

## Jabučno – mliječna fermentacija u vinu

### Sažetak

Jabučno-mliječna fermentacija (JMF) je proces biološkog otkiseljavanja vina u kojem se dikarboksilna L-jabučna kiselina pretvara u monokarboksilnu L-mliječnu kiselinu i ugljik(IV)-oksid. JMF provode bakterije mliječne kiseline (BMK) iz rodova *Oenococcus*, *Pediococcus* i *Lactobacillus*. Na rast BMK u vinu i njihov metabolizam utječu razni fizikalno-kemijski čimbenici, poput pH, temperature, koncentracije sumpor(IV)-oksid i etanola. Kompleksne i raznovrsne metaboličke aktivnosti BMK tijekom JMF mogu na kakvoću vina utjecati pozitivno (smanjenje kiselosti, modifikacija mirisa i okusa, mikrobiološka stabilnost) ili negativno (promjene mirisa, boje i tvorba amina).

**Ključne riječi:** jabučno-mliječna fermentacija, bakterije mliječne kiseline, vino

### Uvod

Proizvodnja vina je zahtjevan mikrobiološki proces u koji su uključeni kvasci i bakterije. Jabučno-mliječna fermentacija (JMF) je enzimatski proces otkiseljavanja vina u kojem se dikarboksilna L-jabučna kiselina mijenja u monokarboksilnu L-mliječnu kiselinu i ugljični dioksid (Davis i sur., 1985.). Taj proces provode gram pozitivne bakterije mliječne kiseline (BMK) koje pripadaju dvjema porodicama i trima rodovima. Porodica *Lactobacillaceae* zastupljena je rodom *Lactobacillus*, a obitelj *Streptococcaceae* rodovima *Oenococcus* i *Pediococcus*. U odnosu prema šećeru (glukozi) dijele se na homofermentativne i heterofermentativne. Homofermentativne BMK glukozu razgrađuju do mliječne kiseline dok su produkti razgradnje glukoze kod heterofermentativnih MKB mliječna kiselina, etanol ili octena kiselina i ugljični dioksid (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). JMF je poželjno provoditi u nekim vinima radi: smanjenje kiselosti, poboljšanja senzornih karakteristika i povećanja mikrobiološke stabilnosti vina (Versari, 1999.). BMK su kemotrofni organizmi, odnosno do energije za svoj unutarnji metabolizam dolaze oksidacijom kemijskih spojeva : šećera (heksoza i pentoza) organskih kiselina (jabučna i limunska kiselina) (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

### Taksonomija bakterija mliječne kiseline

BMK izolirane iz groždanog mošta pripadaju dvjema porodicama (*Lactobacillaceae* i *Streptococcaceae*), a dijele se u rodove *Lactobacillus*, *Oenococcus* i *Pediococcus*. U odnosu prema šećeru dijele se kako je prikazano u tablici 1. Za sve BMK zajedničko je da su:

- Gram – pozitivni mikroorganizmi
- Nepokretni i nesporulirajući

<sup>1</sup> Tomislav Plavša, dipl.ing.agr., Institut za poljoprivredu i turizam Poreč, Karla Huguesa 8, Poreč

- Fakultativni anaerobi
- Kemoorganotrofni organizmi
- Optimalna temperatura za rast i razvoj 20° - 30°C

BMK podrijetlom iz mošta i vina pripadaju rodovima *Lactobacillus*, *Pediococcus* i *Oenococcus*. Osim oblika, odlučujući čimbenik za njihovu klasifikaciju je homo ili heterofermentativni metabolizam (tablica 1) šećera (Ribéreau-Gayon, et al. 2006.). Homofermentativne bakterije produciraju više od 85% mliječne kiseline iz glukoze dok heterofermentativne bakterije produciraju ugljični dioksid, etanol, octenu i mliječnu kiselinu. Laktobacili mogu imati oba tipa metabolizma ugljikohidrata, a dijele se u tri grupe:

- Grupa 1: obligatni homofermentativi (nikad nisu detektirani u vinu)
- Grupa 2: fakultativni heterofermentativi ( jednu molekulu glukoze pretvaraju u dvije molekule mliječne kiseline, a pentoze fermentiraju u mliječnu i octenu kiselinu)
- Grupa 3: obligatni heterofermentativi (glukozu pretvaraju etanol, ugljični dioksid, mliječnu i octenu kiselinu, a pentoze fermentiraju u mliječnu i octenu kiselinu)

**Tablica 1.** Bakterije mliječne kiseline i metabolizam ugljikohidrata (Ribéreau-Gayon, et al. 2006.)

<b>Grupa (oblik stanice)</b>	<b>Fermentacija glukoze</b>	<b>Vrsta</b>
štapičasti oblici	Fakultativni homofermentativni Grupa 2	<i>Lactobacillus casei</i>
		<i>Lactobacillus plantarum</i>
	Obligatni heterofermentativni Grupa 3	<i>Lactobacillus brevis</i>
		<i>Lactobacillus hilgardii</i>
okrugli oblici	Homofermentativni	<i>Pediococcus damnosus</i>
		<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	Heterofermentativni	<i>Oenococcus oeni</i>

### **Metabolizam mliječno – kiselih bakterija**

Metabolizam predstavlja biokemijske reakcije razgradnje i sinteze izmjenom tvari preko stanične stjenke bakterije tijekom njenog umnažanja kojima bakterija osigurava energiju. MKB je kemotrofni organizam što znači da energiju potrebnu za svoj unutarnji metabolizam pronalazi u oksidaciji kemijskih komponenti.

### **Metabolizam šećera**

Oksidacija šećera predstavlja glavni način dolaska do energije za MKB koja je od osnovne važnosti za njihov rast. MKB rodova *Lactobacillus*, *Leuconostoc* i *Pediococcus* apsorbiraju šećer homofermentativnim ili heterofermentativnim putem.

### **Homofermentativni metabolizam heksoza**

Homofermentativni ciklus ili Embden-Meyerhofov ciklus uključuje prvu fazu glikolize u kojoj se heksoze transformiraju do piruvata. Tijekom te faze dolazi do redukcije koenzima NADH+H<sup>+</sup>. Kod aerobnih organizama na ovaj ciklus nastavlja se ciklus limunske kiseline ili Krebsov ciklus. Aktivnošću mliječno-kiselih bakterija piruvat se reducira do laktata uz oksidaciju koenzima NADH+H<sup>+</sup> u NAD<sup>+</sup> (slika 1).

## Heterofermentativni metabolizam heksoza

Mliječno-kisele bakterije ovaj ciklus koriste za transformaciju heksoza uglavnom, ali ne samo u laktat. Osim laktata nastaju  $\text{CO}_2$ , acetat i etanol. Taj se ciklus još naziva i penoza fosfatni ciklus (slika 3). Tim načinom bakterije roda *Leuconostoc* produciraju laktat i etanol u slabo aeriranoj okolini, a laktat i acetat u jače aeriranoj okolini. Osim o stupnju aeracije, navedeni ciklus ovisan je i o prisustvu drugih akceptora protona i elektrona.

## Metabolizam penoza

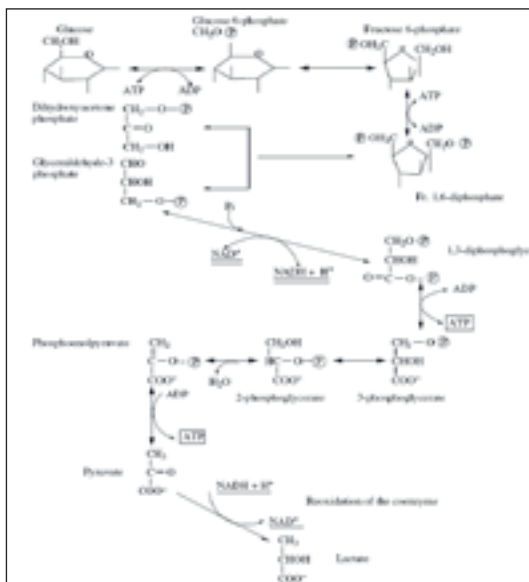
Neke vrste rodova *Lactobacillus*, *Pediococcus* i *Leuconostoc* fermentiraju ribozu, arabinozu i ksilozu bez obzira radi li se o homo ili heterofermentativima. Kao krajnji produkti nastaju octena kiselina i mliječna kiselina (slika 3).

## Metabolizam organskih kiselina

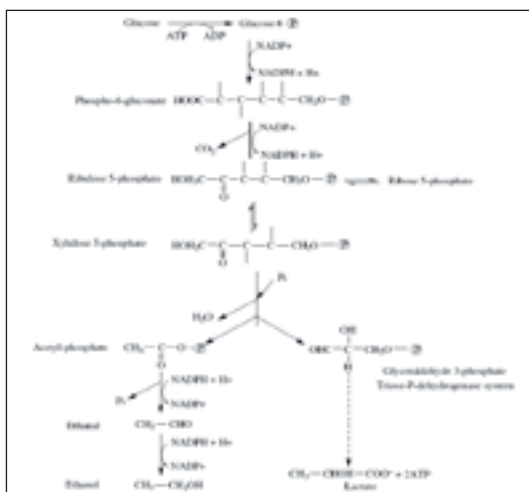
MKB u suštini razgrađuje dvije organske kiseline iz vina, i to jabučnu i limunsku kiselinu. Razgradnje jabučne i limunske kiseline igraju veliku ulogu u proizvodnji vina u pogled otkiseljavanja koje je praćeno promjenom pH vrijednosti te mikrobiološke stabilnosti. Te razgradnje također i primjetno mijenjaju senzorna svojstva vina

## Metabolizam jabučne kiseline

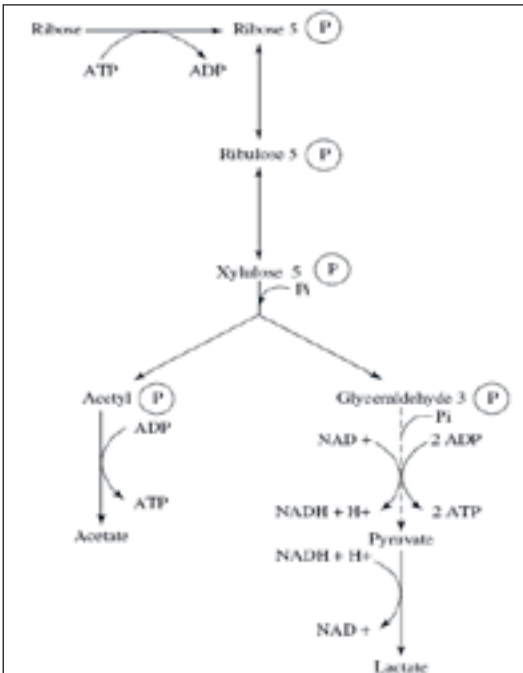
Groždani mošt sadržava 1-8 g/L jabučne kiseline (Henick-Kling, 1993.). Koncentracija jabučne kiseline u izravnoj je korelaciji sa svojstvima sorte, zrelošću grožđa i području uzgoja vinove loze. MKB mogu metabolizirati jabučnu kiselinu koristeći jedan od tri moguća enzimska puta razgradnje (Radler, 1986.). Mnoge MKB posjeduju malolaktični enzim (MLE) i sposobne su prevoditi jabučnu kiselinu u mliječnu kiselinu uz izdvajanje ugljičnog dioksida bez tvorbe piruvata (slika 4) kao intermedijarne komponente (Kunkee, 1967.).



Slika 1. Homofermentativni metabolički ciklus fermentacije glukoze (Ribéreau-Gayon, et al. 2006.)



Slika 2. Heterofermentativni metabolički ciklus fermentacije glukoze (Ribéreau-Gayon, et al. 2006.)



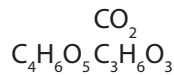
Slika 3. Metabolički ciklus fermentacije pentoze (Ribéreau-Gayon, et al. 2006.)



Slika 5. Ciklus limunske kiseline (Ribéreau-Gayon, et al. 2006.)

Ova reakcija je poznata kao malolaktična fermentacija (MLF). *L. casei* posjeduje jabučni enzim te prevodi jabučnu kiselinu do piruvata koji se djelomično reducira do jabučne kiseline. Treći način razgradnje jabučne kiseline opisan je za *L. fermentum* gdje se putem malat dehidrogenaze jabučna kiselina reducira do oksalacetata koji se dekarboksilacijom prevodi u piruvat.

Slika 4. Jabučno mliječna fermentacija



### Metabolizam limunske kiseline

Limunska kiselina spada u glavne komponente mošta i vina, a nalazi se u koncentracijama od 0.1–0.7 g/L (Henick-Kling, 1993.). Osim jabučne kiseline MKB (*L.plantarum*, *L.casei*, *O.oeni* i *L.mesenteroides*) sposobne su razgraditi i limunsku kiselinu (slika 5) do diacetila, acetoina i 2,3 butandiol-a. Vrste roda *Pediococcus* i vrsta *L.brevis* nemaju tu sposobnost jer ne posjeduju enzim citrat liazu. Razgradnja limunske kiseline slijedi po završetku razgradnje jabučne kiseline, a koncentracija nastalog diacetila i acetoina je u pozitivnoj korelaciji s koncentracijom limunske kiseline (Nielsen i sur. 1999.). Diacetil je jedna od najvažnijih mirisno-okusnih komponenti nastala tijekom MLF, koja vinu daje karakterističnu aromu maslaca ili lješnjaka ako je ispod praga detekcije (Martineau i sur.,1995.).

### Metabolizam fenolnih spojeva

Interakcija između hidroksicimetnih kiselina i MKB rezultira stvaranjem hlapivih fenola (4-etilfenol i 4-etilguajakol) (Gury i sur. 2004.), spojeva neugodna mirisa i niskog praga osjetljivosti (Cavin i sur. 1993.). Vrsta *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Pedioco-*

---

*ccus spp.* i neke vrste *Oenococcus oeni* mogu razgraditi p-kumarnu kiselinu u 4-etilfenol i 4-etilguajakol (Chatonnet i sur. 1999.).

### **Metabolizam amino kiselina**

Mnoge vrste MKB sposobne su dekarboksilirati aminokiseline tvoreći pritom biogene amine (Lonvaud-Funel, 2001.). Aminokiselina histidin radom MKB dekarboksilacijom prelazi u biogeni amin histamin. MKB, poglavito vrste roda *Lactobacillus spp.*, mogu metabolizirati ornitin i lizin te sudjelovati u tvorbi 2-acetil-1-pirolina i 2-acetiltetrahidropiridina (Costello i sur. 2001.; Costello i sur. 2002.) spojeva koji uzrokuju bolest vina znanu kao miševina.

### **Rast i razvoj BMK u vinu**

Kao i dugi mikroorganizmi, BMK rastu i razvijaju se u povoljnim uvjetima: prisustvo hranjiva, izostanak toksičnih čimbenika i adekvatna temperatura (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

### **Izvor energije**

Većinu energije potrebite za svoj rast i razvoj BMK nalaze razgradnjom brojnih organskih spojeva: šećeri, aminokiseline i organske kiseline.

### **Hranjiva, vitamini i elementi u tragovima**

BMK ugljik, dušik i mineralne elementa (fosfor i sumpor) uzimaju iz svoje okoline te one ulaze u sastav dijelova stanice. Ugljik u osnovi potječe iz šećera i nekih organskih kiselina. Najzastupljeniji šećeri u vinu su heksoze (glukoza i fruktoza) dok su manoza, galaktoza, pentoze (arabinoza, ksiloza i riboza), ramnoza i disaharidi zastupljeni u manjoj mjeri (po nekoliko miligrama svaki). Kapacitet degradacije šećera ovisi o vrsti bakterije i okolišnim čimbenicima. Prema Radleru (1967.) potrebno je manje od 1g/L glukoze za stvaranje dovoljne biomase BMK za početak JMF. Aminokiseline opskrbljuju BMK asimilativnim dušikom. Minerali poput  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $K^+$  i  $Na^+$  su prijeko potrebni u metabolizmu bakterija. Vitamini su koenzimi ili koenzimski prekursori. BMK ne mogu samostalno sintetizirati vitamine B-kompleksa prvenstveno tiamin, biotin i pantotensku kiselinu. Fosfor ima temeljnu ulogu u sastavu nukleinskih kiselina, fosfolipida i snabdijevanju energijom u formi ATP.

### **Fizikalno-kemijski čimbenici**

#### **Temperatura**

Temperatura ima snažan utjecaj na rast i razvoj, dužinu LAG faze kao i na maksimum populacije BMK. Temperaturni optimum za vrstu *Oenococcus oeni* je oko 25°C (Henick-Kling, 1993.) u nealkoholnom mediju. U alkoholnom mediju kao što je vino u rasponu je od 20 - 23°C uz napomenu da kako se sadržaj alkohola povećava, temperaturni optimum se smanjuje. Rast i razvoj BMK slabi s padom temperature te na oko 14 - 15°C prestaje.

### Alkohol/Etanol

Etanol ima jak utjecaj na rast i razvoj te na metaboličku aktivnost BMK. Visoke koncentracije etanola snižavaju optimalnu temperaturu za rast i razvoj, a tolerantnost na etanol se smanjuje podizanjem temperature (Henick-Kling, 1993.). Ribéreau-Gayon *i sur.* (1975.) zaključili su da su koki osjetljiviji na etanol od laktobacila, i to pri alkoholnoj jakosti od volumnih 13% više od 50% laktobacila je otporno za razliku od samo 14% koka. Također Davis *i sur.* (1985.) navodi da su vrste *Lactococcus* i *Pediococcus* tolerantnije na visoke koncentracije etanola od bakterije *Oenococcus oeni*.

### pH

Vrijednost pH vina igra važnu ulogu u određivanju koje će vrste BMK preživjeti i biti se sposobne razvijati. U vinima s pH vrijednošću ispod 3,5 u pravilu je *Oenococcus oeni* dominantna vrsta dok su *Lactobacillus* i *Pediococcus* spp. dominantne u vinima s pH vrijednošću iznad 3,5. Nadalje, ako su svi ostali ambijentalni čimbenici identični s porastom pH vrijednosti MLF protječe brže (Bousbouras *i sur.* 1971).

### SO<sub>2</sub>

U mediju s niskom pH vrijednošću kao što je vino sumpor je dominantan u obliku slobodnog SO<sub>2</sub> (Usseglio-Tomasset, 1992.) sadržavajući u najvećem dijelu bisulfitni anion (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) te manji udio molekularnog SO<sub>2</sub> i sulfidnog aniona (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Molekularni SO<sub>2</sub> je jedini oblik sumpora koji difuzijom može proći kroz staničnu stijenku kvasca i bakterije te se u stanici konvertira u bisulfitni anion (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>). U stanici može reagirati s proteinima, nukleinskim kiselinama i kofaktorima utječući na rast BMK (Carreté *i sur.*, 2002.). Carreté *i sur.* (2002.) navodi da razina slobodnog SO<sub>2</sub> od 5 mg/L rezultira završetkom MLF tek nakon 40-tak dana te da koncentracija slobodnog SO<sub>2</sub> od 20 mg/L u više od 50% stanica inhibira F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ATP-aznu aktivnost kod *Oenococcus oeni*. Osim slobodnog SO<sub>2</sub> i vezani SO<sub>2</sub> također umanjuje razgradnju jabučne kiseline i to 20 mg/L za 13%, 50 mg/L za 50%, 100 mg/L u potpunosti inhibira MLF (Lafon-Lafourcade, 1970.).

### Fenolni spojevi

Fenolni spojevi mogu povoljno i nepovoljno utjecati na fiziologiju i razvoj mliječno-kiselih bakterija, ovisno o koncentraciji i tipu fenolnih sastojaka. Crvena vina za razliku od bijelih sadrže veće količine fenolnih spojeva kao što su karboksilne kiseline (240 – 500 mg/L; galna, kafeinska, ferulična i p-kumarinska), antocijani (40 – 470 mg/L), flavanoli (65 – 240 mg/L) i flavan-3-oli (25 – 560 mg/L) (De Beer *i sur.*, 2002.). *Lactobacillus* spp. sposobne su metabolizirati hidroksicimetne kiseline reducirajući ih do etil fenola dok *O. oeni* nema te sposobnosti, nasuprot tome visoke koncentracije hidroksicimetnih kiselina inhibiraju njihov rast (Reguant *i sur.*, 2000.). Najjači inhibitorski utjecaj ima p-kumarinska kiselina i on se pojačava s porastom njene koncentracije (Kunkee, 1967.). *O. oeni* ne samo da može metabolizirati galnu kiselinu, već ona stimulira njihov rast (Reguant *i sur.*, 2000.) jednako kao i antocijani (Vivas *i sur.*, 1997.) iz kojih bakterije koriste glukozni dio kao izvor energije. Flavanoidi (katehin i quercetin) stimuliraju MLF dok samo katehin stimulira rast

---

*O. oeni* (Reguant i sur. 2000.).

### **Masne kiseline**

Antagonizam između kvasaca i BMK tijekom alkoholne fermentacije jednim dijelom može se objasniti tvorbom masnih kiselina srednjeg lanca ( $C_6 - C_{12}$ ) nastalih radom kvasaca (Alexandre i sur., 2004.; Edwards i sur., 1990.). Dekadska (Kaprinska) i dodekadska (Laurinska) najčešće su masne kiseline u vinu i u koncentracijama do 12.5 mg/L i 2.5 mg/L stimuliraju malolaktičnu aktivnost u 4% etanolnoj otopini (Capucho i sur., 1994.). Carreté i sur., (2002.) navode da se kod koncentracije dekadske kiseline od 20 mg/L ATP-azna aktivnost vrste *Oenococcus oeni* smanjuje za približno 5%, odnosno kod koncentracije dodekadske kiseline od 5 mg/L za 42% te da toksični efekt dekadske kiseline značajno raste u prisustvu etanola. Uspješnost MLF u velikoj mjeri ovisi o sposobnosti bakterije da usvoji (asimilira) oleinsku kiselinu. Neki tehnološki postupci u proizvodnji vina, kao taloženje i bistrenje mošta, može dovesti do smanjenja oleinske kiseline te u tom slučaju uspjeh MLF uvelike ovisi o razini oleinske kiseline ( $C_{18:1} \Delta \Delta 9$ ) i ciklične laktobacilične kiseline ( $C_{19:0cy9}$ ) iz samih stanica BMK (Bauer, 2004.).

## **Učinci jabučno – mliječne fermentacije**

### **Pozitivni učinci**

#### **Smanjenje kiselosti**

Razgradnjom 1 g jabučne kiseline stvara se 0,67 g mliječne kiseline. Smanjenje ukupne kiselosti ovisi o koncentraciji jabučne kiseline, pri čemu dolazi do povećanja pH vrijednosti za 0,1 - 0,3 (Bousbouras, 1971.).

#### **Promjene senzornih svojstava**

Osim promjena u kiselinskom sastavu vina, BMK je sposobna stvarati nove (dacetil, acetoin, etil-laktat, 2,3, butandiol) (Davis, 1985.) i modificirati postojeće komponente koje sudjeluju u formiranju senzornih svojstava vina (Ugliano, 2006.).

#### **Mikrobiološka stabilnost vina**

Vina kod kojih je JMF provedena do kraja (jabučna kiselina < 0,2 g/L) mikrobiološki su stabilnija od onih kod kojih taj proces nije proveden. Unatoč tome Costello i sur. (1983.) uočili su razvoj *Lactobacillus* spp. i *Pediococcus* spp. u australskim vinima Shiraz kod pH vrijednosti 3,69 nakon završene JMF pod utjecajem vrste *Oenococcus oeni*. Vina nakon provedene JMF imaju veću pH vrijednost koja može favorizirati rast i razvoj mikroorganizama uzročnika kvarenja vina (Rankine, 1971.).

### **Negativni učinci**

JMF ne daje uvijek pozitivne rezultate. Ponekad je odgovorna i za neželjene promjene u senzornim svojstvima i smanjenju obojenosti vina kao i za formiranje biogenih amina kao humanih alergena.



### Promjene senzornih svojstava

Vrste JMB rodova *Lactobacillus* i *Pediococcus* dominantne su u provođenju JMF kod moštava ili vina s visokom pH vrijednošću (> 3,5) te je moguća tvorba spojeva koji utječu negativno na kakvoću vina (Davis 1985.).

### Promjena boje vina

Tijekom JMF boja vina može smanjiti i od 30% (Davis 1985.). Ta pojava objašnjava se utjecajem slobodnog SO<sub>2</sub> na gubitak boje kod antocijana kao posljedica oslobađanja SO<sub>2</sub> iz spojeva na koje je vezan (α-ketoglutarat, piruvat i acetaldehid) radom BMK. Opisana reakcija ima reverzibilni karakter.

### Tvorba biogenih amina

BMK sposobna je dekarboksilirati amino kiseline u biogene amine (Davis 1985.). Od svih BMK vrste roda *Pediococcus* igraju najveću ulogu u tvorbi biogenoga amina histamin. Kako vina s većom pH vrijednošću (> 3,5) favoriziraju metabolizam *Pediococcus* vrsta, tako je kod tih vina veća i mogućnost tvorbe neželjenog histamina.

### Zaključak

Jabučno-mliječna fermentacija poželjna je kod vina s visokom ukupnom i jabučnom kiselinom. Poželjna svojstava nakon provedene JMF su niža kiselost, pozitivne promjene u senzornim svojstvima i mikrobiološka stabilnost vina iako je JMF proces koji može i narušiti senzornu sliku vina. U procesu JMF sudjeluju BMK rodova *Lactobacillus*, *Oenococcus* i *Pediococcus*, a samo rod *Oenococcus* s vrstom *Oenococcus oeni* ima poželjna enološka svojstva. Iako je JMF proces koji se provodi radi otkiseljavanja vina, ona je puno više od toga.

### Literatura

- Alexandre, H., Costello, P.J., Remize, F., Guzzo, J., Guilloux-Benatier, M. (2004.). *Saccharomyces cerevisiae*-*Oenococcus oeni* interactions in wine: current knowledge and perspectives. *Int. J. Food Microbiol.* 93:141-154.
- Bauer, R., Dicks, L.M.T. (2004.). Control of Malolactic Fermentation in Wine. A Review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 25, No. 2
- Bousbouras, G.E., Kunkee, R.E. (1971.). Effect of pH on Malo-Lactic Fermentation in Wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 22:3:121-126.
- Capucho, I., San Romão, M.V. (1994.). Effect of ethanol and fatty acids on malolactic activity of *Leuconostoc oenos*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 42:391-395.
- Carreté, R., Vidal, M.T., Bordons, A., Constantí, M. (2002.). Inhibitory effect of sulfur dioxide and other stress compounds in wine on the ATPase activity of *Oenococcus oeni*. *FEMS Microbiol. Lett.* 211:155-159.
- Cavin, J.-F., Andioc, V., Etievant, P. X., Diviés, C. (1993.). Ability of wine lactic acid bacteria to metabolize phenol carboxylic acids. *Am. J. Enol. Vitic.* 44:76-80.
- Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J. N. (1999.). The influence of *Brettanomyces* / *Dekkera* yeasts and lactic acid bacteria on the ethylphenol content of red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 50:545-549.
- Costello, P. J., Lee, T. H., Henschke, P. A. (2001.). Ability of lactic acid bacteria to produce N-heterocycles causing mousy off-flavour in wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 7:160-167.



- 
- Costello, P. J., Henschke, P. A. (2002.). Mousy off-flavour of wine: precursors and biosynthesis of the causative N-heterocycles 2-ethyltetrahydropyridine, 2-acetyltetrahydropyridine, and 2-acetyl-1-pyrroline by *Lactobacillus hilgardii* DSM 20176. *J. Ag. Food Chem.* 50:7079-7087
- Davis, C. R., Wibowo, D., Eschenbruch, R., Lee, T. H., Fleet, G. H. (1985.) Practical Implications of Malolactic Fermentation: A Review. *Am. J. Enol. Vitic.* 36:4:290-301
- De Beer, D., Joubert, E., Geldenblom, W.C.A., Manley, M. (2002.). Phenolic compounds: A review of their possible role as *in vivo* antioxidants of wine. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 23:48-61.
- Edwards, C.G., Beelman, R.B., Bartey, C.E., McConnell, A. (1990.). Production of decanoic acid and other volatile compounds and the growth of yeast and malolactic bacteria during vinification. *Am. J. Enol. Vitic.* 43:233-238.
- Gury, J., Barthelmebs, L., Tran, N. P., Diviés, C., Cavin, J.F. (2004.). Cloning, deletion, and characterization of PadR, the transcriptional repressor of the phenolic acid decarboxylase-encoding padA gene of *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70:2146–2153.
- Henick-Kling, T.(1993.). Malolactic fermentation. In: *Wine Microbiology and Biotechnology* (Fleet, G.H. ed), Taylor & Francis Inc, New York. 289-326.
- Kunkee, R.E. (1967.). Malolactic fermentation. *Adv. Appl. Microbiol.* 9: 235–279.
- Lafon-Lafourcade, S.(1970). Etude de la degradation de l'acide L-malique par les bactéries lactiques non proliférantes des vins. *Ann. Technol. Agric.* 19:141-154.
- Lonvaud-Funel, A. (2001.). Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 199:9-13.
- Nielsen, J.C., Riechelieu, M. (1999.). Control of flavour development in wine during and after malolactic fermentation by *Oenococcus oeni*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:740-745.
- Martineau, B., Acree, T.E., Henick-Kling, T. (1995.). Effect of wine type on threshold for diacetyl. *Food Res.* 28:139-143.
- Radler, F. (1986.). *Microbial biochemistry.* *Experientia* 42:884-893.
- Reguant, C., Bordons, A., Arola, L., Rozès, N. (2000). Influence of phenolic compounds on the physiology of *Oenococcus oeni* from wine. *J. Appl. Microbiol.*88:1065-1071.
- Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Ribéreau –Gayon, P. (1975.). In *Traite d'Œnologie. Sciences et Techniques du Vin*, vol. 2. Dunod, Paris.
- Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B., Lonvaud, A. (2006.). Lactic acid bacteria. In: *Handbook of Enology* Volume 1 The Microbiology Of Wine and Vinifications 2nd Edition John Wiley & Sons Ltd. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, England, str. 115-183.
- Versari, A., G. P. Parpinello, and M. Cattaneo. 1999. *Leuconostoc oenos* and malolactic fermentation in wine: A review. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 23:447-455.
- Vivas, N., Lonvaud-Funel, A., Glories, Y. (1997.). Effect of phenolic acids and anthocyanins on growth, viability and malolactic activity of a lactic acid bacterium. *Food Microbiol.* 14:291-300.
- Ugliano, M., Moio, L. (2006.). The influence of malolactic fermentation and *Oenococcus oeni* strain on glycosidic aroma precursors and related volatile compounds of red wine. *J Sci Food Agric* 86:2468–2476.
- Usseglio-Tomasset, L. (1992.). Properties and use of sulphur dioxide. *Food Additives and Contaminants* 9:399-404.

Surveying study

## Malolactic fermentation in wine

### Summary

Malolactic fermentation (MLF) is the biological process of wine deacidification where dicarboxylic L-malic acid is converted to monocarboxylic L-lactic acid and carbon (IV)-oxide. MLF is carried out by lactic acid bacteria (LAB) belonging to three genera: *Oenococcus*, *Pediococcus* and *Lactobacillus*.

The growth of LAB and their metabolism in wine is affected by various physico-chemical factors such as pH, temperature, concentration of sulfur (IV)-oxide and ethanol. Complex and diverse metabolic activity of LAB during the MLF can affect the wine quality positively (reduced acidity, aroma and taste modification, microbiological stability) or negatively (changes in odor, color and formation of amines).

**Key words:** malolactic fermentation, lactic acid bacteria, wine

**RESTORAN 2 KONOPCI**  
**GOSPOJA**  
 Matije Gupca 1 - 51216 Vrbanj - Tel: 051 857 142

**Čestit Božić i sretna Nova 2011. godina**

**U našem podrumu negujemo stoljetnu tradiciju proizvodnje visokokvalitetnog, autohtonog, bijelog suhog vina- VRBNIČKA ŽLAHTINA.**

**ŽLAHTINA** obitelji **TOLJANIĆ** ponos je generacija koje su svoje sposobnosti, znanje i iskustvo ugradili u ovo izuzetno plemenito vino.

**Posebna ponuda u našim ugostiteljskim objektima za organizirane grupe- [www.gospoja.hr](http://www.gospoja.hr)**