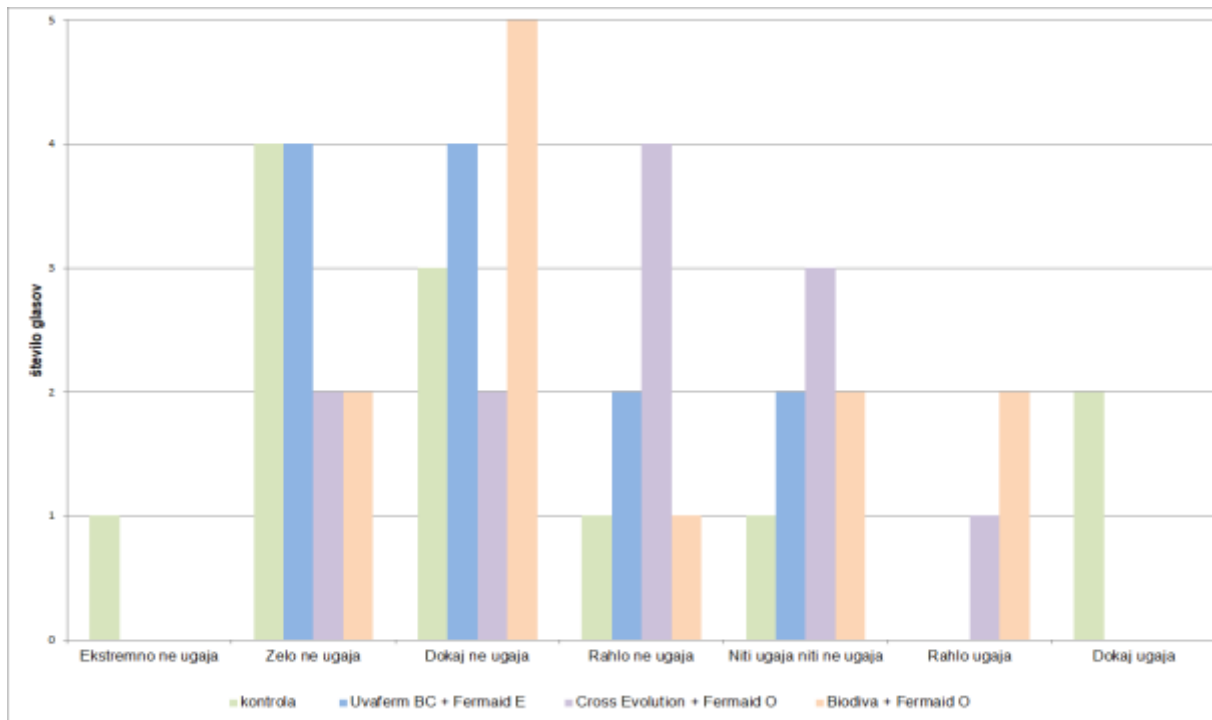
4.4.1.5 Primerjava rezultatov hedonskega ocenjevanja vzorcev pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)



Slika 33: Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)

Slika 33 prikazuje primerjavo rezultatov hedonskega ocenjevanja vzorcev jabolčnega vina, fermentiranih pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C). S slike je razvidno, da je bil pokuševalcem najbolj všeč kontrolni vzorec (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke), najmanj všeč pa vzorec z dodatkom kvasovk Uvaferm BC in hranil za kvasovke Fermaid E.

4.4.1.6 Primerjava rezultatov hedonskega ocenjevanja vzorcev pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)

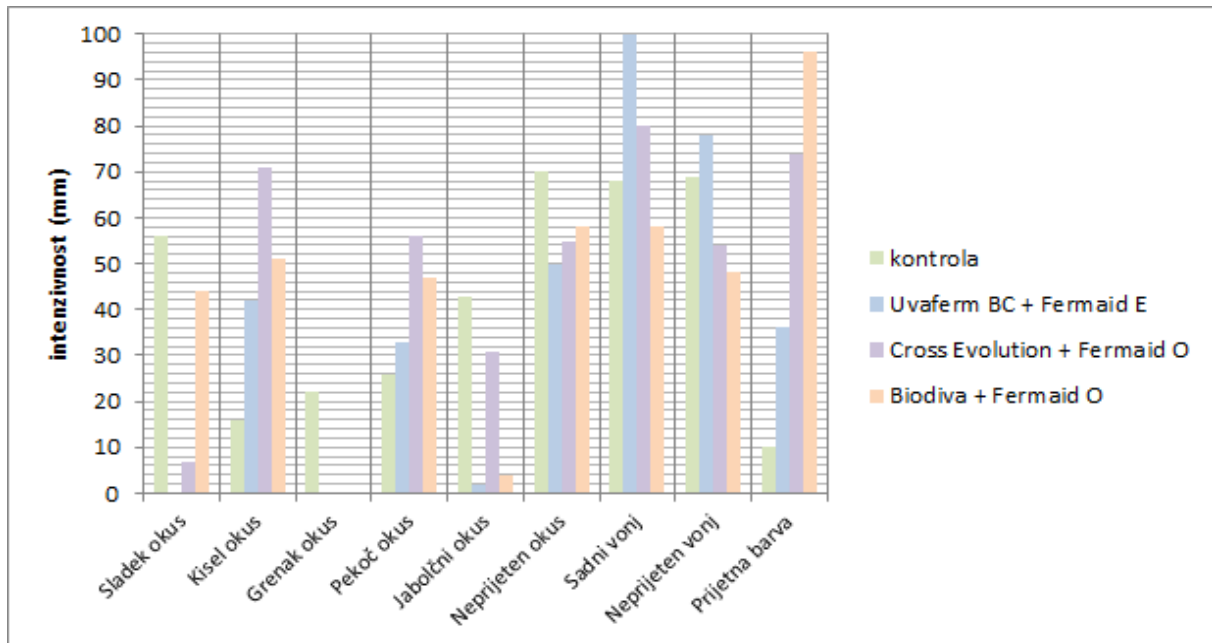


Slika 34: Rezultati hedonskega ocenjevanja vzorcev pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)

Slika 34 prikazuje primerjavo rezultatov hedonskega ocenjevanja vzorcev jabolčnega vina, fermentiranega pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C). S slike je razvidno, da je bil pokuševalcem v povprečju najbolj všeč vzorec z dodatkom kvasovk Cross Evolution in hranil za kvasovke Fermaid O, medtem ko je bil najmanj všečen v povprečju kontrolni vzorec (brez dodatka kvasovk in hranil za kvasovke). Za slednjega je razviden tudi največji razpon ocen od 1 (za enega pokuševalca) do 9 (za dva pokuševalca).

4.4.2 Obdelava podatkov po metodi hitrega profiliranja

4.4.2.1 Najintenzivneje izraženi opisniki za vzorce jabolčnih vin pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)



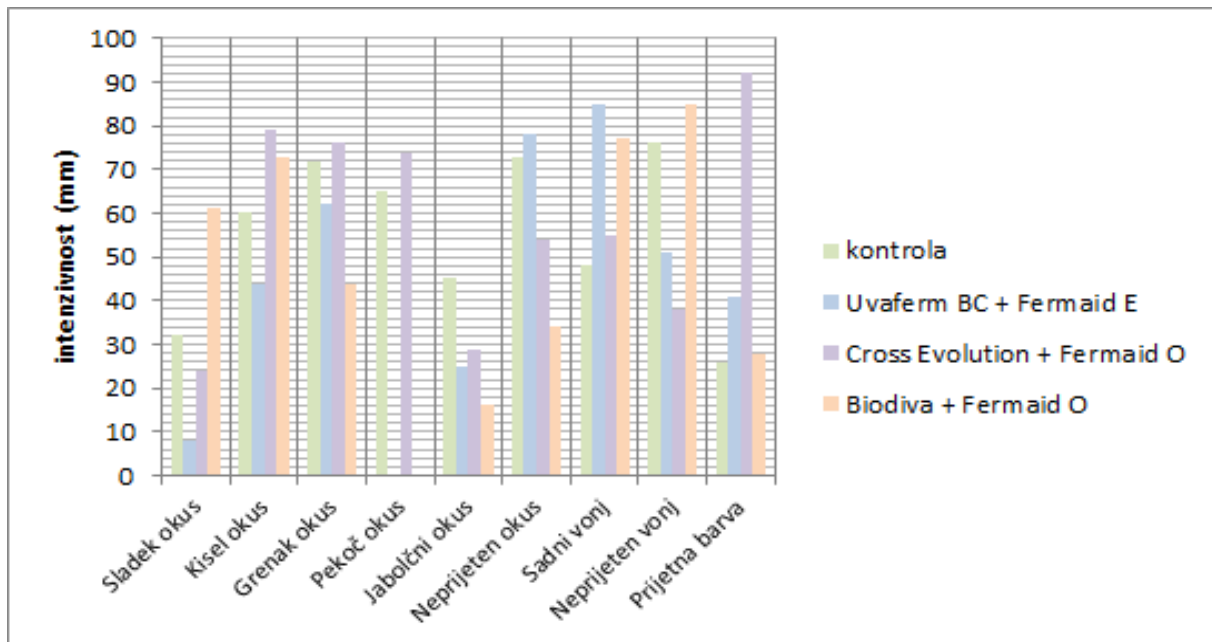
Slika 35: Rezultati ocenjevanja po metodi hitrega profiliranja vzorcev, fermentiranih pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)

Slika 35 prikazuje rezultate senzoričnega ocenjevanja po metodi hitrega profiliranja (flash profiling) vzorcev jabolčnega vina pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C). Iz grafa lahko razberemo, da je imel glede na okus ocenjevalcev najbolj sladek okus kontrolni vzorec jabolčnega vina, najbolj kisel okus vzorec jabolčnega vina z dodatkom vrste kvasovk Cross Evolution in hranil za kvasovke Fermaid O, najbolj grenak okus kontrolni vzorec jabolčnega vina, najbolj pekoč okus vzorec jabolčnega vina z dodatkom vrste kvasovk Cross Evolution in hranil za kvasovke Fermaid O, najbolj jabolčni okus kontrolni vzorec jabolčnega vina in najbolj neprijeten okus kontrolni vzorec.

Glede na vonj ocenjevalcev je imel najbolj sadni vonj vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Uvaferm BC in hranil za kvasovke Fermaid E ter najbolj neprijetni vonj vzorec jabolčnega vina z dodatkom vrste kvasovk Uvaferm BC in hranil za kvasovke Fermaid E.

Najbolj prijetno barvo glede na ocene ocenjevalcev je imel vzorec jabolčnega vina z dodatkom vrste kvasovk Biodiva in hranil za kvasovke Fermaid O.

4.4.2.1 Najintenzivneje izraženi opisniki za vzorce jabolčnih vin, fermentiranih pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)



Slika 36: Rezultati ocenjevanja po metodi hitrega profiliranja vzorcev, fermentiranih pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)

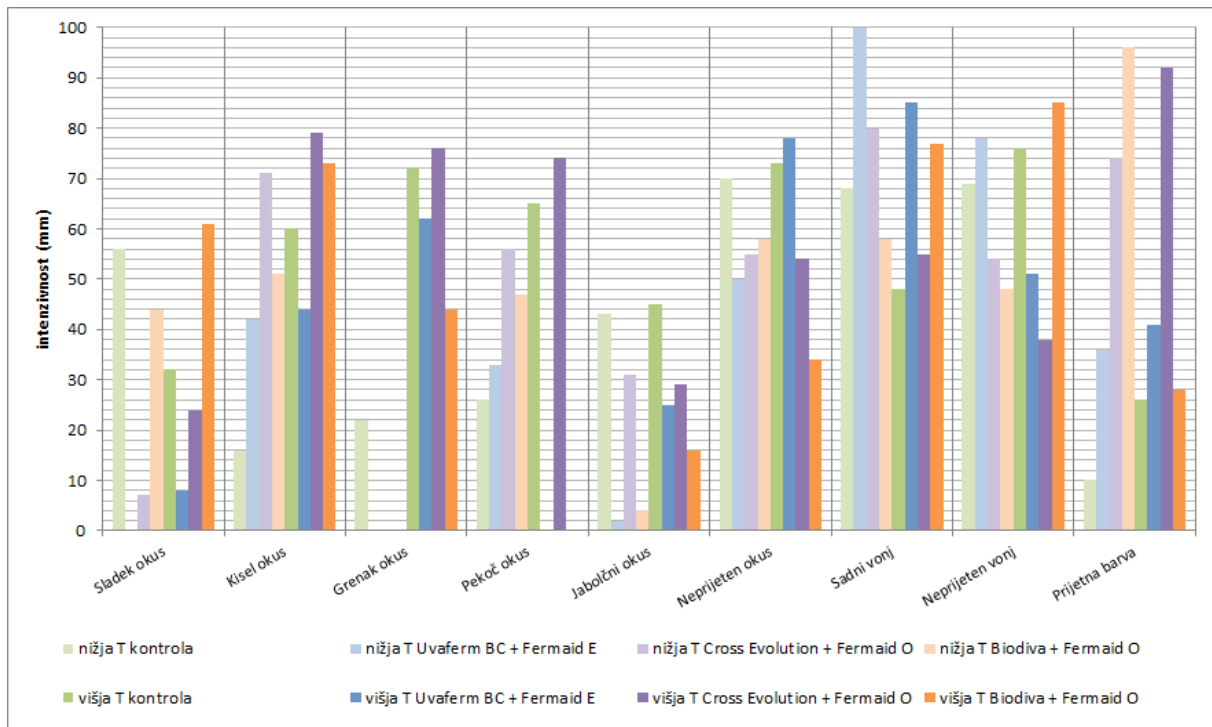
Slika 36 prikazuje rezultate senzoričnega ocenjevanja po metodi hitrega profiliranja (flash profiling) vzorcev jabolčnega vina pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C), pri katerem smo ocenjevalcem ponudili devet opisnikov, za katere so označili njihovo intenzivnost zaznave oziroma prepoznave. S slike je razvidno, da je imel glede na okus ocenjevalcev najbolj sladek okus vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Biodiva in hranil za kvasovke Fermaid O, najbolj kisel okus vzorec jabolčnega vina z dodatkom Cross Evolution in Fermaid O, najbolj grenak okus vzorec jabolčnega vina z Cross Evolution in Fermaid O, najbolj pekoč okus vzorec jabolčnega vina z dodatkom Cross Evolution in Fermaid O, najbolj jabolčni okus kontrolni vzorec jabolčnega vina in najbolj neprijeten okus vzorec jabolčnega vina z dodatkom Uvaferm BC in Fermaid E.

Glede na vonj ocenjevalcev je imel najbolj sadni vonj vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Uvaferm BC in hranil za kvasovke Fermaid E ter najbolj neprijetni vonj vzorec jabolčnega vina z dodatkom Biodiva in Fermaid O.

Najbolj prijetno barvo glede na ocene ocenjevalcev je imel vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Cross Evolution in hranil za kvasovke Fermaid O.

Če povzamemo zgornje opisnike, je bil po metodi hitrega profiliranja po okusu »najslabši« vzorec Cross Evolution+Fermaid O (najbolj kisel, najbolj grenak, najbolj pekoč), vizualno pa prepoznan z najbolj prijetno barvo.

4.4.2.1 Primerjava najintenzivneje izraženih opisnikov za vzorce jabolčnih vin, fermentiranih pri obeh temperaturah



Slika 37: Primerjava rezultatov ocenjevanja po metodi hitrega profiliranja za vzorce jabolčnih vin, pri višji (20 °C) in nižji (15°C) fermentacijski temperaturi

Slika 37 prikazuje primerjavo rezultatov »flash profiliranja« med vzorci jabolčnega vina, fermentiranega pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) in nižji fermentacijski temperaturi (15 °C). S slike lahko razberemo, da so povprečne intenzivnosti sladkega, kislega, grenkega in jabolčnega okusa večje pri vzorcih višje fermentacijske temperature. Pekoč okus je sicer v povprečju intenzivnejši pri nižje fermentacijske temperature, prepoznan pa zgolj v dveh vzorcih (kontrola in Cross Evolution+Fermaid O).

Pri vonju lahko opazimo, da sta si intenzivnosti sadnega in neprijetnega vonja pri obeh fermentacijskih temperaturah v povprečju zelo podobni.

Glede prijetne barve pri vsaki fermentacijski temperaturi, tako pri višji kot tudi pri nižji, izstopa eden od vzorcev. Pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) izstopa vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Cross Evolution in hranil za kvasovke Fermaid O, pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) pa izstopa vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Biodiva in hranil za kvasovke Fermaid O.

Opazimo lahko tudi, da imajo vzorci jabolčnega vina tako pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) kot tudi pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) nekatere lastnosti pri istih vzorcih jabolčnega vina enake. Pri obeh fermentacijskih temperaturah ima najbolj kisel okus vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Cross Evolution in hranil za kvasovke Fermaid O, najbolj pekoč okus vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Cross Evolution in hranil za kvasovke Fermaid O ter najbolj jabolčni okus kontrolni vzorec jabolčnega vina. Prav tako pa je najbolj sadni vonj pri obeh vzorcih jabolčnega vina imel vzorec jabolčnega vina z dodatkom kvasovk Uvaferm BC in hranil za kvasovke Fermaid E.

5 SKLEPI/ ZAKLJUČKI

Na podlagi dobljenih rezultatov pridelave jabolčnega vina z dodatkom različnih kvasovk in hranil za kvasovke lahko oblikujemo naslednje sklepe.

- Ker smo uporabili različne kvasovke in hranila zanje, so se kvasovke različno hitro prilagodile na okolje, kar pomeni, da niso vsi vzorci začeli hkrati fermentirati. Kot smo predvidevali v hipotezah, se je zaradi alkoholne fermentacije oziroma izhajanja CO₂ masa fermentacijskih plastenk s časom zmanjševala.
- Pri vodenih alkoholnih fermentacijah, kjer smo dodali kvasovke in hranila za kvasovke, je bila hitrost oddajanja CO₂ večja v primerjavi s kontrolo, kjer je fermentacija potekala spontano in tudi po 21 dneh trajanja ni potekla do konca. Posledično je bil pričakovan tudi manjši nastanek alkohola in večji preostanek nepovretega sladkorja, kar potrди najino zadnjo hipotezo.
- Potrdili smo pričakovanja, da je alkoholna fermentacija pri višji temperaturi (20 °C) potekala bistveno hitreje v primerjavi z nižjo temperaturo (15 °C), s čimer smo potrdili našo prvo zastavljeno hipotezo, da je višja temperatura primernejša za rast in metabolizem kvasovk.
- V povezavi s kislinskimi parametri smo pričakovano določili višjo vrednost pH pridelanih jabolčnih vin v primerjavi z izhodiščnim pH jabolčnega soka. Titribilne in skupne kisline so se zmanjšale v vseh vzorcih, razen v dveh vzorcih: pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) vzorec z dodatkom Cross Evolution in Fermaid O ter pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C) v vzorcu z dodatkom Uvaferm BC in Fermaid E.
- Pri vseh vzorcih jabolčnega vina je nastal alkohol iz sladkorja, s čimer potrdimo našo tretjo hipotezo. V kontrolnih vzorcih je pričakovano nastalo zelo malo alkohola, in sicer pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C) v povprečju več (0,37 vol. %) kot pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C), ko je nastalo le 0,13 vol. %. V vseh preostalih vzorcih z dodanima startersko kulturo in hranilom za kvasovke je bil delež nastalega alkohola značilno večji. V dveh vzorcih, fermentiranih pri obeh različnih temperaturah, je zanimivo nastala primerljiva koncentracija alkohola (6,0 vol. %), tj. v vzorcu z dodatkom Uvaferm BC in Fermaid E, fermentiranem pri 15 °C, ter v vzorcu z dodatkom Biodiva in Fermaid O, fermentiranem pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C).
- Glede na delitev vin po koncentraciji reducirajočih sladkorjev spadajo pridelana jabolčna vina, z izjemo kontrolnih vzorcev in nekaj posameznih paralelk, med suha vina. Zaradi velikega ostanka reducirajočih sladkorjev spada kontrola med sladka vina.
- Poleg razlik v koncentracijah alkohola in reducirajočih sladkorjih, je bila pričakovana tudi razlika v skupnem in sladkorja prostem ekstraktu (SPE) med vzorci. Na podlagi slednjega parametra so predpisane tudi najmanjše vrednosti, ki uvrščajo vina v tri različne kakovostne razrede. V povprečju so kontrolni vzorci vsebovali največjo koncentracijo SPE (pri nižji fermentacijski temperaturi), vse kontrolne vzorce pa bi lahko ne glede na fermentacijsko temperaturo uvrstili v razred deželnega vina. Ravno obratno pa je bilo pri vseh vzorcih jabolčnih vin, pridelanih z dodanimi kvasovkami, hranili in fermentacijo pri višji temperaturi, ki so vsebovali večjo povprečno vsebnost SPE, po kakovosti pa bi jih uvrstili v razred namiznega vina.

- Kakovostni parameter predstavlja tudi vsebnost hlapnih kislin (do največ 1 g/L), ki je po vrednosti presežena v vzorcih jabolčnih vin s kakršnim koli dodatkom kvasovk in hranil za kvasovke, pridelanih pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C).

6 VIRI

Črnko J. 1990. Naš sadni izbor: najustreznejše sorte za vaš sadovnjak. Ljubljana, Kmečki glas: 17–24.

Golob T., Bertonec J., Doberšek U., Jamnik M. 2005. Senzorična analiza: metode in preskuševalci. *Acta agriculturae Slovenica*, 85, 1: 55–66.

Jakubik U. 2011. Jabolčni sok, mošt, jabolčnik. Ljubljana, Kmečki glas: 4-10, 38–40.

Kogej S. 1996. Mehanski separacijski procesi. V: *Biotehnologija-osnovna znanja*. Raspor P. (ur.). Ljubljana, BIA: 572–590.

Korošec M., Košmerl T. 2014. Opisna senzorična analiza: študijsko gradivo za dodatno izobraževanje pokuševalcev vina: tripartitna ocena arome vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 15 str.

Košmerl T. 2007. Alkoholna fermentacija mošta-izbrana poglavja pri predmetu Tehnologija vin. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1–11.

Košmerl T. 2018. Senzorična analiza vina-Študijsko gradivo za 45-urni Program pokuševalcev mošt, vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina. Ljubljana.

Košmerl T., Kač M. 2007. Osnove kemijske analize mošta in vina-Laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vin. 3. izd., popravljena in dopolnjena. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 24–26, 32–49, 59–62.

Madigan M, Martinko J., 2006. *Brock Biology of Microorganisms*, 11th ed., Prentice Hall.

Moskowitz H. R., Beckley J. H., Resurreccion A. V. A. 2012. *Sensory and consumer research in food product design and development*. 2. izd. Blackwell Publishing: 440str, DOI: 10.1002/9781119945970.

Lallemand Wine 2013-CROSS EVOLUTION®. Dostopno na: <https://catalogapp.lallemandwine.com/uploads/yeasts/docs/33e4f3721057b7cf006f00b16fd146c5e45c476a.pdf> (citirano dne 7. 2. 2020).

Lallemandwine. 2013a. Fermaid E®. Montréal, Lallemandwine: 1 str. <http://www.lallemandwine.com/catalog/products/view/2022>.

Lallemand Wine 2013-Fermaid O™. Dostopno na: <https://www.lallemandwine.com/en/china/products/catalogue/nutrients-protectors/1/fermaid/> (citirano dne 15. 2. 2020).

Liu J., Schou Grønbeck M., Di Monaco R., Giacalone D., Bredie W. L. P. 2016. Performance of Flash profile and Napping with and without training for describing small sensory differences in a model wine. *Food Quality and Preference*, 48: 41–49.

Scott Laboratories, 2008-BIODIVA™ TD291. Dostopno na: <https://scottlaboratories.sharepoint.com/sites/SLIComplianceDocs/Shared%20Documents/Forms/AllItems.aspx?id=%2Fsites%2FSLIComplianceDocs%2FShared%20Documents%2FBiodiva%20TDS%2Epdf&parent=%2Fsites%2FSLIComplianceDocs%2FShared%20Documents&p=true&originalPath=aHR0cHM6Ly9zY290dGxhYm9yYXRvcmlscy5zaGFyZXBvaW50LmNv>

[bS86Yjovcy9TTEIDb21wbGlhbmNIRG9jcy9FZWGNLN0RGSG96cEJxWW82MWlvVloxWUJFZlhob0ZOQTQxdnR3M2RzdDlaY0FnP3J0aW1lPWNONzRGQlhFMTBn](https://scottlaboratories.sharepoint.com/sites/SLIComplianceDocs/Shared%20Documents/Fo%20rms/AllItems.aspx?id=%2Fsites%2FSLIComplianceDocs%2FShared%20Documents%2FBC%20TDS%2Epdf&parent=%2Fsites%2FSLIComplianceDocs%2FShared%20Documents&p=true&originalPath=aHR0cHM6Ly9zY290dGxhYm9yYXRvcmlscy5zaGFyZXBvaW50LmNvbS86Yjovcy9TTEIDb21wbGlhbmNIRG9jcy9FZXoxZjRjbG5uNU1vQmJFX09OczRtSUJFQmZuYjZOLWxJQlIiZHRWVEJ6NmxxP3J0aW1lPW5jdVNpaFhFMTBn) (citirano dne 7. 2. 2020).

Scott Laboratories, 2008-Uvaferm BC.
<https://scottlaboratories.sharepoint.com/sites/SLIComplianceDocs/Shared%20Documents/Fo%20rms/AllItems.aspx?id=%2Fsites%2FSLIComplianceDocs%2FShared%20Documents%2FBC%20TDS%2Epdf&parent=%2Fsites%2FSLIComplianceDocs%2FShared%20Documents&p=true&originalPath=aHR0cHM6Ly9zY290dGxhYm9yYXRvcmlscy5zaGFyZXBvaW50LmNvbS86Yjovcy9TTEIDb21wbGlhbmNIRG9jcy9FZXoxZjRjbG5uNU1vQmJFX09OczRtSUJFQmZuYjZOLWxJQlIiZHRWVEJ6NmxxP3J0aW1lPW5jdVNpaFhFMTBn> (citirano dne 8. 2. 2020).

Vodovnik A., Vodovnik Plevnik T. 2003. Od mošta do kozarca-Pridelava vina in pridelava sadjevca. Maribor, Kmetijsko gozdarski zavod Maribor: 155–172.

Vodovnik A., Vodovnik T., 1999. Nasveti za vinarje. Ljubljana, Kmečki glas: 100–113.

7 PRILOGE

Priloga 1: Rezultati kemijskih analiz sladkorne stopnje jabolčnega soka (v °Oe in °Brix) in izračuna potencialne koncentracije etanola v vinu po alkoholni fermentaciji (vol. %)

MERITVE	Sladkorna stopnja (°Oe)	Sladkorna stopnja (°Brix)	Potencialna koncentracija etanola v vinu (vol.%)
1	44	11,1	6,55
2	44	11,0	6,49
3	44	11,0	6,49
povprečje	44 ± 0,0	11,03 ± 0,05	6,51 ± 0,03

Priloga 2: Rezultati kemijskih analiz titrabilnih in skupnih kislin jabolčnega soka (g vinske kisline/L)

MERITVE	TK ₁ (g vinske kisline/L)	TK ₂ (g vinske kisline/L)
1	4,13	4,32
2	4,14	4,32
3	4,14	4,32
povprečje	4,14 ± 0,0	4,32 ± 0,0

Legenda : TK₁ – titrabilne kisline; TK₂ – skupne kisline

Priloga 3: Rezultati kemijskih analiz pH jabolčnega soka (g vinske kisline/L)

MERITVE	pH
1	3,50
2	3,50
3	3,50
povprečje	3,50 ± 0,0

Priloga 4: Rezultati kemijskih analiz titrabilnih in skupnih kislin, kislodelujočih soli (g vinske kisline/L) in pH jabolčnega vina pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)

VZOREC	TK₁ (g vinske kisline/L)	TK₂ (g vinske kisline/L)	Kislodelujoče soli (mg vinske kisline/L)	pH
1	3,58	3,79	210	3,59
2	3,53	3,69	160	3,52
3	3,30	3,50	200	3,60
Povprečje 1-3	3,47 ± 0,12	3,66 ± 0,12	190 ± 26,45	3,57 ± 0,04
4	3,95	4,12	170	3,58
5	3,96	4,07	110	3,57
6	3,93	4,04	110	3,56
Povprečje 4-6	3,95 ± 0,01	4,08 ± 0,03	130 ± 34,64	3,57 ± 0,01
7	4,24	4,44	200	3,53
8	4,37	4,60	230	3,51
9	4,20	4,37	170	3,51
Povprečje 7-9	4,27 ± 0,07	4,47 ± 0,10	200 ± 30	3,52 ± 0,01
10	4,19	4,35	160	3,56
11	3,92	4,04	120	3,58
12	4,23	4,36	130	3,67
Povprečje 10-12	4,11 ± 0,14	4,25 ± 0,15	137 ± 20,82	3,60 ± 0,05

Legenda : TK₁ – titrabilne kisline; TK₂ – skupne kisline

Priloga 5: Rezultati kemijskih analiz titrabilnih in skupnih kislin, kislodelujočih soli (g vinske kisline/L) in pH jabolčnega vina pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)

VZOREC	TK₁ (g vinske kisline/L)	TK₂ (g vinske kisline/L)	Kislodelujoče soli (mg vinske kisline/L)	pH
1	4,29	4,47	180	3,55
2	3,14	3,33	190	3,68
3	3,60	3,75	150	3,55
Povprečje 1-3	3,68 ± 0,47	3,85 ± 0,47	173 ± 20,8	3,59 ± 0,06
4	4,08	4,20	120	3,59
5	4,45	4,69	240	3,57
6	4,17	4,31	140	3,59
Povprečje 4-6	4,23 ± 0,16	4,40 ± 0,21	167 ± 64,3	3,58 ± 0,01
7	4,02	4,18	160	3,61
8	4,06	4,21	150	3,59
9	4,18	4,33	150	3,57
Povprečje 7-9	4,09 ± 0,07	4,24 ± 0,06	153 ± 5,8	3,59 ± 0,02
10	3,76	3,88	120	3,65
11	3,72	3,87	150	3,68
12	3,76	3,88	120	3,67
Povprečje 10-12	3,75 ± 0,02	3,88 ± 0,0	130 ± 17,3	3,67 ± 0,01

Legenda : TK₁ – titrabilne kisline; TK₂ – skupne kisline

Priloga 6: Rezultati kemijskih analiz koncentracije alkohola (vol. %) in koncentracije skupnega ekstrakta (g/L) jabolčnega vina pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)

VZOREC	RG vina	RG alkoholnega destilata	RG SE	Koncentracija alkohola (vol. %)	Koncentracija skupnega ekstrakta (g/L)
1	1,03914	0,99864	1,04050	0,90	104,85
2	1,04641	1,00002	1,04639	0,02	120,11
3	1,04476	0,99969	1,04507	0,20	116,69
Povprečje 1-3	1,0434 ± 0,0038	0,9995 ± 0,0007	1,0440 ± 0,0031	0,37 ± 0,38	113,88 ± 8,01
4	0,99794	0,99151	1,00643	5,99	16,58
5	0,99794	0,99154	1,00640	5,97	16,50
6	0,99793	0,99145	1,00648	6,04	16,71
Povprečje 4-6	0,9979 ± 0,0000	0,9915 ± 0,0000	1,0064 ± 0,0000	6,00 ± 0,03	16,59 ± 0,10
7	1,00099	0,99193	1,00906	5,68	23,39
8	1,00900	0,99329	1,01571	4,66	40,62
9	0,99843	0,99144	1,00699	6,05	18,03
Povprečje 7-9	1,0028 ± 0,0055	0,9922 ± 0,0010	1,0106 ± 0,0046	5,46 ± 0,59	27,35 ± 11,80
10	1,00860	0,99315	1,01545	4,76	39,95
11	0,99790	0,99136	1,00654	6,11	16,86
12	0,99797	0,99133	1,00664	6,13	17,12
Povprečje 10-12	1,0015 ± 0,0062	0,9919 ± 0,0010	1,0095 ± 0,0051	5,67 ± 0,64	24,64 ± 13,25

Legenda : RG – relativna gostota; SE – skupni ekstrakt

Priloga 7: Rezultati kemijskih analiz koncentracije alkohola (vol. %) in koncentracije skupnega ekstrakta (g/L) jabolčnega vina pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)

VZOREC	RG vina	RG alkoholnega destilata	RG SE	Koncentracija alkohola (vol. %)	Koncentracija skupnega ekstrakta (g/L)
1	1,04555	0,99999	1,04556	0,01	117,96
2	1,04384	0,99953	1,04431	0,31	114,72
3	1,04646	1,00006	1,04640	0,06	120,14
Povprečje 1-3	1,0453 ± 0,0013	0,9999 ± 0,0003	1,0454 ± 0,0011	0,13 ± 0,13	117,61 ± 2,72
4	0,99861	0,99172	1,00689	5,84	17,77
5	0,99870	0,99147	1,00723	6,02	18,65
6	0,99827	0,99144	1,00683	6,05	17,61
Povprečje 4-6	0,9985 ± 0,0002	0,9915 ± 0,0002	1,0070 ± 0,0002	5,97 ± 0,09	18,01 ± 0,56
7	0,99830	0,99152	1,00678	5,98	17,48
8	0,99873	0,99161	1,00712	5,93	18,36
9	0,99886	0,99164	1,00722	5,90	18,62
Povprečje 7-9	0,9986 ± 0,0003	0,9916 ± 0,0001	1,0070 ± 0,0002	5,94 ± 0,03	18,16 ± 0,60
10	0,99853	0,99149	1,00704	6,01	18,16
11	0,99873	0,99145	1,00728	6,04	18,78
12	0,99859	0,99148	1,00711	6,02	18,34
Povprečje 10-12	0,9986 ± 0,0001	0,9915 ± 0,0000	1,0071 ± 0,0001	6,02 ± 0,01	18,43 ± 0,32

Legenda : RG – relativna gostota; SE – skupni ekstrakt

Priloga 8: Rezultati kemijskih analiz reducirajočih sladkorjev (g/L), koncentracije sladkorja prostega ekstrakta (g/L) in hlapnih kislin (g očetne kisline /L) jabolčnega vina pri nižji fermentacijski temperaturi (15 °C)

VZOREC	Reducirajoči sladkorji (g/L)	Koncentracija sladkorja prostega ekstrakta (g/L)	Hlapne kisline (g očetne kisline/L)
1	77,5	27,35	0,58
2	90,0	30,11	0,77
3	88,0	28,69	0,22
Povprečje 1-3	85,2 ± 5,5	28,72 ± 1,38	0,52 ± 0,23
4	0,9	15,68	0,30
5	1,1	15,4	0,22
6	1,2	15,51	0,28
Povprečje 4-6	1,1 ± 0,1	15,53 ± 0,14	0,27 ± 0,03
7	9,4	13,99	0,74
8	20,1	20,52	0,64
9	3,2	14,83	0,43
Povprečje 7-9	10,9 ± 7,0	16,45 ± 3,55	0,60 ± 0,13
10	19,3	20,65	0,55
11	1,1	15,76	0,28
12	0,8	16,32	0,32
Povprečje 10-12	7,1 ± 8,7	17,57 ± 2,68	0,38 ± 0,12

Priloga 9: Rezultati kemijskih analiz reducirajočih sladkorjev (g/L), koncentracije sladkorja prostega ekstrakta (g/L) in hlapnih kislin (g očetne kisline /L) jabolčnega vina pri višji fermentacijski temperaturi (20 °C)

VZOREC	Reducirajoči sladkorji (g/L)	Koncentracija sladkorja prostega ekstrakta (g/L)	Hlapne kisline (g očetne kisline/L)
1	95,5	22,46	0,48
2	98,5	16,22	0,68
3	95,0	25,14	0,42
Povprečje 1-3	96,3 ± 1,5	21,27 ± 4,58	0,53 ± 0,11
4	1,0	16,77	1,02
5	1,0	17,65	1,05
6	1,0	16,61	0,99
Povprečje 4-6	1,0 ± 0	17,01 ± 0,56	1,02 ± 0,02
7	0,95	16,53	1,57
8	0,90	17,46	1,61
9	0,70	17,92	1,39
Povprečje 7-9	0,9 ± 0,1	17,30 ± 0,71	1,52 ± 0,10
10	0,9	17,26	0,98
11	0,7	18,08	1,03
12	1,0	17,34	1,10
Povprečje 10-12	0,9 ± 0,1	17,56 ± 0,45	1,04 ± 0,05

Priloga 10: Senzorični obrazec za Hedonsko metodo ocenjevanja

Priimek in ime: _____ Oznaka preskuševalca: _____

Ocenjevanje všečnosti z 9-točkovno hedonsko lestvico

387

ekstremno ne ugaja	zelo ne ugaja	dokaj ne ugaja	rahlo ne ugaja	niti ugaja niti ne ugaja	rahlo ugaja	dokaj ugaja	zelo ugaja	ekstremno ugaja
-----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------	----------------	---------------	--------------------

651

ekstremno ne ugaja	zelo ne ugaja	dokaj ne ugaja	rahlo ne ugaja	niti ugaja niti ne ugaja	rahlo ugaja	dokaj ugaja	zelo ugaja	ekstremno ugaja
-----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------	----------------	---------------	--------------------

431

ekstremno ne ugaja	zelo ne ugaja	dokaj ne ugaja	rahlo ne ugaja	niti ugaja niti ne ugaja	rahlo ugaja	dokaj ugaja	zelo ugaja	ekstremno ugaja
-----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------	----------------	---------------	--------------------

762

ekstremno ne ugaja	zelo ne ugaja	dokaj ne ugaja	rahlo ne ugaja	niti ugaja niti ne ugaja	rahlo ugaja	dokaj ugaja	zelo ugaja	ekstremno ugaja
-----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------	----------------	---------------	--------------------

542

ekstremno ne ugaja	zelo ne ugaja	dokaj ne ugaja	rahlo ne ugaja	niti ugaja niti ne ugaja	rahlo ugaja	dokaj ugaja	zelo ugaja	ekstremno ugaja
-----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------	----------------	---------------	--------------------

936

ekstremno ne ugaja	zelo ne ugaja	dokaj ne ugaja	rahlo ne ugaja	niti ugaja niti ne ugaja	rahlo ugaja	dokaj ugaja	zelo ugaja	ekstremno ugaja
-----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------	----------------	---------------	--------------------

896

ekstremno ne ugaja	zelo ne ugaja	dokaj ne ugaja	rahlo ne ugaja	niti ugaja niti ne ugaja	rahlo ugaja	dokaj ugaja	zelo ugaja	ekstremno ugaja
-----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------	----------------	---------------	--------------------

315

ekstremno ne ugaja	zelo ne ugaja	dokaj ne ugaja	rahlo ne ugaja	niti ugaja niti ne ugaja	rahlo ugaja	dokaj ugaja	zelo ugaja	ekstremno ugaja
-----------------------	---------------------	----------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------	----------------	---------------	--------------------

Priloga 11: Senzorični obrazec za metoda hitrega profiliranja (Flash profiling)

	387	651	431	762	542	936	896	315
	Najmanj				Največ			
Sladek okus	<hr/>							
Kisel okus	<hr/>							
Grenak okus	<hr/>							
Pekoč okus	<hr/>							
Jabolčni okus	<hr/>							
Neprijeten okus	<hr/>							
Sadni vonj	<hr/>							
Neprijeten vonj	<hr/>							
Prijetna barva	<hr/>							