

»Mladi za napredek Maribora 2016«

33. srečanje

**PRIMERJAVA IN TOPLOTNA UČINKOVITOST PROCESA
ALKOHOLNEGA VRENJA JABOLČNIH SOKOV RAZLIČNE
PRIDELAVE**

Raziskovalno področje: interdisciplinarno področje (biotehnologija, kmetijstvo, živilstvo,
kemija, kemijska tehnologija, fizika, astronomija)

Raziskovalna naloga

Avtor: KLARA ŠIBILA, RAHELA REPINA

Mentor: ANDREJA NAVRŠNIK KAČIČ, MIHAEL GOJKOŠEK, JOŽICA BRECL

Šola: ŠKOFIJSKA GIMNAZIJA A.M.SLOMŠKA MARIBOR

Maribor, 2016

KAZALO VSEBINE

Kazalo vsebine	2
Kazalo slik	4
Kazalo tabel	7
Kazalo grafov	8
Povzetek	9
Zahvala	10
1 Uvod	11
1.1 Raziskovalna vprašanja	11
1.2 Delovne hipoteze	11
2 Teoretični del	13
2.1 Vrenje	13
2.1.1 Proces	13
2.1.2 Pomen metabolizma etanola	16
2.1.3 Energijski izkupiček	16
2.2 Glive kvasovke	17
2.2.1 Kvasovke <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
2.3 Integrirana in ekološka pridelava hrane	20
2.3.1 Integrirana pridelava	20
2.3.2 Ekološka pridelava	21
2.4 Pasterizacija	22
2.5 Titracija	23
2.5.1 Jabolčna kislina	24
2.5.2 Vrednost pH	24
2.6 Uporaba žveplastih spojin	25
2.7 Teorija prehajanja toplote	25

2.8	Fehlingov reagent.....	27
2.9	Gojišče za mikrobiološki pregled sokov	28
2.10	Laboratorijski pripomočki	28
2.10.1	Merilniki Vernier	28
3	Praktični del	31
3.1	Metode raziskovanja	31
3.1.1	Izdelava soka.....	31
3.1.2	Eksperimentalno delo – biologija	34
3.1.3	Kemična analiza.....	35
3.1.4	Fizikalni del	37
3.2	Rezultati	37
3.2.1	Eksperimentalno delo – biologija	37
3.2.2	Kemična analiza.....	44
3.2.3	Fizikalni del	53
4	Razprava	55
5	Zaključek.....	58
6	Družbena odgovornost.....	59
7	Viri in literatura.....	60

KAZALO SLIK

Slika 1: Shema alkoholnega vrenja pri glivah kvasovkah (http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lectures/09_25b_fermentation-L.jpg , dostop: 10. januar 2016)	16
Slika 2: Kvasovke pod svetlobnim mikroskopom po koncu vrenja v soku iz jabolk jonagold pri 400-kratni povečavi (avtor raziskovalne naloge)	17
Slika 3: Uradni državni znak za integrirano pridelavo (http://gajbica.si/novice/12/poznate_razliko_med_ekolosko_in_integrirano_pridelavo/ , dostop: 6. januar 2016)	21
Slika 4: Uradni evropski znak za ekološko pridelavo (http://gajbica.si/novice/12/poznate_razliko_med_ekolosko_in_integrirano_pridelavo/ dostop: 6. januar 2016)	22
Slika 5: Enačba za dokazovanje prisotnosti aldoze v vzorcu (http://blogs.osc-ib.com/wp-content/uploads/2010/03/800px-Fehling_test1.png , dostop: 19. januar 2016).....	27
Slika 6: Merilnik kisika s posodico (http://www.vernier.com/products/sensors/o2-bta/ , dostop: 18. januar 2016)	29
Slika 7: Merilnik temperature (http://www.vernier.com/products/sensors/temperature-sensors/sts-bta/ , dostop: 18. januar 2016)	30
Slika 8: Merilnik za pH (http://www.vernier.com/products/sensors/ph-sensors/ph-bta/ , dostop: 18. januar 2016)	30
Slika 9: Jabolka jonagold (avtor raziskovalne naloge)	31
Slika 10: Jabolka bobovec (avtor raziskovalne naloge).....	31
Slika 11: Stiskanje soka s sokovnikom (avtor raziskovalne naloge)	32
Slika 12: Sok pred kuhanjem (avtor raziskovalne naloge)	32
Slika 13: Kuhanje soka (avtor raziskovalne naloge).....	33

Slika 14: Končni produkt v steklenici (avtor raziskovalne naloge).....	33
Slika 15: Nastavljen poskus dveh vzorcev hkrati z merilnikoma temperature in kisika povezanim z vmesnikom Vernier (v ozadju) in računalnikom (desno) (avtor raziskovalne naloge).....	35
Slika 16: Vzorec jabolčnega soka Fructal na hranilnem gojišču ob koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge)	42
Slika 17: Vzorec soka iz sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave na hranilnem gojišču ob koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge).....	42
Slika 18: Vzorec domačega pasteriziranega soka iz jabolk sorte jonagold na hranilnem gojišču ob koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge).....	43
Slika 19: Vzorec domačega pasteriziranega soka jabolk sorte bobovec na hranilnem gojišču po koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge)	43
Slika 20: Vzorec domačega pasteriziranega soka družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort na hranilnem gojišču po koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge)	44
Slika 21: Primerjava med titriranim (desno) in netitriranim (levo) vzorcem soka sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave (avtor raziskovalne naloge)	46
Slika 22: Primerjava med titriranim (levo) in netitriranim (desno) vzorcem domačega pasteriziranega soka iz jabolk ekološke pridelave (avtor raziskovalne naloge)	46
Slika 23: Primerjava med titriranim (desno) in netitriranim (levo) kontrolnim vzorcem soka iz jabolk sorte jonagold (avtor raziskovalne naloge).....	47
Slika 24: Reakcija s Fehlingovim reagentom soka iz jabolk sorte jonagold (levo) in domačim pasteriziranim sokom družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort (desno) – oboje po koncu reakcije (avtor raziskovalne naloge)	47
Slika 25: Reakcija s Fehlingovim reagentom domačega pasteriziranega soka iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec (levo) in jabolčnega soka Fructal (desno) – oboje po koncu reakcije (avtor raziskovalne naloge)	48

Slika 26: Reakcija s Fehlingovim reagentom povretega soka iz jabolk sorte jonagold po koncu reakcije (levo) in soka sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave pred začetkom (desno) (avtor raziskovalne naloge).....	48
Slika 27: Reakcija s Fehlingovim reagentom kontrolnega poskusa (levo) in povretega soka sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave – oboje po koncu reakcije (desno) (avtor raziskovalne naloge)	49
Slika 28: Reakcija s Fehlingovim reagentom povretega jabolčnega soka Fructal (levo) in povretega soka iz jabolk ekološke pridelave bobovec (desno) – oboje po koncu reakcije (avtor raziskovalne naloge).....	49
Slika 29: Reakcija s Fehlingovim reagentom kontrolnega poskusa soka iz jabolk sorte jonagold (levo) – po reakciji in domačega pasteriziranega soka družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort (desno) – pred reakcijo (avtor raziskovalne naloge)	50
Slika 30: Reakcija s Fehlingovim reagentom povretega soka jabolk sorte jonagold – po koncu reakcije (avtor raziskovalne naloge)	50

KAZALO TABEL

Tabela 1: Produkti in njihova količina pri vrenju 100 g invertnega sladkorja (Rajher, 2010, p. 87)	14
Tabela 2: Čas, ki je bil potreben, da se je koncentracija kisika med vrenjem zmanjšala za 12 %	40
Tabela 3: Najvišja sprememba temperature vode v podanem času in izračunana hitrost te spremembe med vrenjem	41
Tabela 4: Titrirani vzorci jabolčnih sokov različne pridelave in njihove lastnosti.....	44
Tabela 5: Rezultati določanja skupne žveplaste kisline po vzorcih jabolčnih sokov	51
Tabela 6: Rezultati določanja vrednosti pH po vzorcih jabolčnih sokov	52
Tabela 7: Toplota, ki se je sprostila pri vrenju 50 g in 200 kg soka ter specifična toplota vrenja (q).....	53
Tabela 8: Sprememba temperature pri segrevanju 50 kg vode in masa soka, ki je potrebna za segrevanje 50 kg vode s 15 °C na 75 °C.....	54

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Primerjava količine porabljenega kisika med vrenjem v soku sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave in domačem pasteriziranem soku iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec	37
Graf 2: Primerjava porabljene količine kisika med vrenjem v jabolčnem soku Fructal in soku iz jabolk sorte jonagold	38
Graf 3: Primerjava porabljene količine kisika med vrenjem v soku iz jabolk sorte jonagold (brez kvasovk) in soku družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave	38
Graf 4: Primerjava spremembe temperature vode med vrenjem pri soku sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave in domačem pasteriziranem soku iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec	39
Graf 5: Primerjava spremembe temperature vode med vrenjem pri jabolčnem soku Fructal in soku iz jabolk sorte jonagold	39
Graf 6: Primerjava spremembe temperature vode med vrenjem pri soku družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave in soku iz jabolk sorte jonagold (brez kvasovk)	40

POVZETEK

Jesen je čas obiranja plodov in njihove predelave. Produkti, kot so jabolčni sok, mošt in vino, ter različni sadeži so pri ljudeh zelo priljubljeni. V proizvodnjo različnih domačih izdelkov je potrebno vložiti veliko truda. Sadjarji in vinarji predvsem želijo postopke pridelave pospešiti in narediti učinkovitejše. Za to pa je potrebno primerno znanje pridelovalca.

Z raziskovalno nalogo predstavljamo delovanje kvasovk na vrenje jabolčnih sokov različnega izvora oziroma različne pridelave. Z eksperimentalnim delom smo preverjali stranske produkte vrenja in kemijsko sestavo jabolčnih sokov med procesom vrenja. Ob tem nas je zanimala tudi energijska učinkovitost vrenja na podlagi proizvedene toplote, kar smo dokazovali s fizikalnimi izračuni.

Ugotovili smo, da vrenje poteka hitreje v sokovih iz jabolk ekološke pridelave, vendar se hitrost razlikuje v različnih sokovih iz jabolk integrirane pridelave. Raziskovalno delo je pokazalo, da med vzorci jabolčnih sokov po vrenju in pred njim ni večjih razlik. Ugotovili smo tudi, da lahko energijski izkupiček vrenja jabolčnega soka izkoriščamo za segrevanje vode.

Ključne besede: vrenje, kvasovke, jabolčni sok, integrirana pridelava, ekološka pridelava, pasterizacija, toplota.

ZAHVALA

Za pomoč in podporo pri raziskovalnem delu ter izdelavi raziskovalne naloge se zahvaljujemo mentorjem, ki so nam pomagali pri iskanju informaciji in nam dajali prave smernice. Prav tako se zahvaljujemo lektorici za pregled raziskovalne naloge.

Raziskovalna naloga tudi ne bi nastala brez prisostvovanja in sodelovanja drugih delavcev šole, ki so bili pripravljene preživeti kakšno uro več v službi.

Zahvaljujemo se tudi vsem, ki so svoj del prispevali z odgovarjanjem na vsa vprašanja, ki so se pojavila tekom izdelave te raziskovalne naloge.

1 UVOD

Raziskovalna naloga obravnava vrenje jabolčnih sokov različne pridelave in njegov energijski izkupiček. Za to temo smo se odločili, ker mnogo ljudi doma prideluje sokove in vino ter so nas zanimala lastnosti produktov. Tema se nam je zdela zanimiva tudi zato, ker smo poleg analize vzorcev preverili tudi njihov energetski izkoristek pri vrenju.

Cilji naloge so ugotoviti razlike v vrenju jabolčnih sokov glede na njihov izvor oziroma način proizvodnje, preveriti, če je energijski izkupiček vrenja zadosten za toplotno izkoriščanje in kako se razlikujejo kemijske lastnosti povrelih jabolčnih sokov glede na njihov izvor oziroma način proizvodnje.

Metodi raziskovanja sta eksperimentalnega značaja, in sicer biologijsko eksperimentalno delo ter kemična analiza vzorcev različnih sokov.

Raziskovalno področje je zaradi prepletanja različnih tematik uvrščeno na interdisciplinarno področje. Posega namreč na področja biotehnologije, kmetijstva in živilstva; kemije in kemijske tehnologije ter fizike in astronomije.

1.1 Raziskovalna vprašanja

1. Kolikšen je energijski izkupiček vrenja jabolčnih sokov različne pridelave in ali lahko to energijo toplotno izkoristimo?
2. Kakšne so razlike v vrenju in produktih vrenja jabolčnih sokov različnega izvora oziroma načina proizvodnje ali pridelave?

1.2 Delovne hipoteze

Hipoteza 1: Vrenje pri jabolčnih sokovih iz jabolk ekološke pridelave bo potekalo hitreje kot pri jabolčnih sokovih, ki niso ekološkega izvora (sprememba T /časovno enoto). Jabolka ekološke pridelave naj bi imela večjo prehransko vrednost, zato bodo glive kvasovke imele več substrata za razgradnjo. V jabolkih integrirane pridelave je več pesticidov in so zato obstojnejša, zato bo vrenje potekalo počasneje. (Petrović, 2011)

Hipoteza 2: Analiza vzorcev jabolčnih sokov različne pridelave pred vrenjem in po njem bo pokazala večje razlike med vzorci glede na njihov izvor oziroma način proizvodnje ali pridelave. V procesu alkoholne fermentacije poleg etanola nastanejo še drugi stranski produkti, ki spremenijo lastnosti soka (ogljikov dioksid, aromatske snovi, acetaldehid in glicerin). S prisotnostjo kvasovk pa se prične sladkor spreminjati v alkohol. (Jakubik, 2011)

Hipoteza 3: Vrenje vseh sokov ne bo proizvedlo dovolj energije, da bi jo lahko uporabili kot energetski vir. Ugotovitve kažejo, da se temperatura okolice pri vrenju spremeni povprečno za okoli 4 °C. Taka sprememba temperature ne proizvede dovolj toplote, da bi jo lahko uporabili kot energetski vir. (Staff, 2005)

2 TEORETIČNI DEL

2.1 Vrenje

Vsa živa bitja potrebujejo za svoje delovanje energijo. To pridobiva večina živih bitij s celičnim dihanjem, ki poteka v mitohondrijih. Pri celičnem dihanju se 34 od 38 molekul ATP, ki nastanejo pri celičnem dihanju, sintetizira v procesu kemiosmoze po verigi za prenos elektronov. To pa je možno le ob prisotnosti kisika. Če tega plina ni, celično dihanje ne more poteči, saj kisik ni glavni sprejemnik elektronov. Takrat poteče proces fermentacije, ki je kompleksen mikrobiološki proces, ki poteka brez prisotnosti kisika v glivah kvasovkah in bakterijah. (Valenti, 2011) (Campbell & Reece, 2011)

Pomemben proces tako na začetku celičnega dihanja kot tudi fermentacije je glikoliza, cepitev molekule glukoze na dva piruvata s tremi ogljikovimi atomi. Piruvat lahko nato vstopi v Krebsov cikel ali pa gre po kakšni drugi metabolični poti, odvisno od razmer v celici, vrste organizma in celice. Tukaj ima največjo vlogo dostopnost kisika. Če ga ni oziroma ga ni dovolj, morajo druge molekule prevzeti vlogo sprejemnika elektronov, da se lahko NADH obnovi v NAD^+ . »Pridobivanje energije brez uporabe O_2 kot akceptorja elektronov, imenujemo fermentacija.« (Boyer, 2005) Poznamo več vrst vrenja, ki so poimenovana glede na glavni končni produkt metabolične poti. V vsakdanjem življenju najbolj poznamo mlečnokislinsko fermentacijo, ki se dogaja tudi v človeških mišicah in je pomembna za izdelavo mlečnih izdelkov, ter alkoholno fermentacijo. Podrobneje bomo razložili slednjo. (Boyer, 2005)

2.1.1 Proces

Z alkoholnim vrenjem pridobivamo alkohol s pomočjo gliv kvasovk in drugih mikroorganizmov. Najprej pride do razcepa glukoze na dva piruvata. Nato pa potečeta še dve reakciji. V prvi pride do nehidrolitične cepitve, ki jo katalizira piruvat-dekarboksilaza. Za delovanje potrebuje koencim tiaminpirofosfat (vitamin B1). V tej reakciji nastaneta CO_2 in acetaldehid oziroma etanal. Nato pa pride do redukcije karbonilne spojine v etanalu in nastane etanol. NADH se oksidira v NAD^+ . In tako proces poteka dalje do procesa porabe vse glukoze. Ob tem nastanejo še stranski produkti, kot so aromatske snovi, acetaldehid, glicerol, očetna kislina in glicerol. (Boyer, 2005) (Kapun Dolinar, et al., brez datuma)

Pri alkoholnem vrenju naj bi nastal od 40- do 50-krat večji volumen ogljikovega dioksida, kot je volumen fermentirajočega mošta. Na enoto porabljenega sladkorja naj bi nastalo 51,1 % etanola, preostalo pa ogljikov dioksid. Praktični izkoristek pa je manjši kot teoretični, saj se 95 % sladkorja pretvori v etanol, 1 % se ga porabi za izgradnjo celičnega materiala in 4 % se porazgubi v atmosfero z izhlapevanjem. (Valenti, 2011)

Pri vrenju iz 180 g sladkorja nastane 88 g ogljikovega dioksida, kar predstavlja 44 L. Tako pri vrenju 1000 L mošta, ki vsebuje 180 g/L sladkorja, nastane 44000 L CO₂.

Tabela 1: Produkti in njihova količina pri vrenju 100 g invertnega sladkorja (Rajher, 2010, p. 87)

Kemična snov	g
etanol	47 – 48
ogljikov dioksid	46.5 – 47.5
glicerol	2.4 – 3.5
2,3-butandiol	0.06 – 0.1
ocetna kislina	0.05 – 0.24
mlečna kislina	0 – 0.4
višji alkoholi	0.05 – 0.35
jantarna kislina	0.2 – 0.5
acetaldehid (etanal)	0.01 – 0.08

Ob teh produktih se sprosti tudi energija v obliki toplote, ki ima zlasti funkcijo izmenjave temperature med posodo in okoljem. Ta je odvisna od:

- vrste posode, njene površine, debeline stene;
- intenzivnosti izhajanja CO₂;
- začetne temperature drozge/mošta;
- aktivnosti kvasovk (hitrosti vrenja);
- količine sladkorja v moštu, ki lahko daje več ali manj alkohola;

- dodatnega sistema in načina hlajenja posod.

Na potek vrenja in s tem na kakovost vrenja vplivajo naslednji fizikalni in kemijski elementi.

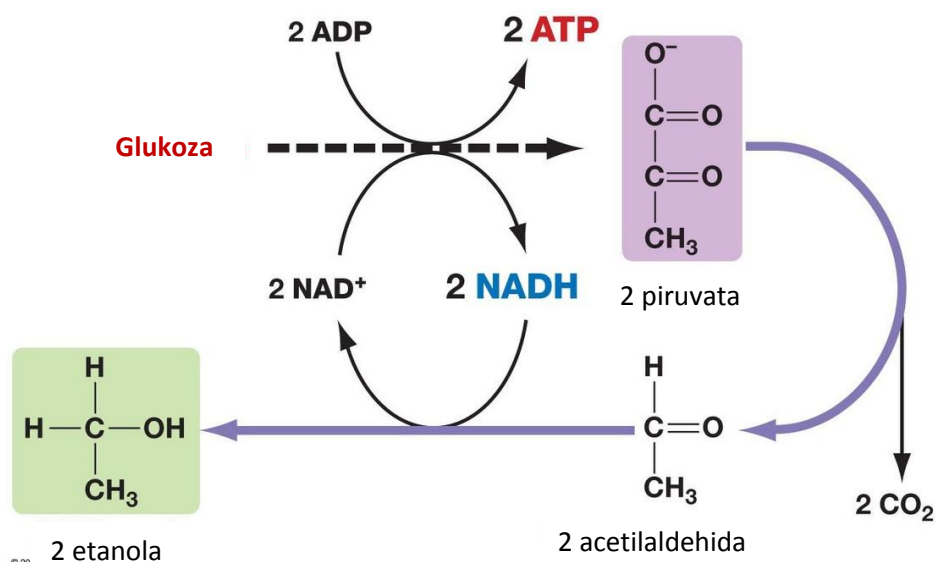
- Temperatura: nižje temperature omogočajo mirnejše vrenje, boljšo ohranitev aromatičnih snovi in več svežine, višje temperature pa dajo močnejša in bogatejša vina.
- Količina sladkorja: mošti z manj sladkorja povrejo v manj alkohola. Če so količine sladkorja previsoke, kot npr. v moštu, se lahko vrenje zaustavi še preden ves sladkor povre. Vrenje pa je odvisno tudi od vrste sladkorja, saj kvasovke lažje razgrajujejo glukozo kot fruktozo, ki v prezrelem sladkorju prevladuje.
- Količina alkohola: kvasovke v večini prenašajo količine alkohola do 12 % vol., pri večjih količinah pa se njihova dejavnost zelo upočasnjuje ali preneha. Nekatere kvasovke za peneča vina lahko vrejo še pri koncentracijah etanola do 15 %.
- Žveplov dioksid: žveplanje v procesu pridobivanja mošta in vina vpliva na mikrofloro. Kvasovke so različno občutljive na SO₂, vendar jih večina prenaša količine od 50 – 100 mg/L. Večje količine zamaknejo pričetek vrenja.
- Dušikove spojine: dušikove spojine (npr. fosfati, sulfati) so kvasovkam vir hranilnih snovi, ki jih potrebujejo.
- Polifenolne snovi: barve in taninske snovi ovirajo delovanje kvasovk. Pomembno je, da jih mošti in vina vsebujejo čim manj.
- Ogljikov dioksid: pri večjih koncentracijah ogljikovega dioksida, ki se sprosti iz reakcije alkoholnega vrenja, se lahko vrenje upočasnjuje.
- Motnost: pretirano razsluzenje oziroma predbistrenje, ki bi odstranilo motne delce, bi lahko negativno vplivalo na vrenje, saj ti delci povečujejo notranjo površino, izboljšujejo odvajanje CO₂, vplivajo na boljši potek vrenja in vsebujejo hrano za kvasovke.
- Kovinski ioni: so koristni v običajnih količinah, ker so pomembne komponente encimov.
- Pesticidi: so lahko močna ovira za kvasovke, zato je potrebno upoštevati karencu in jih odstraniti ob razsluzenju. (Rajher, 2010, p. 87 – 90)

2.1.2 Pomen metabolizma etanola

Alkoholna fermentacija je postopek, ki je seveda pomemben pri pridobivanju vina. Vino pripravljamo s pomočjo kulture kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* (glej poglavje 2.2). Enako kulturo kvasovk uporabimo za varjenje piva in pri peki. Zaradi prisotnosti teh kvasovk poteče vrenje. Nastali ogljikov dioksid pomaga pri vzhajanju testa, etanol in drugi produkti pa dajo sveže pečenemu kruhu značilno aromo. Če pa želimo alkoholne pijače z višjo vsebnostjo alkohola, uporabimo postopek destilacije. S pomočjo alkoholnega vrenja proizvajajo tudi nadomestek za bencin, imenovan gazohol, ki vsebuje 10 % etanola. (Boyer, 2005)

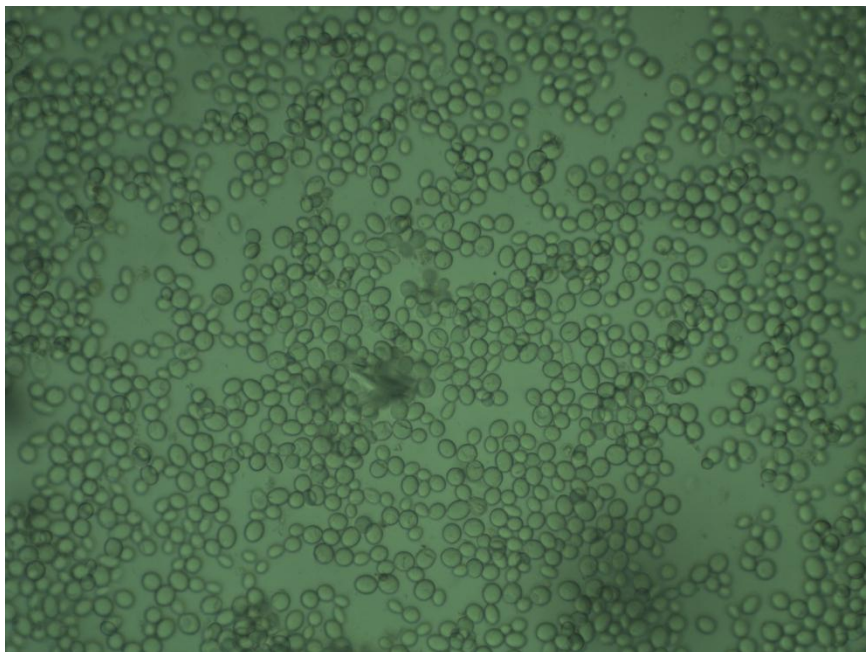
2.1.3 Energijski izkupiček

Vrenje je veliko manj energijsko učinkovito kot celično dihanje. Pri celičnem dihanju dobimo 38 molekul ATP, pri vrenju pa le 2 molekuli ATP na molekulo glukoze. Vsi organizmi, ki na tak način pridobivajo energijo, imajo zelo majhen izkoristek energije, le okoli 5 % uporabne energije glukoze. Pri fermentaciji se večina energije porabi le za obnovitev NAD^+ , da lahko glikoliza poteka. Več kot 90 % energije ogljikovih hidratov ostane neizkoriščene. Razvoj celičnega dihanja je z izrabo O_2 je omogočilo učinkovitejšo energije iz hrane. (Boyer, 2005)



Slika 1: Shema alkoholnega vrenja pri glivah kvasovkah (http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lectures/09_25b_fermentation-L.jpg, dostop: 10. januar 2016)

2.2 Glive kvasovke



Slika 2: Kvasovke pod svetlobnim mikroskopom po koncu vrenja v soku iz jabolk jonagold pri 400-kratni povečavi (avtor raziskovalne naloge)

2.2.1 Kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*

»Najpomembnejše vinske kvasovke so sporogene vrste, ki tvorijo spore v askusih, druga pomembna skupina pa so nekatere nesporogene glive.« (Rajher, 2010, p. 92)

Danes delimo rod *Saccharomyces* na dve skupini:

- *Saccharomyces* v ožjem smislu obsega vrste, ki so močnejše alkoholnotolerantne in najprimernejše za izvajanje glavnega vrenja mošta. To sta npr. *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus* var. *Uvarum*.
- *Saccharomyces* v širšem smislu obsega vrste z manjšo in specifično vrelno aktivnostjo za določeni posebni namen in za vino niso pomembne. (Rajher, 2010, p. 92 – 93)

2.2.1.1 Sistematika

Kvasovka *Saccharomyces cerevisiae*, pri nas bolj znana kot pivska ali pekovska kvasovka, spada v domeno evkariontov (*Eukarya*) in kraljestvo glive (*Fungi*). Uvrščamo jo v deblo gliv

zaprtonosnic (*Ascomycetes*), razred *Saccharomycetes*, red kvasovk (*Saccharomyces*) in družino *Saccharomycetaceae*. (Ajtnik, 2009) (Novak Štagoj & Podobnik, 2006)

Je preprost evkariont z vsemi celičnimi organeli (jedro, mitohondrij, Golgijev aparat, endoplazmatski retikulum, ribosomi, lizosomi) in celično steno iz hitina. Je okrogle, elipsoidne, podolgovate ali ovalne oblike s povprečnimi dimenzijami od 1 do 10 µm. Na trdih gojiščih so kolonije krem barve s hrapavo površino in narezljanim robom. (Ajtnik, 2009)

So odporne na sončno svetlobo in izsuševanje, zato so v naravi zelo razširjene. Rastejo v zelo širokem območju pH, vendar je optimalen pH za njihovo rast med 6 in 7. Preživijo tudi ob prisotnosti visoke koncentracije alkohola do 18 % in ob prisotnosti 50 % do 60 % saharoze. (Valenti, 2011)

2.2.1.2 Razmnoževanje

Kvasovke se lahko razmnožujejo spolno ali nespolno. Vegetativno se običajno razmnožujejo z brstenjem. Brst (nov organizem) nastane na materinskem organizmu. Ločita se šele, ko brst doseže velikost starševskega organizma. Redkeje pa se razmnožujejo spolno s tvorjenjem spor. Te so temperaturno občutljive in jih lahko uničimo že pri temperaturi 74 °C. (Ajtnik, 2009) (Novak Štagoj & Podobnik, 2006)

2.2.1.3 Pridobivanje energije

Energijo lahko kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, ki so kemo-organotrofi in jim je sladkor glavni vir ogljika in energije, pridobivajo na dva načina, odvisno od razmer v okolju. Če je v okolici dovolj kisika, izvajajo celično dihanje, pri katerem nastaneta voda in ogljikov dioksid. Ob pomanjkanju kisika v okolju pa pričnejo z anaerobnim načinom pridobivanja energije, to je vrenjem (glej poglavje 2.1). (Ajtnik, 2009) (Valenti, 2011)

Optimalna rast za to vrsto kvasovke je med 33 °C in 35 °C pri 10 do 30 % glukoze. Večja odstopanja temperature lahko imajo negativen vpliv na alkoholno fermentacijo. Pri previsokih temperaturah lahko pospešeno nastajajo stranski produkti in se izgublja alkohol. Prenizke temperature pa lahko zavirajo potek vrenja. Torej je večina sevov mezofilnih. Ima veliko fermentativno aktivnost in dobro odpornost na etanol, saj je aktivna v koncentracijskem območju 8 – 15 % alkohola. Pri visoki koncentraciji sladkorjev in nizkem pH tvori veliko očetne kisline. (Ajtnik, 2009) (Raspor, 2002)

2.2.1.4 Uporaba za izdelavo vina

Vinarji želijo pridelati čim boljše vino, zato morajo izbrati najprimernejše kvasovke. Osnovna naloga kvasovk, ki so dodane v mošt, je alkoholna fermentacija. Pri vrenju mošta pa ne poteče le poraba sladkorjev za nastanek etanola, temveč nastanejo tudi sekundarni produkti fermentacije, ki dajejo končnemu produktu posebno aromo. Zato pride tudi do selekcioniranja kvasovk z namenom najti kvasovke, ki bodo to nalogo najbolj opravile. Ob tem želijo doseči čim manjšo tvorbo žveplastih spojin, nezaželenih polifenolov, očetne kisline, etil acetata ... Saj bi s tem bi vino izgubilo na kakovosti. (Raspor, 2002)

Poznamo različne vrste kvasovk, ki imajo različne karakteristike pri fermentaciji (npr. *Kloeckera apiculata*, *Pichia in Hansenula uvarum* tvorijo nižje koncentracije alkohola). Najpomembnejše kvasovke za alkoholno fermentacijo mošta pa prihajajo iz rodu *Saccharomyces* oziroma njihovih fizioloških sevov: *S. cerevisie*, *S. bayanus* in *S. uvarum*. To je najpomembnejša vinska kvasovka, ki lahko pomaga tudi pri razsluzenju vina. (Raspor, 2002)

Ločimo dva glavna poteka vrenja:

- Naravno vrenje: To je drugače imenovano spontano vrenje, ki se začne zaradi žlahtnih kvasovk z močno vrelni sposobnostjo (*Saccharomyces*) in nežlahtnih kvasovk z nizko vrelni sposobnostjo (npr. *Brettanomyces*). Te kvasovke so se nahajale že v sadju, zdaj pa so v soku. Nežlahtne kvasovke so veliko manj zaželeni kot žlahtne, saj lahko povzročajo različne bolezni. Če v soku prevladujejo nežlahtne kvasovke se vrenje že po prvem ali drugem tednu zastane ali se celo zaustavi, zato ostane mošt sladek in se zaradi nastajanja očetne kisline lahko spremeni celo v kis.
- Vrenje s pomočjo čistih gojenih kvasovk: Ob dodajanju žlahtnih kvasovk (*Saccharomyces*) lahko uničimo večino nežlahtnih kvasovk in drugih neželenih mikroorganizmov, da poteka le čisto in popolno vrenje. (Jakubik, 2011)

Pri pripravi jabolčnega mošta, ki traja več tednov proces vrenja razdelimo na naslednje faze: razmnoževanje kvasovk (prvi dnevi, ko še ne opazimo, da vrenje poteka, saj se kvasovke pospešeno razmnožujejo), začetek vrenja (od približno tretjega dneva postaja proces vrenja slišen), intenzivno vrenje (po enem tednu je vrenje dobro slišno, sprošča se toplota in nastaja pena zaradi ogljikove kisline, sok pa se hkrati bistri), tiho končno vrenje (Po koncu

intenzivnega vrenja ni več mehurčkov v posodi. Plast ogljikove kisline v sodu ščiti mladi mošt pred okužbami.). (Jakubik, 2011)

2.3 Integrirana in ekološka pridelava hrane

2.3.1 Integrirana pridelava

Integrirana pridelava je okolju prijaznejši način pridelave hrane od konvencionalnega. Poteka pod rednim nadzorom pooblaščenih certifikacijskih organov, pristojnega inšpektorata in pod natančno določenimi pravili kmetovanja. S tem zmanjšuje negativne vplive kmetovanja na okolje in zdravje ljudi. (Osvald, 2003)

Pridelava poljščin, sadja, grozdja in zelenjave poteka po naslednjih načelih:

- Pri pridelavi imajo prednost naravna sredstva in ukrepi pred fitofarmaceutskimi in biotehnološkimi ukrepi, s čimer je dosežen enak gospodarski učinek.
- Agrotehnični ukrepi se izvajajo uravnoteženo, ob skladnem upoštevanju gospodarskih, ekoloških in toksikoloških dejavnikov in ob nadzorovani uporabi gnojil.
- Doseženi so najmanjši mogoči negativni vplivi na okolje.
- Uporaba gnojil je možna le s strokovno utemeljitvijo.
- Uporaba pripravkov za varstvo rastlin je zmanjšana.
- Pridelava poteka brez uporabe gensko spremenjenih organizmov.
- Uporaba je dovoljena le odobrenim pripravkom za varstvo rastlin.
- Vzpodbuja se uporaba biotičnih pripravkov.
- Gnojenje poteka izključno na podlagi potreb rastlin in analize tal.
- Posveča se posebna pozornost ohranjanju in dvigovanju rodovitnosti tal. (Inštitut KON-CERT, brez datuma)

V Sloveniji poteka integrirana pridelava poljščin, sadja, grozdja in zelenjave. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano vsako leto izda pravilnike o integrirani pridelavi in tehnoloških navodilih za integrirano pridelavo, v katerih so določeni postopki kontrole, tehnologija pridelave in način označevanja. Ministrstvo tudi imenuje organizacije za kontrolo in certificiranje. Nadzor nad temi organizacijami izvaja Inšpektorat Republike Slovenije za

kmetijstvo, gozdarstvo in hrano. (Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, brez datuma)



integrirani

Slika 3: Uradni državni znak za integrirano pridelavo
http://gajbica.si/novice/12/poznate_razliko_med_ekolosko_in_integrirano_pridelavo/, dostop: 6. januar 2016)

2.3.2 Ekološka pridelava

Povpraševanje po ekoloških pridelkih narašča, saj se potrošniki vse bolj zavedajo prednosti ekološke pridelave v slovenskem kmetijskem prostoru. Trg z ekološkimi živili se po uradnih podatkih letno poveča za približno 10 odstotkov. Pidelki, ki so pridelani na ekološki način, imajo na trgu višjo vrednost in so pridelki najvišje kakovosti, zato je za kmetovalce pomembno, da pridobijo certifikat za ekološko pridelavo. Ekološke pridelke prav tako odlikuje višja vsebnost hranilnih snovi ter poln in bogat okus. (Inštitut KON-CERT, brez datuma)

Ekološka pridelava poteka pod rednim nadzorom pooblaščenih certifikacijskih organov in pristojnega inšpektorata ter v skladu z natančno določenimi strogimi predpisi. Ekološko kmetovanje uporablja samo naravi prijazne in naravne pridelovalne postopke ter ohranja in spoštuje naravo ob upoštevanju naslednjih omejitev:

- Prepovedana je uporaba lahko topnih mineralnih gnojil, pesticidov in antibiotikov v živinoreji.
- Omejena je uporaba živilskih dodatkov, pomožnih tehnoloških sredstev in drugih snovi.
- Obvezno je široko kolobarjenje, ki služi kot pogoj za učinkovito rabo krajevnih virov.
- Prepovedana je raba gensko spremenjenih organizmov.

- Vzpodbujano je izkoriščanje prednosti lokalnih virov, kot sta na primer hlevski gnoj za gnojilo ali na kmetiji pridelana krma.
- Reja živali poteka v sistemih prijazne reje za živali, na osnovi ekološke hrane in z veliko gibanja na prostem.
- Temeljna je izbira takšnih pasem živali in vrst rastlin, ki so prilagojene lokalnemu okolju in odporne proti boleznim. (Inštitut KON-CERT, brez datuma)

V Sloveniji iz leta v leto narašča število ekoloških kmetij oziroma pridelovalcev oziroma predelovalcev. Dosedanje vstopanje ekoloških kmetij v kontrolo in povečanje ekoloških površin predstavlja stalno rast, kar se pričakuje tudi v prihodnjem obdobju. Še vedno je zaznana nujna potreba po večji kvantiteti pridelkov in organiziranem nastopanju na tržišču, z osveščanjem potrošnikov in tudi pridelovalcev. V dosedanji pridelavi najbolj prevladuje živinoreja, čeprav je povpraševanje kupcev največje po svežih vrtninah in sadju ter ne mesnih predelanih izdelkih, to je mlevskih in mlečnih izdelkih. (Zavod za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, brez datuma)



Slika 4: Uradni evropski znak za ekološko pridelavo (http://gajbica.si/novice/12/poznate_razliko_med_ekolosko_in_integrirano_pridelavo/ dostop: 6. januar 2016)

2.4 Pasterizacija

Pasterizacija je toplotna obdelava živil pri temperaturi manj kot 100 °C. Glavni namen tega postopka je uničiti oziroma zmanjšati število živih, delujočih mikroorganizmov, kot so na primer bakterije, plesni, kvasovke in virusi. (Varno s hrano, 2014) Ti mikroorganizmi bi lahko povzročili bolezen, kvarjenje ali celo nezaželeno fermentacijo. Hkrati v živilu tudi

inaktiviramo encime in mu s tem podaljšamo obstojnost ter kakovost. Prvotni namen pasterizacije je bil uničenje patogenih molekul v mleku. (Wikipedija prosta enciklopedija, 2015)

Poznamo 3 osnovne vrste pasterizacij:

- Nizka ali dolgotrajna, poteka pri temperaturi med 62 °C in 65 °C in traja 30 minut. Mednarodni naziv: *low temperature long time (LTLT)*.
- Srednja ali kratkotrajna, poteka pri temperaturi med 72 °C in 76 °C in traja 15 – 45 sekund. Mednarodni naziv: *high temperature short time (HTST)*.
- Visoka ali trenutna, potek pri 85 °C in traja 5 – 15 sekund. Mednarodni naziv: *very high temperature short time (VHTST)*. (Wikipedija prosta enciklopedija, 2015)

Postopek se izvaja v pasterizatorju (najpogosteje: električni pasterizator s termostatom in uro), pri domači izvedbi lahko uporabimo pečico. Postopek je poimenovan po francoskem bakteriologu in kemiku Louisu Pasteurju. (Gurman, 2014)

2.5 Titracija

Titracija je kvantitativna volumetrična analizna metoda za količinsko določanje znanih snovi. To pomeni, da določamo količino neke snovi, tako da natančno merimo prostornino snovi. Vzorcju dodamo standardno raztopino baze ali kisline, pri določitvi končne točke titracije pa si pomagamo z indikatorji, ki spremenijo barvo v območju določene vrednosti pH. Osnova titracije je kemijska reakcija. Poznamo več vrst titracije: alkalno (močna baza in šibka kislina), nevtralno (močna baza in močna kislina) ter kislo (močna kislina in šibka baza). Kislost v sokovih in moštu predstavljajo različne organske kisline (npr. jabolčna, mlečna, očetna...). Izražena je v količini močne baze, porabljene za nevtralizacijo vseh kislin v moštu. Te lahko potem določimo po enačbi:

$$\text{Titracijske kisline} = \frac{V(\text{NaOH}) \times E(\text{kisline})}{V(\text{vzorca})}$$

Določimo lahko skupne titracijske kisline ali pa le posamezne s pomočjo njihovih kislinskih faktorjev. (Črepinšek & Mlakar, 2009) (Smrdu, et al., brez datuma)

Pri našem raziskovalnem delu smo koncentracije kislin določili po naslednji enačbi:

$$\text{Odstotek kisline} = \frac{V(\text{NaOH}) \times \text{kislinski faktor} \times 100}{V(\text{soka})}$$

$$\text{Kislina (g/L)} = V(\text{NaOH}) \times \text{kislinski faktor} \times 100$$

Kislinski faktor za jabolčno kislino je 0,0067. (Anon., brez datuma)

2.5.1 Jabolčna kislina

Jabolčna kislina spada med organske kisline in ima formulo $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$ ter je po nomenklaturi IUPAC poimenovana 2-hidroksibutandiojska kislina. Nahaja se v veliko sadnih sokovih, moštu in vinu, največ pa ga je ravno v jabolkih. V telesu pomaga pri pridobivanju energije iz hranilnih molekul. V jabolčnih sokovih se lahko nahaja od 1 g/L do 15 g/L jabolčne kisline. Pri proizvodnji mošta iz jabolk naj bi se vrednost jabolčne kisline gibala med 4,5 g/L in 7,5 g/L. (Jolicoeur, brez datuma) (Anon., brez datuma) (Busch, brez datuma)

2.5.2 Vrednost pH

Vrednost pH uporabljamo za določanje kislosti oziroma bazičnosti spojin. Vrednost pH je definirana kot negativni dekadenci logaritem koncentracije vodikovih ionov: $\text{pH} = -\log[\text{H}_3\text{O}^+]$. Je merilo za koncentracijo hidroksidnih ionov in na podlagi tega lahko določimo *pH* raztopine. Kisle raztopine imajo pH od 0 do 7, nevtralno območje je pri 7, bazične pa so raztopine s pH od 7 do 14. Nižji pH, kot ga ima raztopina, bolj kislina je in vsebuje več vodikovih ionov (H_3O^+). Če pa je vrednost pH visoka, bližje 14, prevladujejo hidroksidni ioni (OH^-) in je raztopina močno bazična. Vrednost lahko merimo s pomočjo pH indikatorskih lističev, indikatorjev (lakmus, fenolftalein, metiloranž), ki se različno obarvajo glede na kislost oziroma bazičnost raztopine. Lahko pa uporabimo tudi elektrode s senzorjem za merjenje pH. (Brenčič, 2001) (Sajovic, et al., 2014)

Vrednost pH jabolčnih sokov naj bi se gibala od 3 do 4,5. Ta vrednost ima vpliv tudi na proces fermentacije. Vrednost pH med 3 in 3,8 naj bi bila dovolj za uničenje vseh mikroorganizmov, ki bi lahko škodovali končnemu produktu. (Jolicoeur, brez datuma)

2.6 Uporaba žveplastih spojin

Žveplo se v vinarstvu lahko uporablja v različnih oblikah:

- elementarno žveplo
- SO₂ v plinastem agregatnem stanju
- SO₂ kot raztopina (5% – 6%, v vodi)
- soli žveplaste kisline

Z žveplanjem vinarji vplivajo na encime, mikrobe in sestavine vina. Na učinkovitost SO₂ v vinu vpliva: vrednost pH, temperatura vina, potencial rH (redoks), vrsta kvasovk, vsebnost sulfatov, vsebnost encimov, tehnološki dejavniki (zdravstveno stanje grozdja, zrelost grozdja, način trgatve in obdelave, bistrenje-razsluzenje, potek vrenja, kletna klima, čistoča, zračenje vina ...). (Društvo vinogranikov Sevnica-Boštanj, brez datuma)

V vinu se žveplo nahaja v prosti in vezani obliki. Določimo lahko vrednost vsakega posebej in pa skupno vrednost žvepla v vinu. Dovoljena vsebnost žveplovih spojin v vinih je zakonsko določena. (Rajher, 2010, p. 107 – 110)

2.7 Teorija prehajanja toplote

Sistemi lahko toploto oddajajo in se zato njim temperatura zniža. Če pa sistem sprejme toploto iz okolice, se mu temperatura poveča. (Petrovec, et al., brez datuma)

Vse vrste vrenja predstavljajo eksotermne reakcije, pri katerih se sprošča energija v obliki toplote, posledično pa se poviša temperatura okolice. Vezavna energija reaktantov je višja od vezavne energije produktov take kemijske reakcije, razlika energij pa se sprosti v obliki toplote poleg preostalih produktov (npr. etanol, mlečna kislina, očetna kislina ...). (Smrdu, et al., brez datuma)

Iz telesa, ki oddaja toploto, se lahko ta prenese v okolico. Prenos toplote je prenos energije, ki ga pogojuje razlika temperatur. Načini prenosa toplote so trije: prevajanje, pretakanje (konvekcija) in sevanje (radiacija). S toplotnim prevajanjem se prenaša toplota med telesi, ki se dotikajo, in znotraj telesa, če se temperatura po njem s krajem spreminja. Konvekcija je prenos toplote posredno s tokom tekočine. Tekočina se ob telesu, ki ima višjo energijo, segreje in na hladnejšem mestu odda toploto. Pri tem se tekočina ohladi. Tako na primer

deluje tudi centralno ogrevanje. Toplota se prenaša tudi s sevanjem elektromagnetnega valovanja. Gostoto izsevanega energijskega toka v odvisnosti od temperature telesa opisuje Stefanov zakon. Telesa, ki na tak način oddajajo toploto, jo hkrati z absorpcijo tudi sprejemajo. (Straže, brez datuma)

Sprememba temperature sistema, ki ga segrevamo, je odvisna od snovi v sistemu ter je sorazmerna s prejeto toploto in obratno sorazmerna z maso sistema. To lahko strnemo v izraz: $Q = m \cdot Cp \cdot \Delta T$. Cp je specifična toplota. To je toplota, ki pri stalnem tlaku segreje 1 kg snovi za 1 K. Je lastnost snovi, zato ima vsaka snov drugačno vrednost specifične toplote. Te vrednosti lahko preberemo iz razpredelnic, v katerih so nam podani podatki za različne snovi. Enota za specifično toploto je $\frac{\text{J}}{\text{kg} \times \text{K}}$. Voda ima specifično toploto $4200 \frac{\text{J}}{\text{kg} \times \text{K}}$. Oznaka m predstavlja maso sistema, ΔT pa razliko med končno in začetno temperaturo.

Izkoristek bojlerja predstavlja kvocient oddane toplote in stroju dovedenega električnega dela. (Mohorič & Babič, 2013, p. 95 – 121)

Poznamo snovi, ki dobro prevajajo toplotni tok, to so toplotni prevodniki (npr. kovina). Nekatere snovi pa slabo prevajajo toplotni tok, to so toplotni izolatorji (npr. plastika, papir, pluta, slama ...). Prenos toplote je odvisen tudi od vrste posode in materiala, iz katerega je izdelana. (Petrovec, et al., brez datuma) (Prosenc, 2016)

Pri raziskovalnem delu smo uporabili tudi naslednje enačbe:

$$Q = m \times c \times \Delta T$$

Specifična toplota vode:

$$c = 4200 \frac{\text{J}}{\text{kg} \times \text{K}}$$

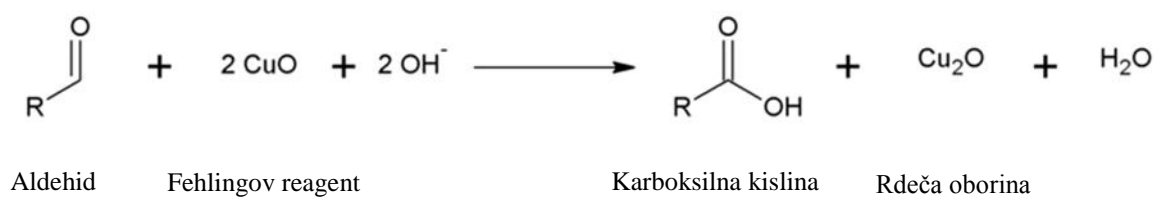
Sprememba temperature:

$$\Delta T = \frac{Q}{m \times c}$$

Osnovna enota za energijo je joule [J]. Uporablja pa se tudi enota kilovatna ura, predvsem pri ponudnikih električne energije. Ta enota je enaka 3,6 MJ energije. 1 kWh dobimo pri množenju moči [kW] in časa [h]. Ta vrednost ustreza delu, ki ga opravi porabnik z močjo 1 kW v času 1 ure. (Anon., 2016) (Packer, 2011)

2.8 Fehlingov reagent

Fehlingov reagent je raztopina bakrovega sulfata in kalijeve ter natrijeve soli vinske kisline. Raztopina bakrovega sulfata je modre barve in tudi Fehlingov reagent se po dodatku te raztopine obarva modro. Če so v vzorcu, ki mu dodamo Fehlingov reagent, prisotne aldoze (v to skupino spada tudi glukoza), pride do redukcije bakrovih (2+) ionov v bazičnem mediju v dibakrov oksid, ki je oranžne do opečnato rdeče barve. (Čeh & Dolenc, 2011)



Slika 5: Enačba za dokazovanje prisotnosti aldoze v vzorcu (http://blogs.osc-ib.com/wp-content/uploads/2010/03/800px-Fehling_test1.png, dostop: 19. januar 2016)

Priprava reagenta:

Fehlingov reagent: pripravimo ga neposredno pred uporabo z mešanjem dveh raztopin.

Fehlingov reagent I: 7,0 g bakrovega sulfata pentahidrata v 100 mL vode. Raztopino nakisamo z 2 kapljicama konc. žveplove kisline.

Fehlingov reagent II: 12 g natrijevega hidroksida in 34 g kalij natrijevega tartrata v 100 mL vode. (Čeh & Dolenc, 2011)

2.9 Gojišče za mikrobiološki pregled sokov

Gojišča so vodne raztopine snovi, ki jih določen mikroorganizem potrebuje za rast. Poznamo različne vrste gojišč za bakterije, ki jih delimo glede na trdoto (tekoča, poltrda in trda), sestavo (naravna, sintetična in polsintetična) in uporabnost (osnovna gojišča, obogatena gojišča, bogatitvena gojišča,...) . Za pripravo trdih gojišč se doda 1–2 % agarja. Agar-agar je polisaharid iz galaktoze in galakturonske kisline, ki ga pridobivajo iz določenih vrst rdečih morskih alg. V mrzli vodi nabrekne, pri 100 °C se popolnoma raztopi in preide v koloidno stanje soli. Pri 40 °C preide v stanje gela. Agar je dobro odporen proti encimski razgradnji, zato ostaja njegova sestava enaka oziroma ga le redke bakterije hidrolizirajo. (Zalar & Turk, 2012, p. 13)

Priprava gojišča: Petrijevke je potrebno pred vlivanjem gojišča sterilizirati. To lahko storimo na dva načina: mokro (121 °C, tlak 3 bari v avtoklavu) ali suho (250 °C v sušilniku za tri ure). Petrijevke opremimo s kontrolnimi lističi, ki nam povedo, ali so sterilizirane. Prašek za pripravo gojišča raztopimo z vodo v sterilizirani erlenmajerici, in to 15 minut avtoklaviramo, nato pa znižamo temperaturo na 40 °C. Zatem lahko v sterilnem okolju vlijemo tekoči agar v petrijevke. (Zalar & Turk, 2012) (Predin, 1993)

2.10 Laboratorijski pripomočki

2.10.1 Merilniki Vernier

Pri našem eksperimentalnem delu smo uporabljali merilnike Vernier za O₂, temperaturo in pH. Pri vseh meritvah smo uporabljali računalnik, povezan z vmesnikom, na katerega je bil priključen merilnik.

2.10.1.1 Merilnik kisika

Senzor za kisik meri koncentracijo kisika v zraku in je temperaturno zanesljiv za uporabo v različnih okoljih oziroma prostorih. Merilnik ima širok merilni spekter, ki zagotavlja možnost uporabe pri preučevanju človeka in celičnega dihanja. Skupaj s senzorjem je tudi 250-mililitrska plastenka, ki jo s senzorjem popolnoma zapremo pred zunanjimi vplivi. Na ta način lahko senzor skupaj s posodo uporabimo za opazovanje porabe kisika pri rjavenju kovin ali za nadzor fotosinteze rastlin oziroma dihanja manjših živali, kot so na primer različne žuželke. Merilnik je uporaben pri različnih bioloških in kemijskih poskusih, vendar

moramo biti pozorni, da z njim merimo zgolj kisik v zraku in ne kisika, ki je prisoten v različnih tekočinah. (Vernier, brez datuma)



Slika 6: Merilnik kisika s posodico (<http://www.vernier.com/products/sensors/o2-bta/>, dostop: 18. januar 2016)

2.10.1.2 Merilnik temperature

Senzor za merjenje temperature površin ima na površju termostat, ki ima zelo hiter odzivni čas glede na temperaturne spremembe v okolici. Uporaben je za merjenje telesne temperature. Merilnik je namenjen za uporabo v zraku in tudi v vodi. Za merjenje v ostrejših okoljih, ki zahtevajo trpežnejšo opremo, je priporočena uporaba kvalitetnejšega merilnika. (Vernier, brez datuma)



Slika 7: Merilnik temperature (<http://www.vernier.com/products/sensors/temperature-sensors/sts-bta/>, dostop: 18. januar 2016)

2.10.1.3 Merilnik za pH

Namembnost senzorja pH je enaka kot navadnih indikatorjev pH z razliko, da ima ta merilnik avtomatsko zbiranje in analizo podatkov ter sam s pomočjo računalnika izrisuje graf meritev. Merilnik lahko uporabljamo ob vseh tipičnih poskusih, ki zahtevajo preverjanje kislosti oziroma bazičnosti snovi, kot so na primer kislinsko-bazna titracija, preučevanje domačih kislin in baz, spremljanje sprememb pH pri kemijskih reakcijah, raziskovanje kislega dežja ali analiza kvalitete vode v rekah, jezerih in potokih. Merilnik pH je primeren za uporabo v več disciplinah: kemiji, biologiji, naravoslovju in okoljskih znanostih. (Vernier, brez datuma)



Slika 8: Merilnik za pH (<http://www.vernier.com/products/sensors/ph-sensors/ph-bta/>, dostop: 18. januar 2016)

3 PRAKTIČNI DEL

3.1 Metode raziskovanja

3.1.1 Izdelava soka

Naše raziskovalno delo se je začelo z izdelavo dveh jabolčnih sokov. Prvi izmed teh je bil sok za katerega smo uporabili jabolka jonagold iz integrirane pridelave v sadjarstvu Krepfl iz Rač. Drugi sok smo izdelali iz jabolk sorte bobovec, ki niso bila škropljena in so domače pridelave iz Orehove vasi.



Slika 9: Jabolka jonagold (avtor raziskovalne naloge)



Slika 10: Jabolka bobovec (avtor raziskovalne naloge)

Pri obeh vrstah jabolk smo uporabili enak način stiskanja soka. Jabolka smo oprali, jim odstranili muho, pecelj in seme ter jih narezali, nato pa iz njih s pomočjo sokovnika iztisnili

sok. Sok smo 3-krat precedili pred kuhanjem in še 1-krat po kuhanju. Jabolčni sok smo 15 – 20 minut kuhali pri približno 80 – 85 °C. Medtem smo v pečici na 20 – 25 minut na 110 °C pasterizirali steklenice in pokrovčke. Nato smo sok prelili v steklenici in ga pustili na sobni temperaturi, da se ohladi.



Slika 11: Stiskanje soka s sokovnikom (avtor raziskovalne naloge)



Slika 12: Sok pred kuhanjem (avtor raziskovalne naloge)



Slika 13: Kuhanje soka (avtor raziskovalne naloge)



Slika 14: Končni produkt v steklenici (avtor raziskovalne naloge)

3.1.2 Eksperimentalno delo – biologija

3.1.2.1 Vrenje vzorcev različnih jabolčnih sokov

Drugi del našega raziskovalnega dela je potekal v obliki eksperimentalnega dela, kjer smo vzorce različnih sokov skupaj s kvasovkami nastavljali vrenju. Za vsak vzorec smo uporabili enak postopek. Tako smo lahko ugotavljali, kakšna je sprememba temperature in količine kisika v posodi s sokom, ki vre. V posodo z dvojno steno smo nalili 100 ml vode (v vseh posodah je bila začetna temperatura približno enaka), v posodo z eno odprtino za merilnik kisika Vernier pa smo nalili 50 ml soka (vzorca), ki smo mu dodali 0,6 g kvasovk. Nato smo posodo z vzorcem postavili v posodo z vodo. Merilnike za temperaturo in O₂ smo povezali z vmesnikom Vernier in računalnikom. Merilnik za temperaturo smo dali v vodo, z merilnikom za O₂ pa smo zaprli odprtino na posodi s sokom. Nato smo s pomočjo parafilma začepili vrh posode z vodo, da bi bilo izhajanje toplote čim manjše. Sprožili smo meritev za čas najmanj 24 ur. V programu Logger Pro se je izrisaval graf spremembe temperature in količine kisika za izbrano časovno obdobje. Zatem smo odstranili parafilm in vzorec prelili v stekleničko, ga označili in spravili v hladilnik, ostalo opremo pa pospravili in umili. Grafe smo shranili in jih analizirali. Iz podatkov ob grafu smo odčitali čas, ki je bil potreben, da se je koncentracija kisika v posodi zmanjšala za 12 % glede na začetno koncentracijo kisika v posamezni posodi. Izračunali smo največjo spremembo temperature (glede na začetno temperaturo) in čas, ki je bil potreben, da se je temperatura za toliko spremenila. Nato pa smo to delili in dobili spremembo temperaturo na minuto.



Slika 15: Nastavljen poskus dveh vzorcev hkrati z merilnikoma temperature in kisika povezanim z vmesnikom Vernier (v ozadju) in računalnikom (desno) (avtor raziskovalne naloge)

3.1.2.2 Mikrobiološki pregled sokov

Hranilno gojišče je bilo pripravljeno po postopku, opisanem v poglavju 2.9. Nato smo delovno površino razkužili s 70 % etanolom in zrak razkužili z gorilnikom. Sterilizacija je postopek, s katerim uničimo ali odstranimo vse žive mikroorganizme. (Zalar, 2012) To smo naredili s pomočjo razkuževanja (dezinfekcijskih sredstev) in gorilnikov. Nato smo s pomočjo mikropipete in zamenljivih nastavkov prenesli 1 mL vzorca soka na gojišče, spodnji del petrijevke pokrili z zgornjim in razmazali s spatulo da je bil sok razporejen po celotnem gojišču. Gojišča smo inkubirali v inkubatorju pri 35 °C 7 dni (od 4. do 11. novembra 2015) in jih fotografirali ob začetku in zaključku.

3.1.3 Kemična analiza

Pri kemični analizi vzorcev, tj. soka pred vrenjem in po njem, smo se posluževali treh različnih načinov oziroma poskusov. Vsi trije so opisani v nadaljevanju naloge.

3.1.3.1 Titracija

Za izvedbo kislinsko-bazne titracije smo potrebovali pipeto, erlenmajerico, bireto in indikator. Kot indikator smo uporabili fenolftalein. Ta nam pomaga najti ekvivalentno točko, prostornino NaOH, ki je nevtralizirala naš vzorec. V tej točki se barva indikatorja spremeni.

Postopek: S pomočjo čaše in lija nalijemo v bireto raztopino z znano koncentracijo (standardno raztopino) – v našem primeru natrijev hidroksid. Nato s pipeto prenesemo 10 mL vzorca v erlenmajerico in dodamo 3 kapljice indikatorja fenolftaleina. Nato titriramo do prve opazne in obstojne spremembe barve vzorca. Ta postopek smo ponovili z vsemi vzorci.

3.1.3.2 Fehlingov reagent

Fehlingov reagent, pripravljen po postopku, opisanem v poglavju 2.7, smo uporabili za preverjanje prisotnosti glukoze v začetnih sokovih in končnih produktih vrenja. Na steklokeramično ploščo nad gorilnikom smo postavili dve čaši z vodo. Nato smo 2 mL vzorca prenesli v epruveto, dodali 6 – 7 kapljic Fehlingovega reagenta, premešali in jih dali v vodno kopel. Nato smo opazovali, ali se bo barva raztopin spremenila v oranžno-opečnato rdečo. Ugotovili smo, da je glukoza prisotna v vseh vzorcih. Torej tudi vrenje ni spremenilo tega ne glede na to, da so glive kvasovke glukozo porabljale v procesu alkoholnega vrenja.

3.1.3.3 Določanje skupne žveplaste kisline (SO₂)

Vsebnost SO₂ v sokovih in vzorcih po alkoholnem vrenju smo določili s pomočjo kompleta VINI. V epruveto s skalo za merjenje skupnega SO₂ smo dolili vzorec do oznake, tako da se je spodnji del meniska dotikal črne črte. Dodali smo reagent VINI 5 (4 % NaOH) in nato počakali 10 minut. Sledilo je dodajanje reagenta VINI 2 (16 % žveplova kislina H₂SO₄) do označene črte in reagenta VINI 4 (2 % škrobovica) do začetka skale. Nato smo valj začepili s palcem in vsebino premešali. Zadnji korak je bila titracija z reagentom VINI 3 (0,2 % kalijev jodid KI) do vijoličnega obarvanja vzorca. Na koncu smo odčitali vrednost skupnega SO₂, podano v mg/L. (Podjetje za agrarna proučevanja, brez datuma)

3.1.3.4 Določanje vrednosti pH

Vsem jabolčnim sokovom smo pred in po vrenju določili tudi vrednost pH. To smo storili z Vernierjevim merilnikom za pH.

3.1.4 Fizikalni del

Po vrenju vseh vzorcev jabolčnih sokov in kemični analizi vseh vzorcev smo naredili še nekaj fizikalnih izračunov, kot je na primer sprememba temperature. Vsi izračuni so v poglavju z rezultati.

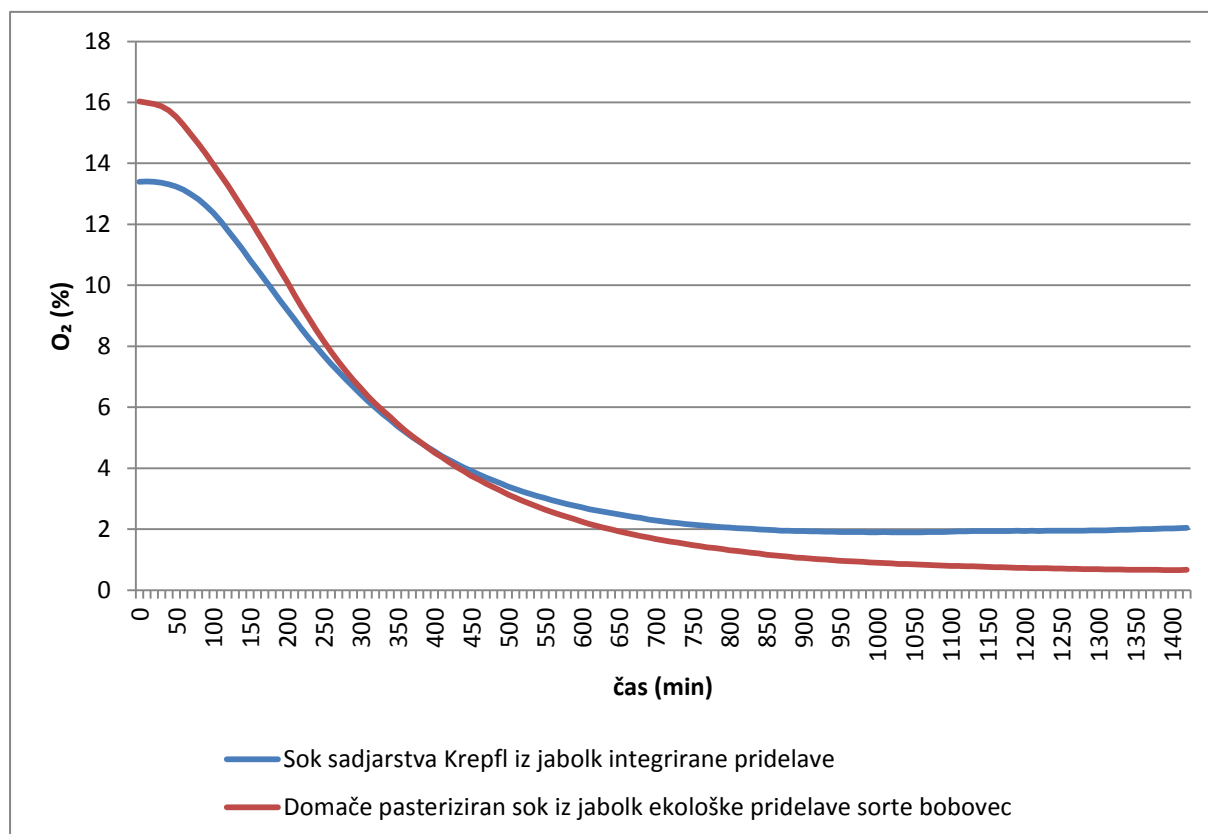
3.2 Rezultati

3.2.1 Eksperimentalno delo – biologija

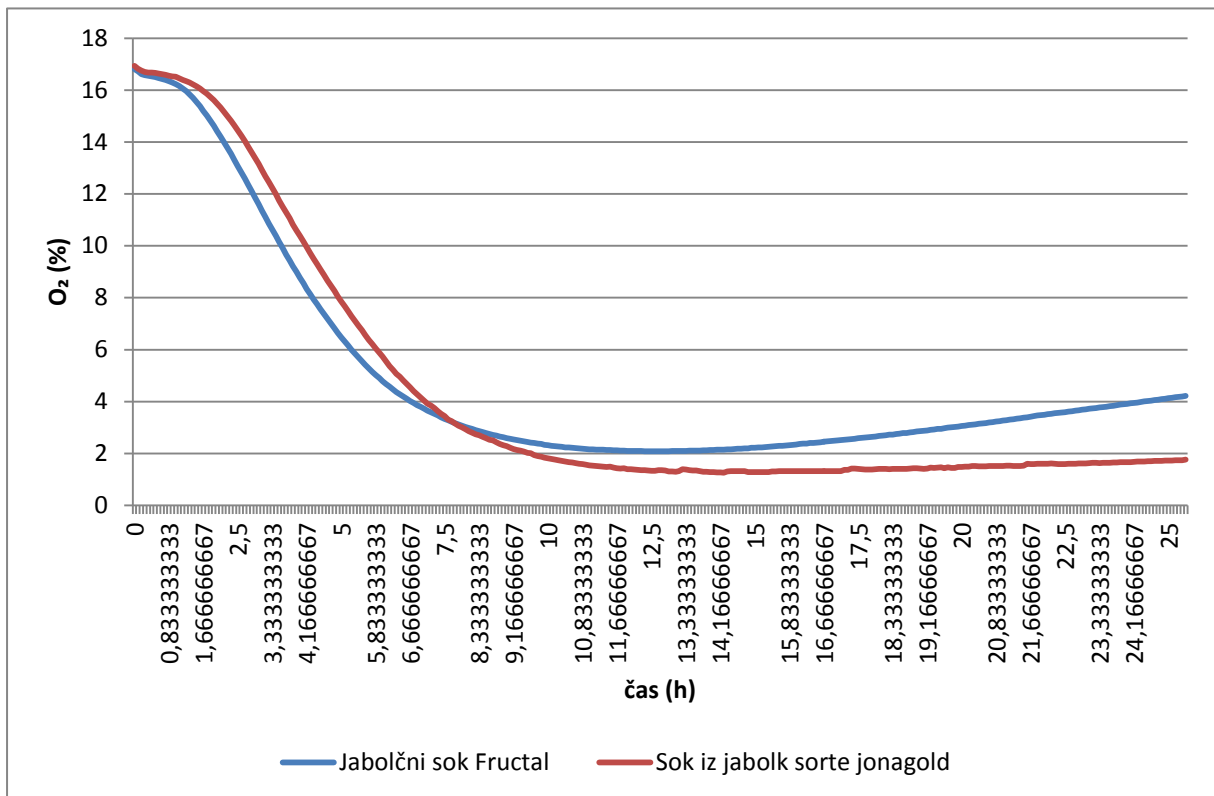
3.2.1.1 Vrenje vzorcev različnih jabolčnih sokov

Sprememba količine kisika in temperature vode med vrenjem vzorcev je predstavljena v naslednjih grafih. Zaradi lažje primerjave in boljše preglednosti sta na vsakem izmed grafov po dva vzorca.

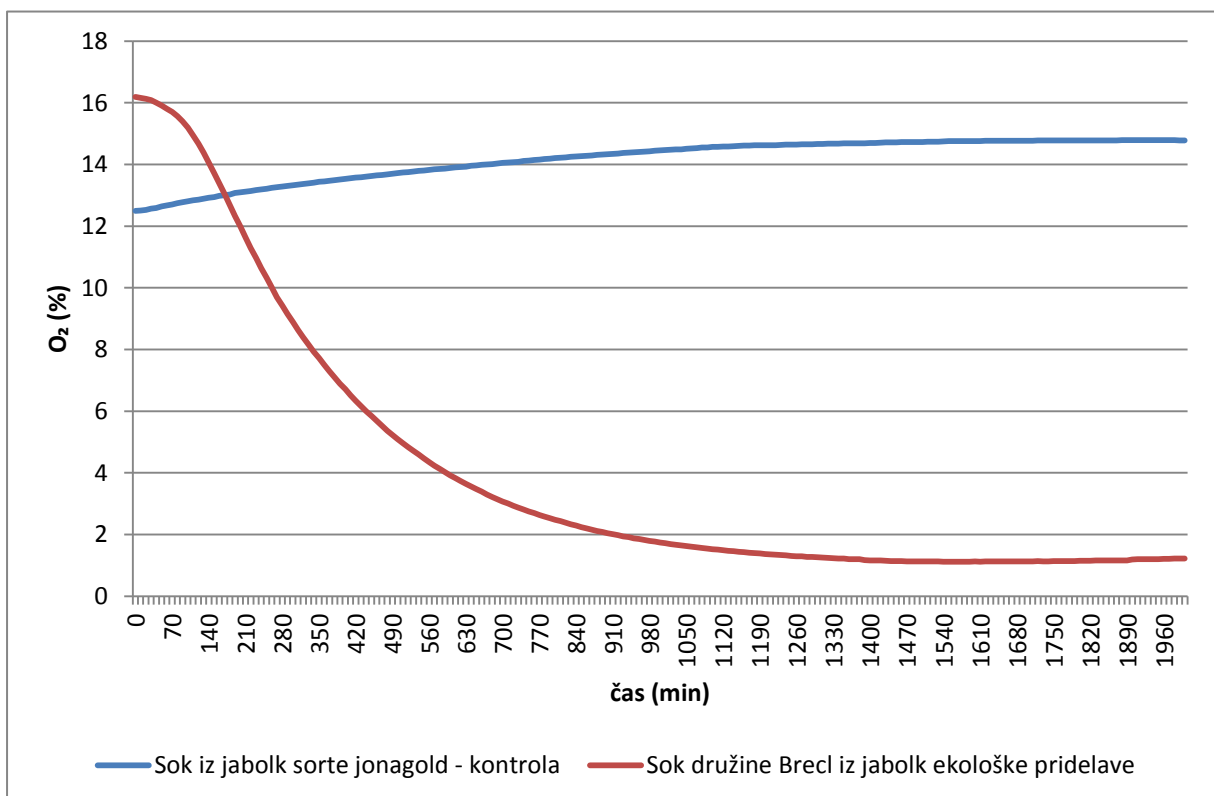
Graf 1: Primerjava količine porabljenega kisika med vrenjem v soku sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave in domačem pasteriziranem soku iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec



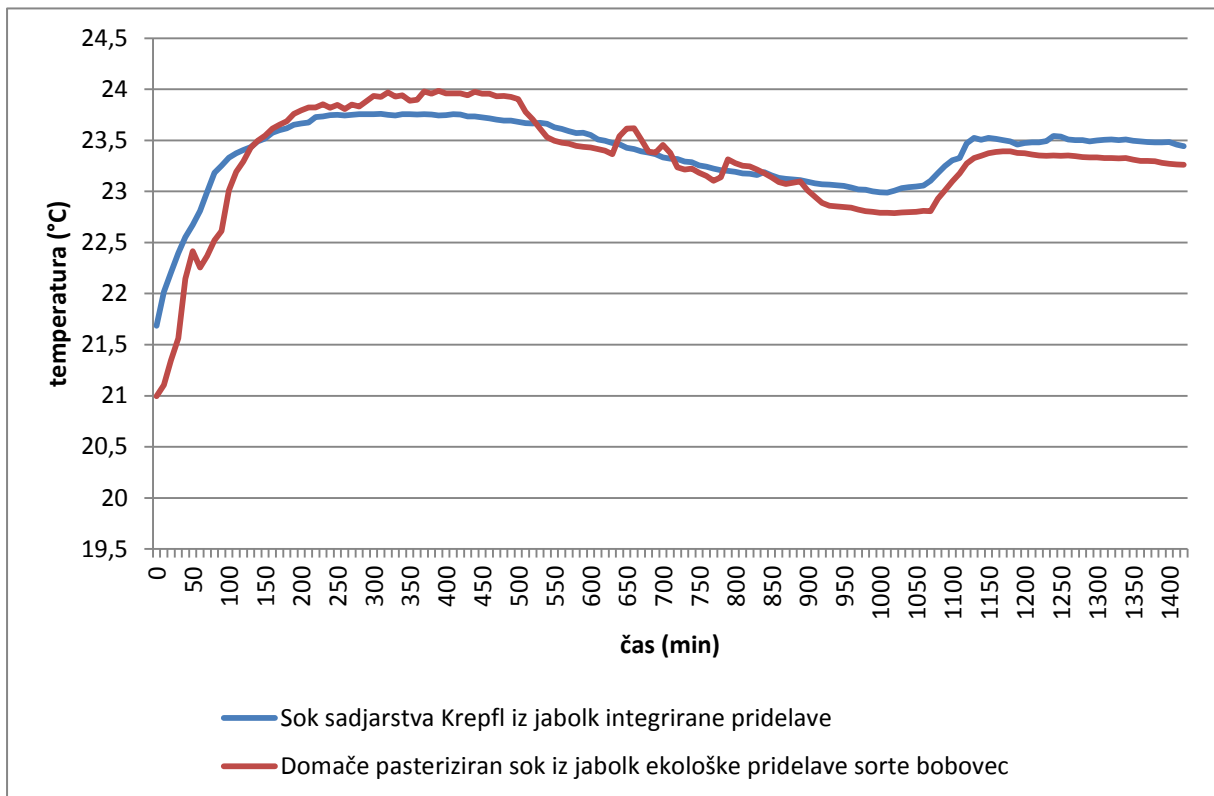
Graf 2: Primerjava porabljene količine kisika med vrenjem v jabolčnem soku Fructal in soku iz jabolk sorte jonagold



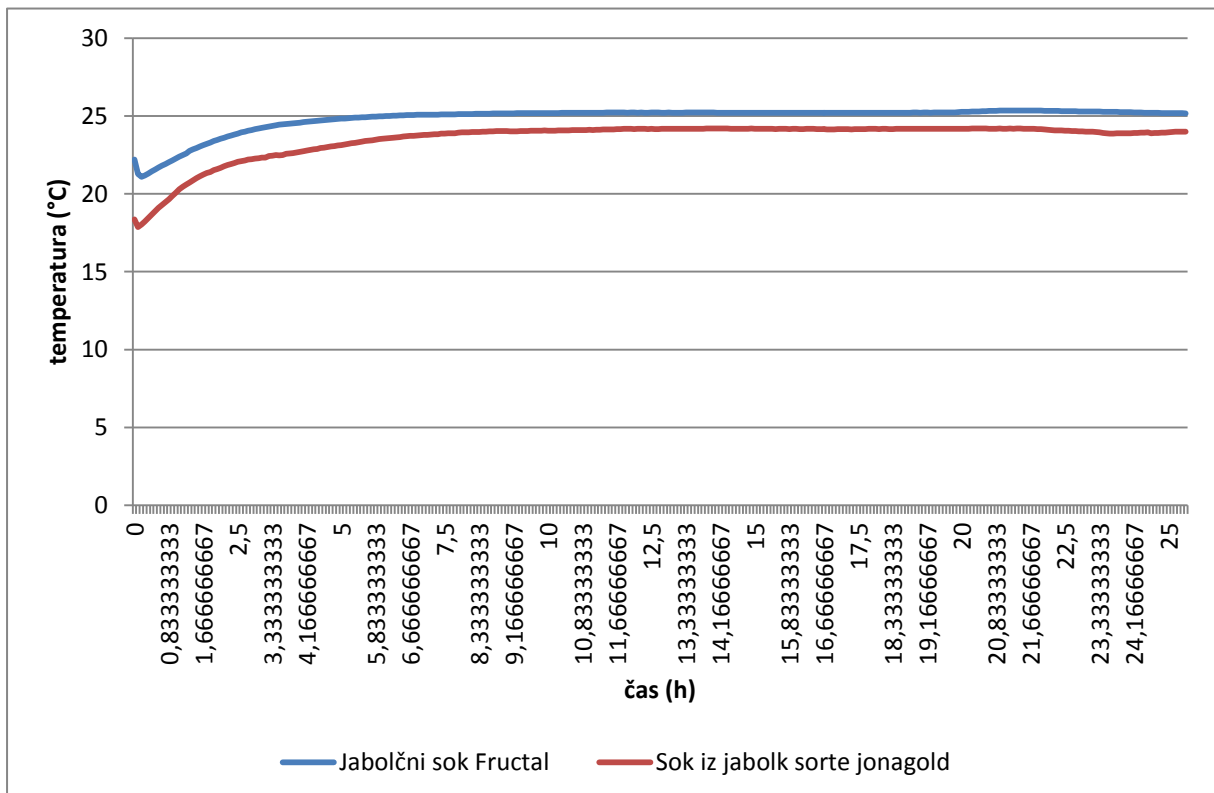
Graf 3: Primerjava porabljene količine kisika med vrenjem v soku iz jabolk sorte jonagold (brez kvasovk) in soku družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave



Graf 4: Primerjava spremembe temperature vode med vrenjem pri soku sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave in domačem pasteriziranem soku iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec



Graf 5: Primerjava spremembe temperature vode med vrenjem pri jabolčnem soku Fructal in soku iz jabolk sorte jonagold



Graf 6: Primerjava spremembe temperature vode med vrenjem pri soku družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave in soku iz jabolk sorte jonagold (brez kvasovk)

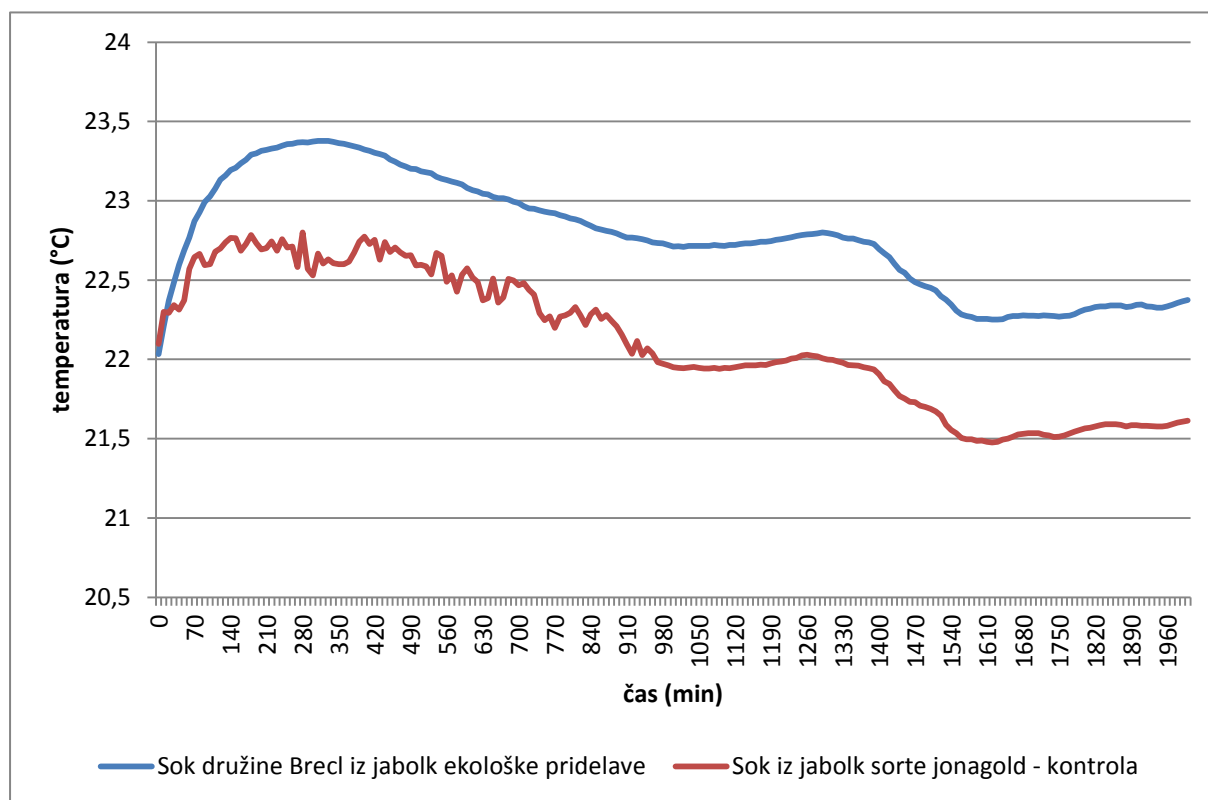


Tabela 2: Čas, ki je bil potreben, da se je koncentracija kisika med vrenjem zmanjšala za 12 %

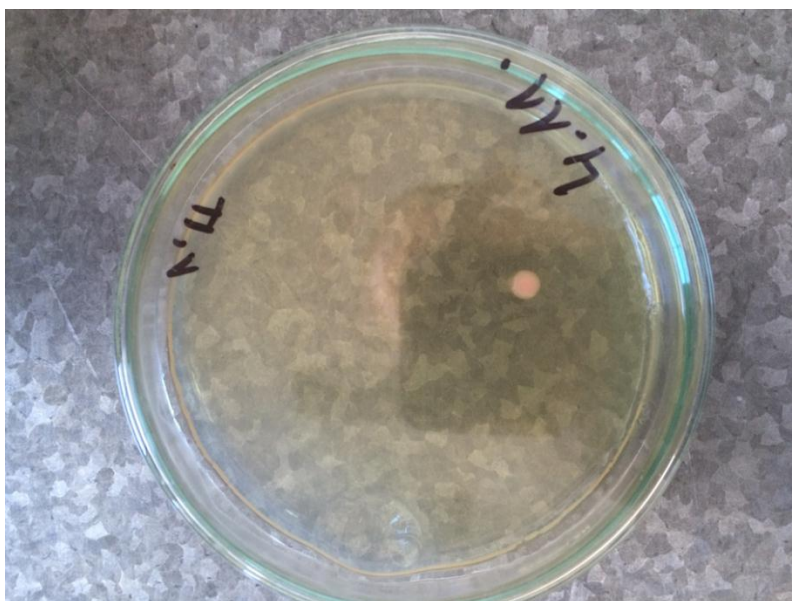
Vzorec	Čas [min]	Opombe
Domači pasterizirani sok iz jabolk sorte jonagold	610	
Jabolčni sok Fructal	530	
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave	670	Sprememba je bila le 11,5 %.
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec	430	
Domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort	580	

Tabela 3: Najvišja sprememba temperature vode v podanem času in izračunana hitrost te spremembe med vrenjem

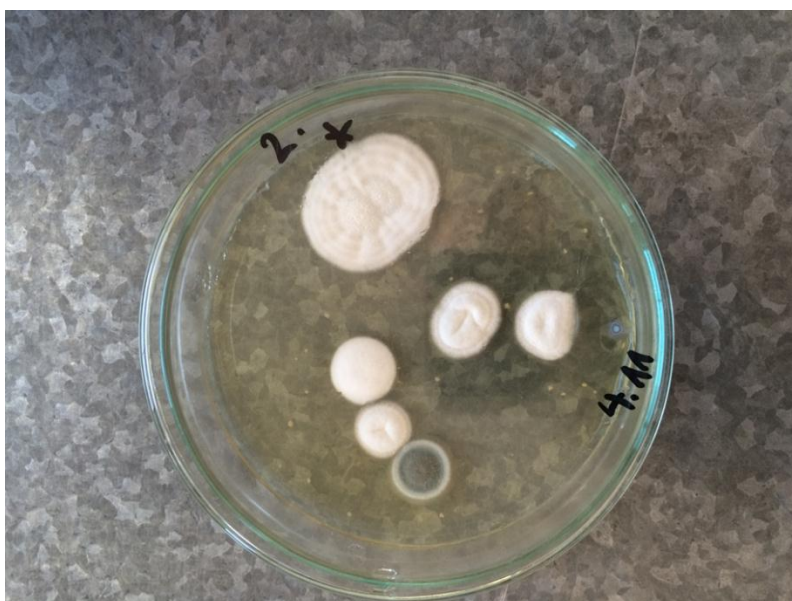
Vzorec	Sprememba temperature [°C]	Čas [min]	Hitrost $\left[\frac{^{\circ}\text{C}}{\text{min}}\right]$
Domači pasterizirani sok iz jabolk sorte jonagold	4,5	320	0,0141
Jabolčni sok Fructal	3,4	500	0,0068
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave	2,1	280	0,0075
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec	3	320	0,0094
Domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort	1,4	250	0,0056

3.2.1.2 Mikrobiološki pregled sokov

Eno izmed gojišč smo pustili brez vzorca in zaprto ter tako izvedli kontrolni poskus, da v gojiščih ni bilo mikroorganizmov. Rezultati kažejo, da se niso razvile bakterije, temveč glive na vzorcih domačega pasteriziranega soka iz jabolk sorte jonagold (1 kolonija gliv), soka sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave (pojavi se je 6 kolonij gliv) in jabolčnega soka Fructal (1 kolonija gliv). Le na gojiščih z domačim pasteriziranim sokom iz jabolk sorte bobovec in domačem pasteriziranim soku družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort ni prišlo do razvoja gliv ali mikroorganizmov. Glive in mikroorganizmi so lahko vplivali na potek alkoholnega vrenja.



Slika 16: Vzorec jabolčnega soka Fructal na hranilnem gojišču ob koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge)



Slika 17: Vzorec soka iz sadjarstva Kreplj iz jabolk integrirane pridelave na hranilnem gojišču ob koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge)



Slika 18: Vzorec domačega pasteriziranega soka iz jabolk sorte jonagold na hranilnem gojišču ob koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge)



Slika 19: Vzorec domačega pasteriziranega soka jabolk sorte bobovec na hranilnem gojišču po koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge)



Slika 20: Vzorec domačega pasteriziranega soka družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort na hranilnem gojišču po koncu preverjanja prisotnosti mikroorganizmov (avtor raziskovalne naloge)

3.2.2 Kemična analiza

3.2.2.1 Titracija

Tabela 4: Titrirani vzorci jabolčnih sokov različne pridelave in njihove lastnosti

Vzorec	Volumen porabljenega NaOH (mL)	Jabolčna kislina (%)	Jabolčna kislina (g/L)
Domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	12,2	0,8174	8,174
Domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort po vrenju	11	0,737	7,37

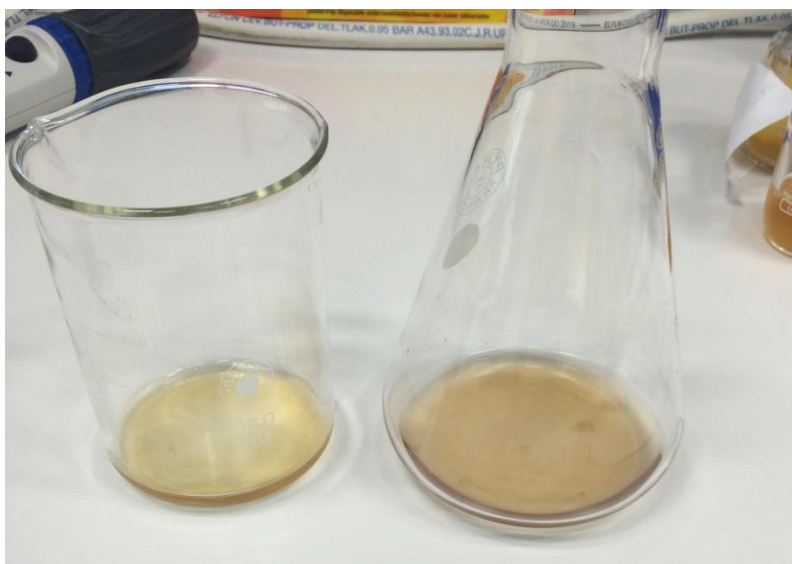
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	4,8	0,3216	3,216
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave po vrenju	7,8	0,5226	5,226
Jabolčni sok Fructal pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	5,1	0,3417	3,417
Jabolčni sok Fructal po vrenju	5	0,335	3,35
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	16,2	1,0854	10,854
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec po vrenju	5,4	0,3618	3,618
Domači pasterizirani sok iz jabolk sorte jonagold pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	3,9	0,2613	2,613
Sok iz jabolk sorte jonagold po vrenju in brez dodanih kvasovk (kontrolni)	7,2	0,4824	4,824
Domači pasterizirani sok iz jabolk sorte jonagold po vrenju	8,85	0,59295	5,9295



Slika 21: Primerjava med titriranim (desno) in netitriranim (levo) vzorcem soka sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave (avtor raziskovalne naloge)



Slika 22: Primerjava med titriranim (levo) in netitriranim (desno) vzorcem domačega pasteriziranega soka iz jabolk ekološke pridelave (avtor raziskovalne naloge)



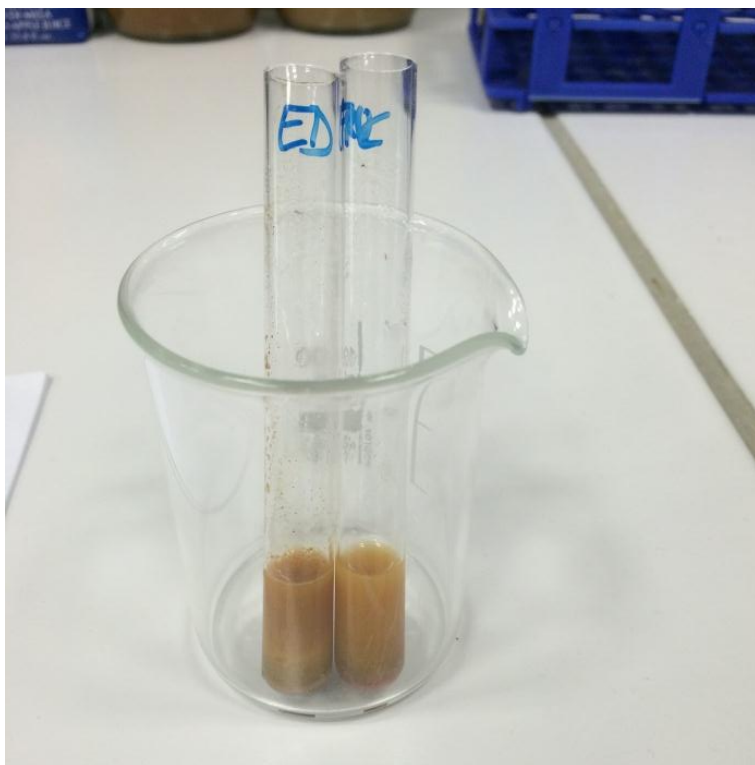
Slika 23: Primerjava med titriranim (desno) in netitriranim (levo) kontrolnim vzorcem soka iz jabolk sorte jonagold (avtor raziskovalne naloge)

3.2.2.2 Fehlingov reagent

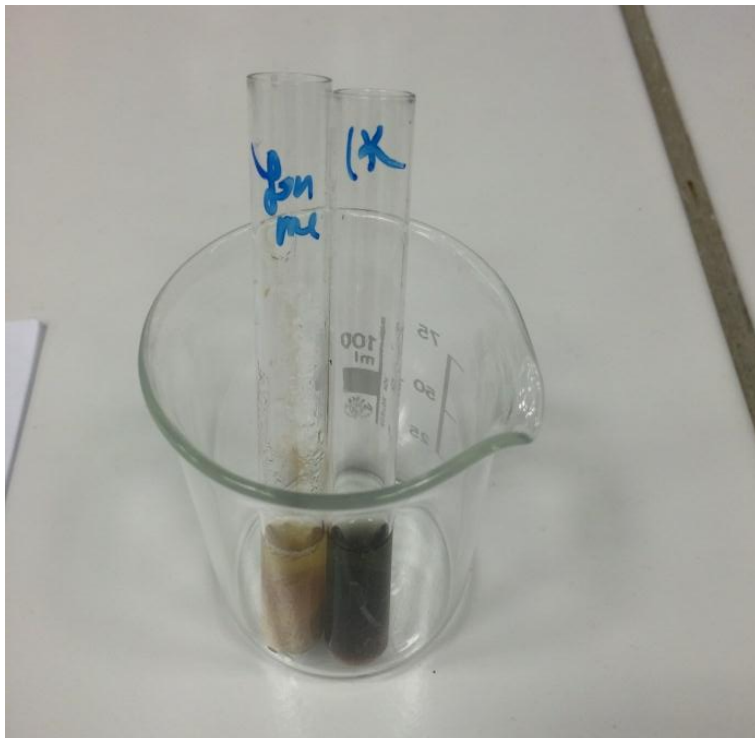
S Fehlingovim reagentom smo dokazali, da je glukoza prisotna v vseh vzorcih.



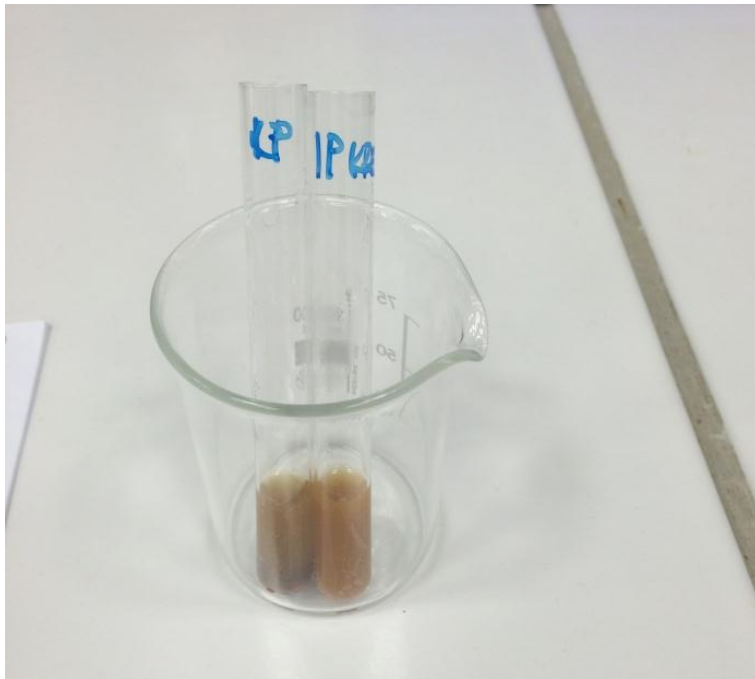
Slika 24: Reakcija s Fehlingovim reagentom soka iz jabolk sorte jonagold (levo) in domačim pasteriziranim sokom družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort (desno) – oboje po koncu reakcije (avtor raziskovalne naloge)



Slika 25: Reakcija s Fehlingovim reagentom domačega pasteriziranega soka iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec (levo) in jabolčnega soka Fructal (desno) – oboje po koncu reakcije (avtor raziskovalne naloge)



Slika 26: Reakcija s Fehlingovim reagentom povretega soka iz jabolk sorte jonagold po koncu reakcije (levo) in soka sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave pred začetkom (desno) (avtor raziskovalne naloge)



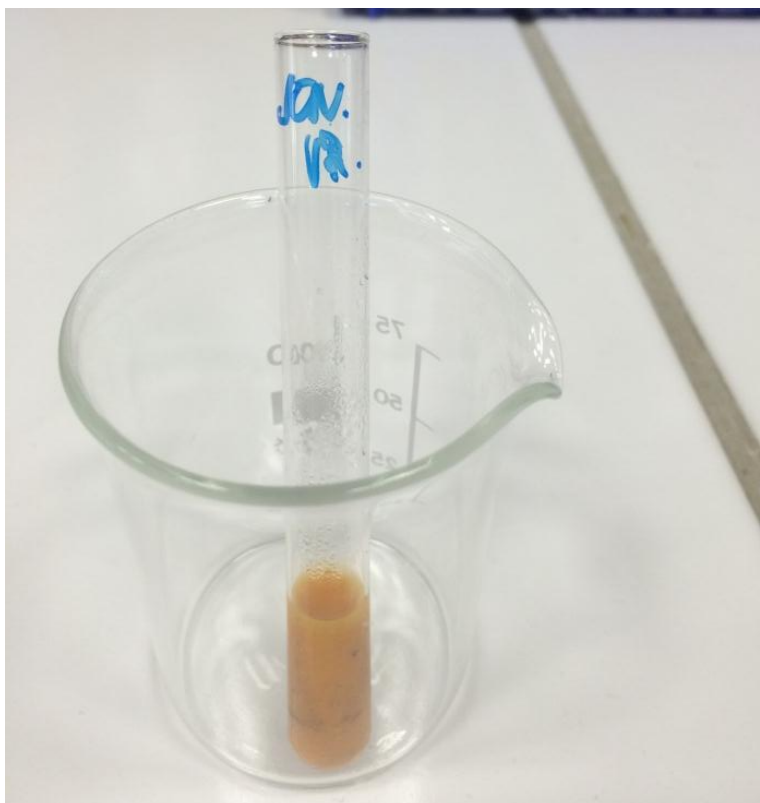
Slika 27: Reakcija s Fehlingovim reagentom kontrolnega poskusa (levo) in povretega soka sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave – oboje po koncu reakcije (desno) (avtor raziskovalne naloge)



Slika 28: Reakcija s Fehlingovim reagentom povretega jabolčnega soka Fructal (levo) in povretega soka iz jabolk ekološke pridelave bobovec (desno) – oboje po koncu reakcije (avtor raziskovalne naloge)



Slika 29: Reakcija s Fehlingovim reagentom kontrolnega poskusa soka iz jabolk sorte jonagold (levo) – po reakciji in domačega pasteriziranega soka družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort (desno) – pred reakcijo (avtor raziskovalne naloge)



Slika 30: Reakcija s Fehlingovim reagentom povretega soka jabolk sorte jonagold – po koncu reakcije (avtor raziskovalne naloge)

3.2.2.3 Določanje skupne žveplaste kisline (SO₂)

Tabela 5: Rezultati določanja skupne žveplaste kisline po vzorcih jabolčnih sokov

Vzorec	Skupni SO ₂ [$\frac{\text{mg}}{\text{L}}$]
Sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	20
Sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave po vrenju	20
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	16
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave po vrenju	13
Jabolčni sok Fructal pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	104
Jabolčni sok Fructal po vrenju	135
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	20
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec po vrenju	20
Sok iz jabolk sorte jonagold pred vrenjem (brez dodanih kvasovk)	16
Sok iz jabolk sorte jonagold po vrenju in brez dodanih kvasovk (kontrolni)	19

3.2.2.4 Določanje vrednosti pH

Tabela 6: Rezultati določanja vrednosti pH po vzorcih jabolčnih sokov

Vzorec	pH
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec	3,91
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec po vrenju	4,06
Domači pasterizirani sok iz jabolk sorte jonagold pred vrenjem	4,43
Domači pasterizirani sok iz jabolk sorte jonagold po vrenju	4,3
Domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort pred vrenjem	4,03
Domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort po vrenju	4,12
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave pred vrenjem	4,47
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave po vrenju	4,3
Jabolčni sok Fructal pred vrenjem	4,36
Jabolčni sok Fructal po vrenju	4,22

3.2.3 Fizikalni del

Tabela 7: Toplota, ki se je sprostila pri vrenju 50 g in 200 kg soka ter specifična toplota vrenja (q)

Vzorec	Q [kJ] (50 g)	Q [MJ] (200 kg)	q [kJ/kg]
Domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort	0,588	2,35	11,8
Jabolčni sok Fructal	2,27	9,07	45,4
Domači pasterizirani sok iz jabolk sorte jonagold	1,92	7,66	38,3
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec	3,07	12,3	61,5
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave	3,14	12,5	62,5

V drugem stolpcu so podani podatki za toploto, ki jo je 50 g soka pri vrenju oddalo v 100 g vode, v tretjem stolpcu pa so podatki za toploto, ki se sprosti pri vrenju 200 kg soka, in v četrtem stolpcu so podatki za toploto, ki se sprosti pri vrenju na enoto mase soka. Simbol q predstavlja specifično toplotu vrenja, to je toploto, ki se sprosti glede na maso soka, ki vre.

Zanimalo nas je, ali bi pri vrenju sproščeno toploto lahko uporabili za segrevanje vode v srednje velikem bojlerju (50 L) (Anon., 2015). S pomočjo podatkov iz prve tabele smo v tretjem stolpcu izračunali, koliko posameznega soka bi potrebovali, da bi se voda v bojlerju segrela s 15 °C na 75 °C (to vrednost proizvajalec navaja kot delovno temperaturno območje bojlerja). Količino energije, ki jo potrebujemo, da vodo segrejemo za 60 °C, smo delili z vrednostmi iz tretjega stolpca Tabele 1. Energijo, ki jo za to segrevanje potrebujemo, smo izračunali s formulo:

$$\frac{50 \text{ kg} \times 4200 \frac{\text{J}}{\text{kg} \times \text{K}}}{60 \text{ K}} = 12,6 \text{ MJ}.$$

Tabela 8: Sprememba temperature pri segrevanju 50 kg vode in masa soka, ki je potrebna za segrevanje 50 kg vode s 15 °C na 75 °C

Vrsta soka (200 kg)	Sprememba temperature pri segrevanju 50 kg vode [°C]	Masa soka, ki bi morala zavreti, da bi se 50 kg vode segrelo s 15 °C na 75 °C [kg]
Domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort	11,2	1068
Jabolčni sok Fructal	43,2	277
Domači pasterizirani sok iz jabolk sorte jonagold	36,5	329
Domači pasterizirani sok iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec	58,6	205
Sok sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave	59,5	202

Drugi stolpec prikazuje spremembo temperature 50 kg vode, ki bi jo segrevali s toploto, sproščeno pri vrenju 200 kg soka. V tretjem stolpcu pa so zbrani podatki o masi soka, ki bi jo potrebovali, da bi se voda v boilerju segrela s 15 °C na 75 °C.

4 RAZPRAVA

Z raziskovalnim delom smo dosegli cilje raziskovalne naloge, odgovorili na raziskovalni vprašani ter potrdili oziroma ovrgli hipoteze.

Hipoteza 1: Vrenje pri jabolčnih sokovih iz jabolk ekološke pridelave bo potekalo hitreje kot pri jabolčnih sokovih, ki niso ekološkega izvora (sprememba T/časovno enoto).

Po naših podatkih je koncentracija kisika v posodi najhitreje padla pri vrenju domačega pasteriziranega soka iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec. Za enak padec je bilo pri jabolčnem soku Fructal potrebnih 100 minut več. Nato sledi domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort, kjer je trajalo še dodatnih 50 minut za znižanje koncentracije kisika za 12 %. Nad 10 ur je bilo za enak spust nivoja kisika potrebno pri soku iz jabolk sorte jonagold in pri soku sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave. Torej se je največ CO₂ sprostilo pri vrenju domačega pasteriziranega soka iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec.

Iz Tabele 2 je razvidno, da je bila najhitrejša in največja sprememba temperature pri soku iz jabolk sorte jonagold, nato sledi hitrost spremembe pri vrenju domačega pasteriziranega soka iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec in nato še pri soku sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave. Najnižji vrednosti hitrosti spremembe temperature s časom sta bili pri jabolčnem soku Fructal in domačem pasteriziranem soku družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort.

Sklepamo, da naša hipoteza le deloma drži. Res je, da je bil pri soku iz jabolk ekološke pridelave sorte bobovec najhitrejši padec koncentracije kisika in druga najhitrejša sprememba temperature, kar potrjuje našo predpostavko, da vrenje poteka hitreje v sokovih iz jabolk ekološke pridelave kot v sokovih iz jabolk integrirane pridelave. Ne velja pa to za domači pasterizirani sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort, saj je bila hitrost spreminjanja temperature najnižja. Morda je prišlo pri tem vzorcu do uhajanja toplote iz posode. Ni mogoče izključiti tudi vpliva gliv, ki so se razvile (videno na slikah petrijevsk). Od koncentracije in vrste sladkorja v substratu je odvisna hitrost vrenja. Lahko, da je v domačem pasteriziranem soku družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort nižja

koncentracija glukoze, kar je vplivalo na hitrost vrenja in ga upočasnilo. (Kapun Dolinar, et al., brez datuma)

Ugotavljamo tudi, da imajo sokovi jabolk iz integrirane pridelave ne glede na podoben način pridelave različne hitrosti vrenja.

Hipoteza 2: Analiza vzorcev jabolčnih sokov različne pridelave pred vrenjem in po njem bo pokazala večje razlike med vzorci glede na njihov izvor oziroma način proizvodnje ali pridelave.

Tabela 2 prikazuje volumen porabljenega NaOH pri titraciji vzorcev. Če primerjamo vzorce istih sokov pred vrenjem in po njem opazimo, da so največje razlike nastale pri soku iz jabolk sorte bobovec, kjer se količina jabolčne kisline razlikuje za 7,236 g/L. Vrednost jabolčne kisline je dvakrat večja tudi v vzorcu soka iz jabolk jonagold po vrenju kot pred vrenjem. Pri ostalih treh sokovih se je vrednost le malo spremenila. Torej se je vrednost jabolčne kisline znatno spremenila pri dveh vzorcih, kar deloma potrjuje našo hipotezo, da bomo zaradi številnih produktov alkoholnega vrenja zaznali spremembe pri analizi.

Pri analiziranju količine skupne žveplaste kisline (skupni SO₂) v sokovih smo iz podatkov v Tabeli 4 ugotovili, da so spremembe v vzorcih soka iste vrste pred vrenjem in po njem majhne oziroma jih ni. Vsi vzorci tudi ne presegajo zakonsko dovoljene meje vsebnosti SO₂.

Razlik v vsebnosti enostavnih sladkorjev v vzorcih pred vrenjem in po njem ni pokazal tudi Fehlingov reagent. Kot je razvidno iz Slik 19 do 25, smo pri vseh vzorcih dobili pozitivno reakcijo na Fehlingov reagent.

Iz Tabele 4 je razvidno, da se je vrednost pH vzorcev istih sokov pred vrenjem in po njem le malo spremenila. Največja sprememba v vrednosti pH je pri soku sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave, najmanjša pa pri domačem pasteriziranem soku družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort pred vrenjem. Torej so se po vrednosti pH vzorci le malo spremenili.

Zadnji dve ugotovitvi pri poskusih določanja skupne žveplaste kisline in enostavnih sladkorjev nam kažeta, da je bilo naše predvidevanje v hipotezi napačno. Razlike pri vseh analizah so bile v vzorcih istega soka pred vrenjem in po njem pri večini sokov majhne, kar kaže, da večjih sprememb v kemijski sestavi sokov ni bilo. Predvidevamo pa, da bi po

daljšem času vrenja prišlo do večjih razlik v vrednostih analiz vzorcev pred vrenjem in po njem, saj se sčasoma pri vrenju razvije še več stranskih produktov ter tudi etanola, ki vplivajo na kemijsko sestavo končnega produkta. (Rajher, 2010)

Hipoteza 3: Vrenje vseh sokov ne bo proizvedlo dovolj energije, da bi jo lahko uporabili kot energetska vir.

Ugotovimo lahko, da bi se temperatura vode v bojlerju pri vseh sokovih znatno dvignila. Pri soku sadjarstva Krepfl iz jabolk integrirane pridelave, pri katerem se je sprostil največ energije, to predstavlja 3,47 kWh energije na 200 kg povretega soka, ki bi jo lahko privarčevali pri segrevanju vode. Glede na podatek, da 50-litrski bojler dnevno porabi 7,37 kWh elektrike (Anon., 2015), lahko sklepamo, da bi energija iz vrenja 200 kg soka zadoščala za dvodnevno delovanje bojlerja. Povedano drugače: v času vrenja soka bi lahko električni bojler izklopili za 2 dni, s tem pa bi prihranili približno 0,43 €. To pa bi bil le enkratni (letni) prihranek in finančni vložek za izdelavo sistema za pridobivanje energije iz vrenja sokov se nam ne bi povrnil. (Anon., brez datuma)

Opazna je razlika med toploto, ki se sprosti pri vrenju različnih sokov. Največ toplote se je sprostil pri vrenju soka iz domače integrirane pridelave in ta bi temperaturo vode v bojlerju spremenil za več kot 5-krat več kot energetska najmanj učinkovit – domače pasteriziran sok družine Brecl iz jabolk ekološke pridelave mešanih sort. Hipotezo, da bi lahko pri vrenju sproščeno energijo izkoristili za segrevanje vode, smo pogojno ovrgli. Toploto sicer lahko izkoristimo za segrevanje vode, vendar tako izkoriščanje ni smotrno.

5 ZAKLJUČEK

Vrenje je eden izmed najstarejših biotehnoloških procesov, ki ga ljudje večinoma izkoriščajo za pripravo oziroma proizvodnjo hrane. Energijo, ki je proizvedena z vrenjem pa lahko uporabimo tudi za segrevanje vode. Ta trditev na žalost velja samo v teoriji, saj se izkoriščanje proizvedene energije (toplote) v primerjavi z naložbo za izdelavo sistema izkoriščanja te toplote ne splača.

Z raziskovalnim delom smo ugotovili, da vrenje poteka hitreje v sokovih ekološke pridelave, vendar pa se hitrost vrenja v različnih sokovih iz jabolk integrirane pridelave razlikuje. Prišli smo tudi do zaključka, da se kemijske lastnosti jabolčnih sokov pred vrenjem in po njem razlikujejo le malo.

Možne izboljšave našega raziskovalnega dela vidimo v tem, da bi vzorce pustili vreti dlje časa in bi tako pridobili jasnejšo sliko o procesu vrenja, spremembah vzorcev in energijskem izkupičku, morali bi tudi preveriti vsebnost sladkorja v sokovih, ker imajo le-ti pomemben vpliv na hitrost vrenja. Prav tako bi lahko povečali količino jabolčnega soka, ki vre, in vode, kjer se nahaja, ter na ta način preverili točnost izračunov o energijskem izkupičku vrenja.

Več informacij o vrenju jabolčnih sokov bi lahko pridobili tako, da bi v eksperimentalno delo vključili še eno vrsto kvasovk ter opazovali vplive različnih kvasovk na vrenje sokov in njihove produkte. Raziskovalno delo bi lahko razširili tudi z več različnimi vzorci sokov, dodali bi na primer tudi vzorce različnih grozdnih sokov, ki bi jih na koncu primerjali z vzorci jabolčnih sokov. Dodatna možnost bi bila tudi primerjava slik vzorcev pod mikroskopom pred vrenjem in po njem, kjer bi lahko primerjali velikost gliv kvasovk, število brstov in samostojnih osebkov. S pomočjo metode po Neubauerju pa bi lahko tudi prešteli število kvasovk v vzorcih.

6 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Družbena odgovornost nas nagovarja, da pripomoremo k trajnostnemu razvoju in ob tem ne pozabimo na svojo odgovornost za vpliv, ki ga imamo na družbo, transparentnost, etično obnašanje, spoštovanje drugih, mednarodne norme obnašanja, pravni red in človekove pravice.

Z našim raziskovalnim delom bi radi še posebej opozorili na trajnostni razvoj slovenskega kmetijstva, predvsem vinogradništva. Upamo, da bo naše raziskovalno delo pozitivno vplivalo na družbo in jo spodbujalo k odgovornemu ravnanju, da bodo ljudje sprejemali odločitve z večjim upoštevanjem možnih posledic na družbo. Eden izmed problemov sodobne družbe so tudi energijski viri, ki so v vedno večjem pomanjkanju. Z raziskovalnim delom smo dokazali možnost uporabe energijskega izkupička vrenja nekaterih jabolčnih sokov. S tem lahko upamo na izkoriščanje procesa vrenja kot ene izmed možnih rešitev problema energijskih virov.

7 VIRI IN LITERATURA

Ajtnik, M., 2009. [Elektronski]

Available at: <https://dk.um.si/Dokument.php?id=8628>

[Poskus dostopa 15 december 2015].

Anon., 2015. *Gorenje*. [Elektronski]

Available at: <http://www.gorenje.si/izdelki/ogrevanje-hlajenje/grelniki-vode/modeli/srednjelitrazni/478492>

[Poskus dostopa 15 januar 2016].

Anon., 2016. *Modra energija*. [Elektronski]

Available at: [http://www.modra-energija.si/si/izobrazevalno-sredisce/slovar?dict=Kilovatna+ura+\(kWh\)](http://www.modra-energija.si/si/izobrazevalno-sredisce/slovar?dict=Kilovatna+ura+(kWh))

[Poskus dostopa 4 januar 2016].

Anon., brez datuma *Determination of fruit acids by titration and calculation of the sugar/acid ratio*. [Elektronski]

Available at:

<http://www.hawkinswatts.com/documents/OECD%20fruit%20acid%20determination%20met hod.pdf>

[Poskus dostopa 2 januar 2016].

Anon., brez datuma *Lastnosti karboksilnih kislin*. [Elektronski]

Available at: http://wordbz.gimptuj.si/wp-content/uploads/naloge1/lastnosti_karboksilnih_kislin.html

[Poskus dostopa 25 januar 2016].

Anon., brez datuma *Petrol*. [Elektronski]

Available at: <http://www.petrol.si/za-dom/energija/elektricna-energija/cenik-elektrike-primerjava>

[Poskus dostopa 27 januar 2016].

Boyer, R., 2005. *Temelji biokemije*. Ljubljana: Študentska založba.

Brenčič, N. B. i. J., 2001. *Kemija za gimnazije 1*. prva ured. Ljubljana: DZS.

- Busch, S., brez datuma *Malic acid supplements*. [Elektronski]
Available at: <http://www.livestrong.com/article/482428-malic-acid-supplements/>
[Poskus dostopa 26 januar 2016].
- Campbell, N. A. & Reece, J. B., 2011. *Biologija I*. Ljubljana: Mohorjeva založba.
- Čeh, B. & Dolenc, D., 2011. *Priprava raztopin reagentov za poskuse*. [Elektronski]
Available at: <http://vedez.dzs.si/datoteke/priprava-reagentov.pdf>
[Poskus dostopa 19 januar 2016].
- Črepinšek, J. & Mlakar, M., 2009. *Vpliv temperature na potek fermentacije*. [Elektronski]
Available at: <http://www.ce.sik.si/raziskovalne/4200905160.pdf>
[Poskus dostopa 28 januar 2016].
- D. v. S.-B., brez datuma *Žveplanje*. [Elektronski]
Available at: <http://www.drustvo-vinogradnikov.si/nasveti/kletarski-nasveti/46-zveplanje>
[Poskus dostopa 15 januar 2016].
- G., 2014. *Pasterizacija*. [Elektronski]
Available at: <http://www.gurman.eu/leksikon.php?Article=256&S=7>
[Poskus dostopa 10 januar 2016].
- I. K.-C., brez datuma *Ekološka pridelava*. [Elektronski]
Available at: <http://www.kon-cert.si/ekoloska-pridelava.html>
[Poskus dostopa 6 januar 2016].
- I. K.-C., brez datuma *Integrirana pridelava*. [Elektronski]
Available at: <http://www.kon-cert.si/integrirana-pridelava.html>
[Poskus dostopa 5 januar 2016].
- Jakubik, U., 2011. *Jabolčni sok, mošt, jabolčnik*. Ljubljana: Založba Kmečki glas.
- Jolicoeur, C., brez datuma *Des pomes et tu cidre Of apples and cider*. [Elektronski]
Available at: <http://cjoliprsf.ca/Documents/Acidity-pH.pdf>
[Poskus dostopa 26 januar 2016].
- Kapun Dolinar, A., Štrumbelj Drusany, I. & Ozimek, B., brez datuma *AnalChemVoc II*. [Elektronski]

Available at: <http://www.kii3.ntf.uni-lj.si/analchemvoc2/file.php/1/HTML/slo/SPEKTRA/bioteh1.htm>

[Poskus dostopa 2 februar 2016].

Mohorič, A. & Babič, V., 2013. *Fizika 2*. Ljubljana: Mladinska knjiga.

M. z. k. g. i. p., brez datuma *Integrirana pridelava*. [Elektronski]

Available at: http://www.mkgp.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/integrirana_pridelava/

[Poskus dostopa 5 januar 2016].

Novak Štagoj, M. & Podobnik, M., 2006. *Kvasovke - tovarne rekombinantnih proteinov*.

[Elektronski]

Available at: <http://www.dlib.si/details/URN:NBN:SI:doc-4ZE093SV/>

[Poskus dostopa 15 december 2015].

Osvald, J., 2003. *O integrirani pridelavi*. [Elektronski]

Available at: <http://www.integrirana-pridelava.si/o-integrirani-pridelavi.php>

[Poskus dostopa 5 januar 2016].

Packer, N., 2011. *Priročnik o energiji in moči za začetnike*. [Elektronski]

Available at: <http://www.rets-project.eu/UserFiles/File/pdf/respedia/A-Beginners-Guide-to-Energy-and-Power-SL.pdf>

[Poskus dostopa 26 januar 2016].

Petrovec, V. in drugi, brez datuma *Naravoslovje in tehnika 5*. [Elektronski]

Available at: <http://www.iucbeniki.si/nit5/1333/index3.html>

[Poskus dostopa 28 januar 2016].

Petrovec, V. in drugi, brez datuma *Naravoslovje in tehnika 5 - test*. [Elektronski]

Available at: <https://eucbeniki.sio.si/test/nit5/1384/index1.html>

[Poskus dostopa 15 januar 2016].

Petrović, B., 2011. *Razlike v kemijski in izotopski sestavi konvencionalno in ekološko pridelanih jabolk*. [Elektronski]

Available at: http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_petrovic_barbara.pdf

[Poskus dostopa 23 januar 2016].

Predin, R., 1993. *Mikrobiološke tehnike*. Maribor: Raziskovalna enota II.gimnazije Maribor.

Prosenc, C. H., 2016. *Strokovni članki svetovalcev ENSVET*. [Elektronski]

Available at: <http://gcs.gi-zrmk.si/Svetovanje/Clanki/HladnikProsenc/PT72.htm>

[Poskus dostopa 27 januar 2016].

P. z. a. p., brez datuma *Komplet za določanje titracijskih kislin, proste žveplaste kisline in skupnih žveplastih kislin*. [Elektronski]

Available at: <http://ss1.spletnik.si/000/000/11b/c14/3-skupni%20so2.pdf>

[Poskus dostopa 19 januar 2016].

Rajher, Z., 2010. *Tehnologija vina*. Maribor: Izobraževalni center Piramida Maribor.

Raspor, P., 2002. *Pomen mikrobiologije in biotehnologije v proizvodnji vina*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta.

Sajovic, I. in drugi, 2014. *Kemija 8*. [Elektronski]

Available at: <https://eucbeniki.sio.si/kemija8/1230/index1.html>

[Poskus dostopa 27 januar 2016].

Smrdu, A. in drugi, brez datuma *Kemija 1*. [Elektronski]

Available at: <http://www.iucbeniki.si/kemija1/495/index.html>

[Poskus dostopa 27 januar 2016].

Smrdu, A. in drugi, brez datuma *Kemija 2*. [Elektronski]

Available at: <https://eucbeniki.sio.si/kemija2/609/index1.html>

[Poskus dostopa 28 januar 2016].

Staff, B., 2005. *Brew*. [Elektronski]

Available at: <http://byo.com/malt/item/634-fermentation-temperature-control-tips-from-the-pros>

[Poskus dostopa 24 januar 2016].

Straže, A. m., brez datuma *Sušenje in toplotna obdelava lesa - vaje: Prenos toplote*.

[Elektronski]

Available at: http://les.bf.uni-lj.si/fileadmin/datoteke_asistentov/astraz/STOL-Vaje/STOL_-

[_Prenos_toplote.pdf](#)

[Poskus dostopa 28 januar 2016].

Valenti, S., 2011. *Kakovostni parametri vina Malvazija*. [Elektronski]

Available at: http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_valenti_sandra.pdf

[Poskus dostopa 24 januar 2016].

Vernier, brez datuma *O2 Gas Sensor*. [Elektronski]

Available at: <http://www.vernier.com/products/sensors/o2-bta/>

[Poskus dostopa 18 januar 2016].

Vernier, brez datuma *pH Sensor*. [Elektronski]

Available at: <http://www.vernier.com/products/sensors/ph-sensors/ph-bta/>

[Poskus dostopa 18 januar 2016].

Vernier, brez datuma *Surface Temperature Sensor*. [Elektronski]

Available at: <http://www.vernier.com/products/sensors/temperature-sensors/sts-bta/>

[Poskus dostopa 18 januar 2016].

V. s. h., 2014. *Pasterizacija*. [Elektronski]

Available at: <https://varnoshrano.wordpress.com/2014/10/07/pasterizacija/>

[Poskus dostopa 10 januar 2016].

W. p. e., 2015. *Pasterizacija*. [Elektronski]

Available at: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Pasterizacija>

[Poskus dostopa 10 januar 2016].

Zalar, P. & Turk, M., 2012. *Mikrobiologija - Praktikum*. [Elektronski]

Available at: http://web.bf.uni-lj.si/bi/biologija-mikroorganizmov/Studenti/Gradivo/Datoteke/scripta_osnove_mikro_2012.pdf

Z. z. k. g. i. p., brez datuma *Ekološko kmetovanje*. [Elektronski]

Available at: http://www.mkgp.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/ekolosko_kmetovanje/

[Poskus dostopa 6 januar 2016].