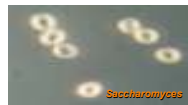


Napake vina

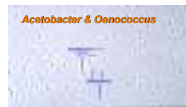
- porjavitev (rjavi lom)
- počrnitev (črni lom)
- pobelitev (beli ali sivi lom)
- bakrena motnost (bakreni lom)
- beljakovinska motnost
- vodikov sulfid (H_2S , žveplec, bekser, žveplovodik)
- usedlina (vinski kamen, tanini, barvila)
- tuji vonji in okusi: po pecljevini, drozgi ali tropinah; po plesnobi, pluti, zamašku; po lesu in sodu; po zraku (oksidacijski priokus); po zmrzali; po kovinah; po dimu; po jodoformu ali zdravilih; po filtru

Bolezni vina

- Kvasovke
- vrsta *Saccharomyces cerevisiae* = naknadna fermentacija (zavrelca)
- rod *Bretanomyces* = hlapni fenoli
- Oksidativne kvasovke = kan (bersa ali vinski cvet)
- Očetno-kislinske bakterije
- očetni cik
- *Gluconobacter oxydans* sladkorji
- *Acetobacter aceti* etanol
- *Acetobacter pasteurianus* etanol



Saccharomyces



Acetobacter & Oenococcus

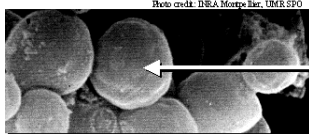


Photo credit: INRA, Morpo Bar, UMR SPO

Living yeast in a good physiological state: large yeast cells with a smooth-looking surface

Dead yeast after being put under a high degree of stress: cells that have lost their content with a wrinkled appearance

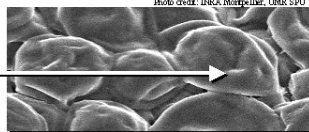
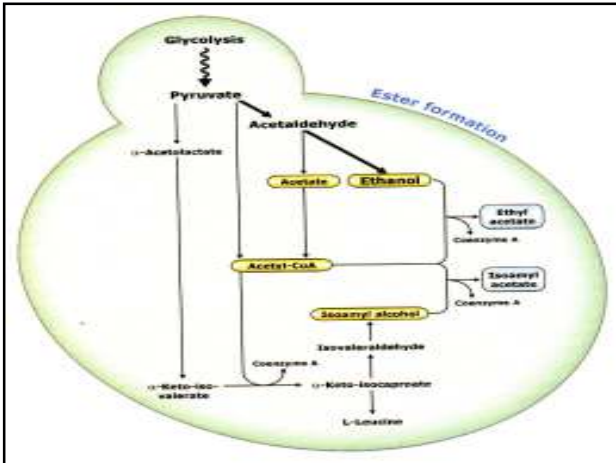


Photo credit: INRA, Montpellier, UMR SPO

Vir: Delteil, 2000

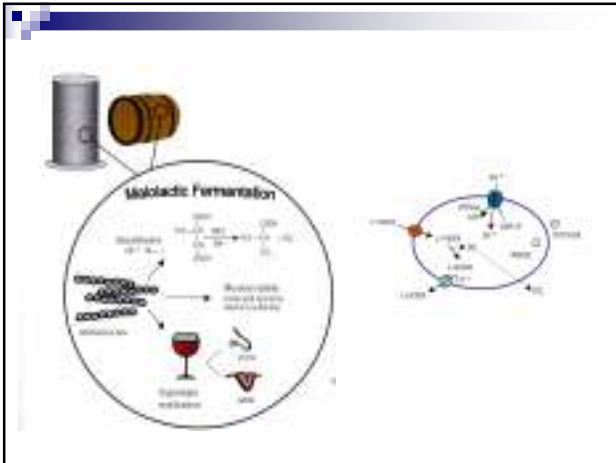


Kvasovke-kvarljivke

ROD / VRSTA	KVAR
<i>Brettanomyces intermedius</i> (<i>Dekkera intermedia</i>)	Hlapni fenoli Miševina Ocetna kislina
<i>Candida</i> (vini, <i>stellata</i> , <i>pulcherrima</i> , <i>krusei</i>)	Film na površini (kan) Acetaldehid (oksidacija etanola) Hlapne kisline in acetatni estri
<i>Hanseniaspora uvarum</i> (<i>Kloeckera apiculata</i>)	Ocetna kislina in njeni estri Killer toksin
<i>Hansenula anomala</i> (sedaj <i>Pichia anomala</i>)	Ocetna kislina Ester ton Etilacetat, izoamil acetat in metilbutil acetat Film na površini (kan)
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Film na površini (kan) Etilacetat in acetaldehid
<i>Pichia</i> (<i>farinosa</i> , <i>membranaefaciens</i> , vini)	Bela prevleka na površini Acetaldehid
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Refermentacija
<i>Saccharomycodes ludwigii</i>	Acetaldehid Flokulacija v kepar – tvorba sluzavih snovi
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Refermentacija stekleničenega vina Razkis
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Sekundarna fermentacija vin z veliko CO ₂ Motnost in usedlina Ocetna kislina in acetatni estri

Mlečnokislinske bakterije

- **pozitivna vloga** v primeru zelene jabolčno-mlečno-kislinske fermentacije (biološkega razkisa)
- **kvarljivci** v primeru nežveplanja drozge, mošta ali vina pri višjih temperaturah, nizkih kislinah in visokem pH:
 - 1) vlečljivost vina
 - 2) mlečnokislinski ton in mlečni cik
 - 3) manitni cik
 - 4) razgradnja vinske kisline
 - 5) miševina
 - 6) maslenokislinski cik
 - 7) akroleinski cik ali grenkoba rdečih vin



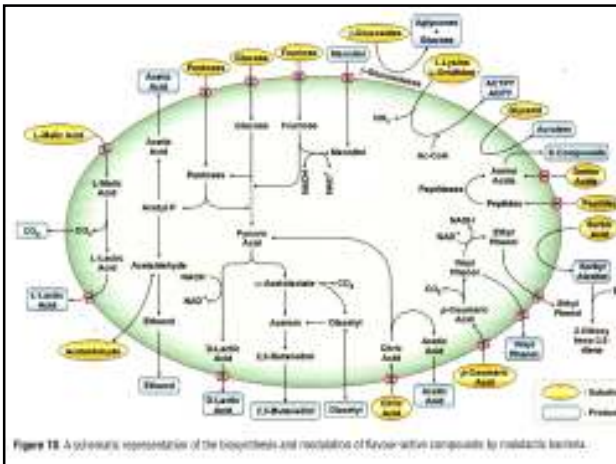


Figure 18 A schematic representation of the biosynthesis and metabolism of flavor-active compounds by lactic acid bacteria.

Neželen biološki razkis	Želen biološki razkis
hlapne kisline	zmanjšanje kislosti
preveč diacetila	tvorba etilaktata in diacetila
neželene arome	povečanje sortnosti
izguba sortnosti	zaokroženje okusa, povečanje polnosti
izguba barve (zmanjšanje intenzivnosti)	zmanjšanje trpkosti
etilkarbamati	zmanjšanje grenkobe
biogeni amini	povečanje kompleksnosti
geranije	zmanjšanje skupnega SO ₂

pozitivne	negativne
maslo (5-14 mg/L)	karamel
lešniki (2-4 mg/L)	po zemlji
kvasovke	toast
med	bogatejše "telo" – polnost
vanilija	zaokroženost okusa
novo usnje	svilnati tanini
začimbe	dolg pookus
sadjje	miševina

spojina	senzoričen opis	prag prepoznave	povprečna koncentracija v "normalnem" vinih
putrescin	gnil, smrdč, pokvarjen	100 mg/L	10 mg/L
kadaverin	prezrelo meso, kadaver	100 mg/L	5 mg/L
diacetil	maslo	30 mg/L	7-10 mg/L
etilfenol	konjski znoj	1 mg/L	0,15 mg/L
etilgvajakol	zažgana guma	1 mg/L	0,1 mg/L
acetaldehid	zeleno jabolko	50 mg/L	40 mg/L
etilaktat	mlečna nota	25 mg/L	15 mg/L
4-hidropiridin	miševina	???	0,05 mg/L
etoksiheksadien	geranije, pelargonije	0,01 mg/L	0



Vrsta LAB

Lactobacillus plantarum
Leuconostoc mesenteroides
Lactobacillus casei
Lactobacillus brevis
Pediococcus damnosus
Pediococcus pentosaceus
Oenococcus oeni (prej *Leuc. oenos*)

metabolizem

homo
hetero
homo
hetero
homo
homo
hetero



Mlečnokislinske bakterije-kvarljivke

ROD / VRSTA	KVAR
<i>Lactobacillus brevis</i>	Tvorba prekurzorjev etilkarbamata Poraba vinske kisline Razkis vina ob tvorbi očetne in mlečne kisline Tvorba manitola iz fruktoze Mševina
<i>Lactobacillus (cellulosus, hilgardii)</i>	Mševina iz tetrahidropiridinov Grenkoba (razgradnja glicerola)
<i>Lactobacillus (kunzei)</i>	Tvorba očetne kisline (pri zaustavitvi alkoholne fermentacije)
<i>Lactobacillus (plantarum)</i>	Razgradnja vinske kisline Tvorba diacetila
<i>Lactobacillus (trichodes)</i>	Flokulativna rast
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Vlečljivost Grenkoba (razgradnja glicerola)
<i>Oenococcus oeni</i>	Razgradnja arginina ob tvorbi prekurzorjev etilkarbamata Tvorba histamina Združena z zaustavitvijo alkoholne fermentacije Tvorba diacetila
<i>Pediococcus damnosus</i>	Tvorba histamina
<i>Pediococcus parvulus</i>	Tvorba polisaharidov
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Tvorba akroleina iz glicerola - grenkoba Tvorba polisaharidov - povečanje viskoznosti

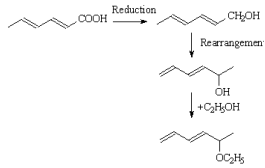
Biogeni amini in odgovarjajoče aminokisliline

(Ribereau-Gayon in sod., 2000)

AMINOKISLINA		BIOGENI AMIN
		spermidin
		↑
arginin	agmatin →	putrescin
		↓
		spermin
cistein		merkaptetilamin
histidin		histamin
fenilalanin		feniletilamin
serin		etanolamin
ornitin	← arginin ↓ citrulin	putrescin
5-hidroksitriptofan		serotonin
lizin		kadaverin
tirozin		tiramin

Predpisana je največja koncentracija histamina v vinu, ki ne sme presežati **2 mg/L**; vseh biogenih aminov skupaj kot histamin pa **10 mg/L**.

Geranije



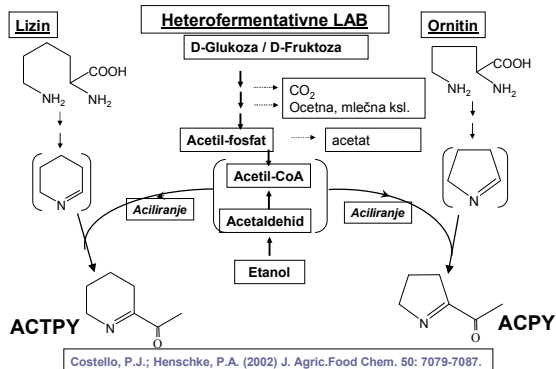
- metabolizem sorbinske kisline (redukcija do sorbitola)
- izomerizacija sorbitola v 3,5-heksadien-2-ol
- reakcija z etanolom ob tvorbi 2-etoksi-heksa-3,5-dien
- senzoričen prag zaznave = 0,1 µg/L ali 100 mg/L (vonj spominja na geranije ali pelargonije)

Miševina



- heterofermentativne LAB rodu *Lactobacillus* in kvasovke rodu *Brettanomyces* tvorijo metabolite (derivate amino kisline lizin, v manjšem obsegu pa tudi iz ornitina)
- odgovorne spojine = N-heterociklična baza
- 2-etiltetrahidropiridin: prag vonja v vinu = 150 ng/L
2,7 – 18,7 µg/L
- 2-aciltetrahidropiridin: prag okusa v vodi = 1,6 µg/L
4,8 - 106 µg/L
- 2-acetil-1-pirolin: prag okusa v vodi = 0,1 µg/L
sledovi – 7,8 µg/L
-

Možna pot tvorbe 2-aciltetrahidropiridina (ACTPY) in 2-acetil-1-pirolina (ACPY) pri metabolizmu *Lactobacillus hilgardii* DSM 20176



Costello, P.J.; Henschke, P.A. (2002) J. Agric.Food Chem. 50: 7079-7087.

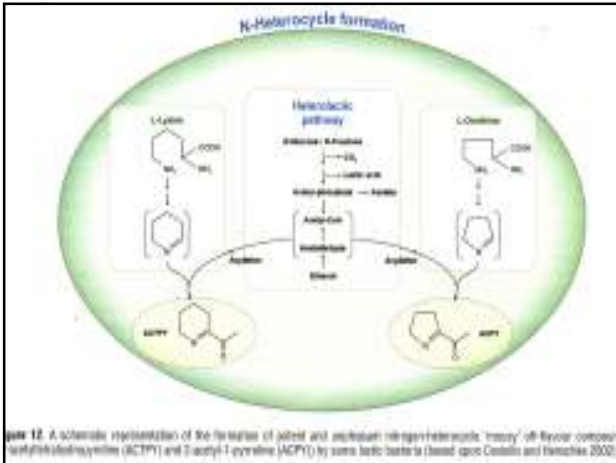
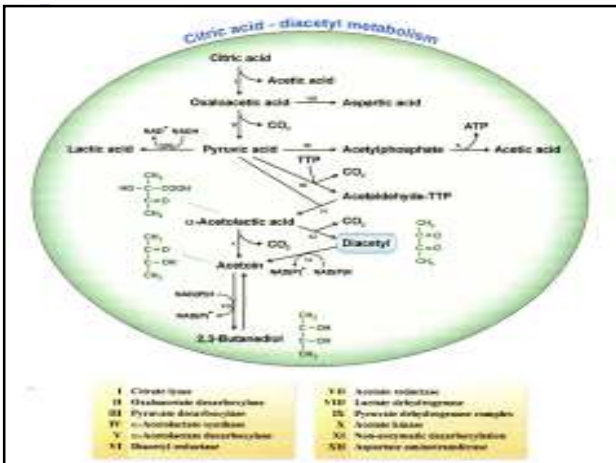


Figure 12. A schematic representation of the formation of parent and acylated nitrogen heterocyclic "flavor" off-flavor compounds Acetylserine, Acetylhomoserine (ACTH) and Acetyltryptophan (ACTP) by some lactic bacteria (based upon Costello and Henschke 2002)

Diacetil

- je metabolni produkt kvasovk in bakterij, ki porabljajo citronsko kislino (te je v vinu največ do 0,5 g/L);
- kvasovke tvorijo običajno med 0,2-0,3 mg diacetila/L, manj ga tvorijo rod *Oenococcus*, bistveno več pa rodova *Lactobacillus* in *Pediococcus*;
- če je diacetila v vinu do 1 mg/L, to še ni alarmantno, pri koncentracijah **nad 5 mg/L** pa je vino defektno.
- Preprečevanje: žveplanje!
- prepozno žveplanje sicer trenutno zmanjša za 30-60 % vsebnosti diacetila, ki pa se žal po več tednih skladiščenja ponovno pojavi.



- | | |
|--------------------------------|----------------------------------|
| I Citric kislina | VII Acetilselena |
| II Oksaloacetat dikarboksilat | VIII Laktat dihidrogenat |
| III Piruvat dikarboksilat | IX Piruvat dihidrogenat kompleks |
| IV α-ketoglutarat | X Acetilselena |
| V α-ketoglutarat dikarboksilat | XI Non-ocetonski dikarboksilat |
| XII Diacetil | XII Anaplerična kislina |

Hlapni fenoli

kvasovke *Brettanomyces / Dekkera*



- kot glavni vir ogljika jim hrano predstavlja glukoza (tudi pri 100 mg/L), etanol in etilacetat, kot vir dušika pa amino kislina D-prolin;
- vrsti *Brettanomyces intermedius* in *Brettanomyces anomalous* tvorita značilne koncentracije hlapnih fenolov:
 - 4-etil gvajakol iz ferulne kisline 500 ng/L
 - 4-etil fenol iz p-kumarne kisline (senzorični marker) 4 ng/L
 - izovalerijanska kislina: vonj in okus po žarkem 1,2 mg/L
- najobičajnejši senzorični deskriptorji hlapnih fenolov: po jabolčniku, po klinčkih, po dimu, po zdravlilih, po konjih, po mokri, vlažni ali mokri volni, po praženih zrnih



- 4-vinil fenol = medicinska razkužila
 - 4-vinil gvajakol = po dimu, začimbah, gobah
 - 4-etil fenol = po konjskem znoju ali kurjih iztrebkih
 - 4-etil gvajakol = po dimu, popru, gobah
- 4-ethyl-guaiacol**

4-ethylphenol
- senzoričen prag zaznave za 4-etil-fenol = 620 µg/L ali 0,62 mg/L
 - senzoričen prag zaznave za vse etil-fenole = 430 µg/L ali 0,43 mg/L

Razmerje med glavnima hlapnima etil fenoloma = 3:1 do 40:1



Ostale bakterije-kvarljivke

ROD / VRSTA OCETNOKISLINSKIH BAKTERIJ	KVAR
<i>Acetobacter aceti</i> <i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Gluconobacter oxydans</i>	Oksidacija etanola v acetaldehid in ocetno kislino Tvorba etilacetata Tvorba acetoina iz mlečne kisline Metabolizem glicerola in dihidroksiacetona Vlečljivost
ROD / VRSTA ENDOSPOROFORMNIH BAKTERIJ	KVAR
<i>Bacillus spp.</i> <i>Clostridium spp.</i>	Povečanje kislosti (maslena kislina) Tvorba usedline

Ocetnokislinske bakterije

Ocetna kislina (povišane hlapne kisline)

- Prag zaznave ocetne kisline v vodi je pri 100-125 mg/L, v vinu pa jo sigurno zaznamo nad 700 mg/L. O defektu (ocetnem ciku) lahko govorimo že pri koncentraciji 600 mg/L ocetne kisline in 200 mg/L etilacetata.

Etilacetat

- Običajno se v vinu nahaja v koncentracijah med 30-60 mg/L, čeprav je prag zaznave bistveno nižji (12,3 mg/L); v defektnem vinu (tvorci so tako AAB kot heterofermentativne LAB) pa je koncentracija etilacetata med 150-200 mg/L. Senzorični deskriptorji: lepilo, lak za nohte, aceton.

Acetaldehid

- V mladem vinu po končanem alkoholnem vrenju ga je v povprečju okrog 75 mg/L, prag zaznave v vinu pa je med 100-120 mg/L. Koncentracije nad 160 mg/L kažejo na rast rodu *Acetobacter*.

Acetoin

- Pri majhni topnosti kisika lahko rodova AAB *Acetobacter* in *Gluconobacter* oksidirata mlečno kislino v acetoin, ki se nahaja v vinu med 3,0-31,8 mg/L (značilen vonj po surovem maslu).

OSTALE HLAPE SPOJINE

Zamašek (cork)

- napaka stekleničenih vin, zamašenih s plutovinastim zamaškom (od 0,5 do nad 2 ‰)
- senzorični deskriptorji: po plesni (mouldy), po zatoklem (musty), po zemlji (earthy)

Značilne spojine:

- kloranizoli (prag = 10-150 ng/L): 2,4,6-trikloranizol (TCA) in 2,3,4,6-tetrakloranizol (TeCA)
- 1-okten-3-on
- 1-okten-3-ol

Povzročitelji: *Streptomyces*

- 2-metil-tio-izoborneol (prag = 30 ng/L)
- gvajakol (prag = 20 µg/L)
- geozmin (prag = 25 ng/L)

NEGATIVNE AROMATIČNE ZAZNAVE "off-flavour"

Zaznava	Hlapna spojina
zelen poper, po travi	3-izobutil-2-metoksipirazin 3-izopropil-2-metoksipirazin 3-etil-2-metoksipirazin
po zelenem	heksanal, heksenali
jagoda	2,5-dimetil-4-metoksi-2,3-dihidroksi-3-furanon 2,5-dimetil-4-hidroksi-2,3-dihidroksi-3-furanon
geranije (pelargonije)	3-etoksi-heksa-3,5-dien
mišji urin (mševina)	2-etil-3,4,5,6-tetrahidropiridin 2-acetil-3,4,5,6-tetrahidropiridin 2-acetil-1,4,5,6-tetrahidropiridin
gnila jajca	vodikov sulfid
čebula, česen	merkaptani
vinski kis	etilacetat, ocetna kislina
kislo zelje	mlečna kislina, diacetil
zamašek, pluta	metil tetrahidronaftalen 2,4,6-trikloranizol seskviterpeni (<i>Penicillium roquefortii</i>) 2,3,4,6-tetrakloranizol in pentakloranizol
les	3-metil- γ -oktalakton

Plesni *Penicillium roquefortii*

Vonjava (SNIFF-detektor)	Spojina (GC-MS)
sveže gobe	oktan-3-on
gobe	oktan-3-ol
šampinjoni	okten-3-ol
kafra, zatohlost, plesen	seskviterpen
kafra, plesen, zamašek	seskviterpen
plesen	seskviterpen
plesen, zatohlost, zamašek	seskviterpen
plesen, zatohlost, zamašek	seskviterpen
vrtnice	2-fenil etanol

Pogoji za rast in razmnoževanje kvarljivcev vina

Zdravstveno stanje grozdja in higiena v kleti

- Hranilne snovi: glukoza, dušik
- Vsebnost molekularnega kisika (več kot 0,25 mg/L)
- Temperatura nad 13 stopinj C
- Koncentracija alkohola: manj kot 13 vol.%
- SO₂ manj kot 0,8 mg/L molekularne oblike (30-40 mg/L)
- Čas: običajno 6-10 mesecev po končani alkoholni fermentaciji

- Rast kvasovk *Brettanomyces*: povečanje števila celic za 1,5 do 6-krat v 2 mesecih

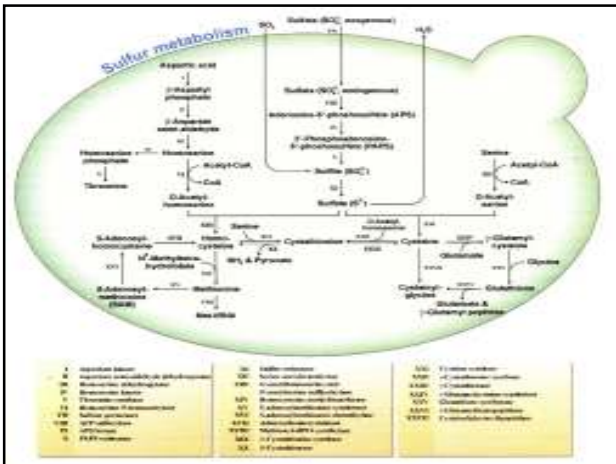
Zveplove spojine

- vodikov sulfid, H₂S: prag = 50-80µg/L (celo zelen pri konc. 20-30 µg/L)
- etil merkaptan: prag = 1,1 µg/L; (po gumi, kavčuku ali česnu)
- metil merkaptan: prag = 0,02-2 µg/L; (po gnilih jajcih, kuhanem zelju ali ohrovту)
- dimetil disulfid (DMDS): prag = 29 µg/L; (po čebuli, kuhanem zelju ali ohrovту)
- dietil disulfid (DEDS): prag = 4,3 µg/L; (po česnu ali ožgani gumi)

Teoretična vrednost molekularne oblike žveplovega dioksida **0,825 mg/L** omogoča zmanjšanje populacije mikroorganizmov (*Brettanomyces*, LAB in drugih kvarljivcev) v **24 urah za 10⁴ CFU/mL** (Beech in sod., 1979).

Znano je, da je vrsta *Kloeckera apiculata* odporna tudi pri koncentraciji 150 mg/L skupnega SO₂; približno enako odporna sta tudi rodova *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces* in *Schizosaccharomyces*, medtem ko *Candida vini* (kvasovka kana) preživi v moštu s koncentracijo 50-75 mg/L skupnega SO₂.

! Iz tega sledi, da žveplanje mošta v predfermentativni fazi deluje inhibitorno zlasti na LAB in AAB!



Program analiz mošta in vina

monitoring med fermentacijo		zorenje in staranje vina (občasno)	
alkohol	* dodatne analize:	SO ₂	* dodatne analize:
reducirajoči sladkorji	SO ₂	pH	fenoli/barva
hlapne kisline	jabolčna kislina	skupne kisline	kvarljivci
sulfid/merkaptan	mikroskopski pregled:	hlapne kisline	4-etilfenol
pH	št. kvasovk in bakterij	reducirajoči sladkor	senzorika
skupne kisline			motnost/bistrost
reševanje problemov		pred stekleničenjem	
sulfid/merkaptan	čistilni poskusi	čistilni poskusi (bistrot, senzorika)	kvarljivci
kvarljivci	baker/železo	skupne kisline/pH	4-etilfenol
uravnav. kislosti in pH	kalij/natrij/kalcij	toplotni test	motnost
mikroskopski pregled	senzorika	hladna stabilizacija	fenoli/barva
4-etilfenol	potencialno porjavjenje	alkohol	stabilnost barve
kislinski profil:	rozato obarvanje	pH	filtrabilnost
ocet., vinska, jabol. kisl.	acetaldehid	skupne kisline	kontrola kakovosti:
jant. mleč. in citr. kisl.		SO ₂	(steklenice, zamaški)
		hlapne kisline	
		reducirajoči sladkor	
		jabolčna kislina	
