

Total and yeast assimilable nitrogen composition in grape juices of three grapevine cultivars as affected by vineyard nitrogen fertilization

Sastav ukupnog i asimilacijskog dušika u grožđu triju sorata vinove loze pod utjecajem dušične gnojidbe vinograda

Marko KAROGLAN¹, Luna MASLOV, Ivana MATIĆ, Aleksandar BRODSKI, Ana JEROMEL, Bernard KOZINA, Ante MIJIĆ

¹Department of Viticulture and Enology, Faculty of Agriculture, Zagreb tel: 01/2343-657; fax: 01/2343-658; e-mail: mkaroglan@yahoo.com

ABSTRACT

Nitrogen fertilization is one of the common agrotechnical practices in viticulture, by which we can achieve higher content of nitrogen compounds in grapes. The purpose of this research was to determinate the influence of nitrogen fertilization on total nitrogen, free amino nitrogen and ammonia composition in grapes of Chardonnay, Italian Riesling and White Riesling cultivars. Research was laid out in the 2006 and 2007. Experiment was random block design with 3 repetitions, and fertilization was in the form of urea, as follows: 0 kg/ha - K, 51 kg/ha (23 kg N/ha) –N1, 152 kg/ha (70 kg N/ha) – N2 te 254 kg/ha (117 kg N/ha) –N3. The grapes were harvested according to repetitions. The obtained research results indicated a positive effect of nitrogen fertilization on all of examined nitrogen compounds.

Keywords: grapevine, nitrogen fertilization, total nitrogen, free amino nitrogen, ammonia

SAŽETAK

Dušična gnojidba jedan je od uobičajenih agrotehničkih postupaka u vinogradarskoj proizvodnji čime se između ostaloga, može utjecati i na povećanje sadržaja dušika u grožđu. U cilju istraživanja utjecaja dušične gnojidbe na sadržaj ukupnog dušika, slobodnog amino dušika i amonijaka u grožđu, tijekom 2006. i 2007. godine proveden je gnojidbeni pokus na Graševini, Chardonnayu i Rizlingu rajnskom. Pokus je postavljen u četiri tretmana, svaki u tri repeticije kao slučajni blokni raspored. Gnojidba dušikom u obliku uree bila je kako slijedi: 0 kg/ha - K, 51 kg/ha (23 kg N/ha) –N1, 152 kg/ha (70 kg N/ha) –N2 te 254 kg/ha (117 kg N/ha) –N3. Grožđe je brano po tretmanima te je svaka repeticija unutar tretmana prerađena posebno. Dušična gnojidba u pravilu je utjecala na povećanje svih dušičnih parametara koji su bili uključeni u ovo istraživanje.

Ključne riječi: vinova loza, dušična gnojidba, ukupni dušik, slobodni amino dušik, amonijak

DETAILED ABSTRACT

Nitrogen fertilization is one of the common agrotechnical practices in viticulture, by which we can achieve higher vigor and yield, but also impact ripening dynamics, especially those related to differences in sugar accumulation and total acidity content. The intensity of changes depends of ampelotechnical characteristics of grapevine cultivar and ecological and climatic conditions of region. There isn't much references on nitrogen compounds composition in must and wine in Croatia, and nitrogen fertilization is usually based on empiric experiences, by which is difficult to ensure wines of high quality, especially when looking towards enological practices like alcoholic fermentation, where nitrogen is indispensable macronutrient. In some years, and for some cultivars there is often need for nitrogen supplementation of musts, which we can reduce by adequate nitrogen fertilization in vineyard, and avoid many fermentations problems. So, the primary purpose of this research was to determinate the influence of different fertilization treatments on the chemical composition of Chardonnay, White Riesling and Italian Riesling musts and wines in agroecological conditions of north-west Croatia, Zagreb wine growing region, by analysis of total nitrogen (TN), free amino nitrogen (FAN) and ammonium content in grapes. By achieved results, we'll try to define optimal nitrogen fertilization doses which will have positive influence on the nitrogen compounds composition. Research was laid out in the 2006 and 2007, and grape harvest as well as vinification process happened in the experimental field Jazbina, of the Department of enology and viticulture, Faculty of Agriculture in Zagreb. The vineyard was planted in 1995. All cultivars were grafted on V. Berlandieri x V. riparia SO4 rootstock. The vines were trained on double Guyot system. Spacing was 2,1 m between rows and 1,2 m between vines. Experiment was random block design with 3 repetitions, and fertilization was in the form of urea, as follows: 0 kg/ha - K, 51 kg/ha (23 kg N/ha) -N1, 152 kg/ha (70 kg N/ha) -N2 te 254 kg/ha (117 kg N/ha) -N3. The grapes were harvested according to repetitions. The obtained research results indicated a positive effect of nitrogen fertilization on musts quality, especially towards nitrogen compounds. There were significant differences between cultivars and production years. Nitrogen treatments by themselves differed significantly, so application of 70 kg N/ha in many cases was enough to perform differences between parameters measured. But, generally, all nitrogen compounds concentrations were very low. As the resume of the results, we can conclude that nitrogen fertilization modified chemical composition of musts examined. At the end, there is a strong need to proceed with research, starting with nitrogen dynamics in the soil and grapevine, and continuing till the must to ensure optimal conditions for alcoholic fermentation performance, which can further guarantee final wines of better quality.

UVOD

Razina dušika u moštu iskazana kao sadržaj ukupnog dušika te asimilacijskog dušika jedan je od značajnijih čimbenika koji utječu na rast i razmnožavanje kvašćevih stanica, brzinu i tijek alkoholne fermentacije te sintezu velikog broja kemijskih spojeva koji nastaju tijekom alkoholne fermentacije, te imaju značajan utjecaj na kakvoću vina. Nedovoljna opskrbljenost mošta asimilacijskim dušikom a čiji osnovni izvor su slobodne aminokiseline i amonijak mogu uvjetovati premalu biomasu kvašćevih stanica što za posljedicu najčešće ima usporavanje ali i potpuno zaustavljanje tijeka fermentacije. Kao minimalna koncentracija asimilacijskog dušika koja je potrebna za normalno odvijanje alkoholne fermentacije navodi se koncentracija od 140 mg/l slobodnog amino dušika [4]. Slobodni amino dušik „free amino nitrogen“ – FAN vrlo često služi kao pokazatelj opskrbljenosti dušikom, odnosno njegove dostupnosti kvascu koji ga koristi za rast i razmnožavanje [2,8]. Vrlo često se suma FAN-a i amonijaka uzima kao „yeasts assimilable nitrogen“ – YAN [14,18], a predstavlja dušik koji su kvasci u stanju asimilirati. Upravo Spayd i sur. [14] navode da je među 7 pokusnih kultivara Chardonnay imao najvišu koncentraciju YAN-a, u prosjeku 254 mg N/l. Niska razina YAN-a u moštu uzrok je smanjenja populacije kvasaca i usporavanja fermentacije [4]. Taillander i sur. [16] utvrdili su da je razina od 120 mg/l asimilacijskog dušika nedovoljna za dovršenje procesa fermentacije. Prema nekim istraživačima [1] potrebno je najmanje 140 mg N/l da bi kvasci u potpunosti mogli razgraditi šećer prisutan u moštu. Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi da li i u kojoj mjeri dušična gnojidba utječe na povećanje razine ukupnog dušika, odnosno FAN-a i amonijaka u grožđu Chardonnaya, Graševine i Rizlinga rajnskog.

MATERIJALI I METODE

Gnojidbeni pokus u kojem su obuhvaćeni kultivari Graševina, Chardonnaya i Rizling rajnski provedeni su tijekom 2006. i 2007. godine, na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu u Jazbini, koja se nalazi u sklopu Agronomskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu. Vinograd je posađen 1995. godine, a sva tri kultivara cijepljena su na podlogu V. Berlandieri x V. riparia SO4. Uzgojni oblik je dvostruki Guyot. Razmak između redova u pokusnom dijelu vinograda je 2,1 m, a između trsova 1,2 m, što daje sklop od 3900 trsova po hektaru. U pokusu su zastupljeni slijedeći klonovi: Graševina ISV-1, Chardonnay R-8 te Rizling rajnski R-2.. Pokus u vinogradu bio je postavljen u četiri tretmana, svaki u tri repeticije kao slučajni blokni raspored. Svaki blok sastojao se od 8 trsova, što ukupno čini 96 pokusnih trsova po kultivaru. Grožđe je brano u plastične sanduke po tretmanima te je svaka repeticija unutar tretmana prerađena posebno. Grožđe je muljano i runjeno te nakon 24 sata taloženja mošta uzeti su uzorci za daljnje analize. U pokusu je kao dušično gnojivo poslužio proizvod „Petrokemije“ d.o.o., tzv. „Urea N 46“. U obje pokusne godine gnojivo je aplicirano po završetku cvatnje i oplodnje. Uz to vodilo se računa i o količini vlage u tlu, kako bi se gnojivo u cijelosti otopilo u tlu. Gnojivo je aplicirano na način da je u neposrednu blizinu svakog od pokusnih trsova ručno razbacana zadana količina gnojiva, nakon čega je gnojivo uneseno u tlo plitkim zaoravanjem sa rotacionom drljačom. Tretmani

obuhvaćeni pokusom su kontrola (bez aplikacije dušičnog gnojiva); N1 (aplikacija 23 kg N/ha); N2 (aplikacija 39 kg N/ha); N3 (aplikacija 117 kg N/ha).

Ukupni dušik (TN) u moštu i vinu određen je referentnom metodom propisanom prema OIV-u [12]. Uzorak je razoren sulfatnom kiselinom uz prisustvo katalizatora u jedinici za razaranje Gerhard. Oslobođeni amonijak je određen potencimetrijski natrijevim hidroksidom u destilacijskoj jedinici Gerhard.

Slobodni α (primarni) amino dušik (FAN), određivan je upotrebom ninhydrina prema Lie [10].

Amonijak u moštu određen je spektrofotometrijskom metodom. U prisutnosti glutamat-dehidrogenaze (GIDH) i reduciranog oblika niktonamid-adenin-dinukleotid-fosfata (NADPH), amonijak tj. amonijev kation, NH_4^+ , prisutan u otopini, reagira s 2-oksoglutaratom kako bi nastala L-glutaminska kiselina i NADP^+ . Količina NADP^+ koja nastaje je stehiometrijski određena sa količinom amonijaka u moštu. Mjerilo se smanjenje apsorpcije pri 340 nm na spektrofotometru Specord 400 Jena. Korišteni su reagensi i procedura za određivanje amonijaka u moštu tvrtke Megazyme (Irska).

Statistička analiza rezultata uključila je provedbu ANOVA-e na razini signifikantne različitosti od 5% pri čemu su izvori varijabiliteta bile razine dušične gnojidbe.

REZULTATI S RASPRAVOM

Ukupni dušik

Iz prikazanih rezultata vidljivo je da gnojidba nije utjecala na sadržaj ukupnog dušika u moštu Graševine i Rizlinga rajnskog u obje istraživačke godine. Jedina statistički opravdana razlika je ona kod Chardonnaya iz 2007. godine, gdje je gnojidba N2 utjecala na značajno viši sadržaj ukupnog dušika u odnosu na kontrolni mošt. Ovakvi rezultati u skladu su sa istraživanjem koje su proveli Bell i sur. [3] gdje također povećavanjem razine gnojidbe iznad 112 kg N/ha nije došlo i do daljnjeg povećanja sadržaja ukupnog dušika u moštu. Nadalje, razine ukupnog dušika izmjerene u ovom pokusu u skladu su istraživanjem Kliewera [9], koji je između 49 uzoraka mošta crnih i bijelih sorata ustanovio da se sadržaj ukupnog dušika kretao od 40 do 260 mg/l. Veliki broj autora ukazao je da aplikacija dušika neminovno utječe na povećanu koncentraciju ukupnog dušika u moštu [3,7,13]. Slično su ustanovili i Van Leeuwen i sur. [17], koji su izmjerili značajne razlike u sadržaju ukupnog i asimilacijskog dušika između kontrolnog (0 kg N/ha) i mošta porijeklom sa tretiranih trsova (45 kg N/ha). Spayd i sur., [13] utvrdili su da razina ukupnog dušika u moštu, amonijak i slobodni amino dušik rastu linearno sa povećanjem razine gnojidbe.

Slobodni amino dušik (FAN)

U tablici 2 prikazani su rezultati mjerenja sadržaja FANA kod triju pokusnih kultivara. Statistički značajne razlike zabilježene su kod sva tri kultivara u 2006. godini, te samo kod Chardonnaya 2007. godine. Na osnovu postignutih rezultata možemo zaključiti

da su sve varijante gnojidbe utjecale na povećan sadržaj FANA u moštu pokusnih kultivara, premda za N1 varijantu to možemo tvrditi samo za R. rajnski iz 2006.g. Premda u ostalim izračunima nismo zabilježili i statistički značajnu razliku, možemo konstatirati da je razina FANA gotovo u pravilu viša u gnojidbenim varijantama u odnosu na kontrolu. Nadalje, zamjetno je da je izostalo proporcionalno povećavanje sadržaja FANA sa povećavanjem gnojidbenih doza, te ovakav slučaj bilježimo tek kod Graševine 2006. godine. U četiri od šest slučajeva vidljivo je da gnojidba sa 117 kg N/ha nije donijela značajnije razlike po pitanju sadržaja slobodnog amino dušika. Suprotno našim rezultatima, Spayd i sur. [13] ustanovili su da je aplikacijom 56 kg N/ha udvostručena razina FANA u moštu Rizlinga rajnskog u odnosu na kontrolu, te se sukcesivno povećavala sa intenziviranjem gnojidbe do maksimalnih 224 kg N/ha.

Tablica 1. Utjecaj gnojidbe dušikom na sastav ukupnog dušika u moštu (mg/L), Chardonnay, Rizling rajnski, Graševina, Jazbina, 2006-2007. g.

Table 1. Nitrogen fertilization impact on total nitrogen composition of grape juice (mg/L), Chardonnay, White Riesling, Italian Riesling, 2006-2007., Jazbina

Tretmani	CHARDONNAY		R. RAJNSKI		GRAŠEVINA	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007
Kontrola	160,0 a	80,0 a	170,0 a	110,0 a	110,0 a	120,0 a
23 kg N/ha	120,0 a	90,0 ab	170,0 a	120,0 a	130,0 a	150,0 a
70 kg N/ha	160,0 a	140,0 b	220,0 a	120,0 a	130,0 a	130,0 a
117 kg N/ha	130,0 a	120,0 ab	180,0 a	120,0 a	130,0 a	130,0 a
LSD 5%	n.s.	50,0	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tablica 2. Utjecaj gnojidbe dušikom na sastav FANA u moštu (mg/L), Chardonnay, Rizling rajnski, Graševina, Jazbina, 2006-2007. g.

Table 2. Nitrogen fertilization impact on FAN composition of grape juice (mg/L), Chardonnay, White Riesling, Italian Riesling, 2006-2007. Jazbina,

Tretmani	CHARDONNAY		R. RAJNSKI		GRAŠEVINA	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007
Kontrola	26,11 a	20,66 a	13,22 a	24,05 a	17,77 a	22,35 a
23 kg N/ha	19,91 a	31,05 ab	23,92 b	25,58 a	20,48 a	25,17 a
70 kg N/ha	28,31 a	45,33 a	29,02 b	34,28 a	25,07 b	33,61 a
117 kg N/ha	40,38 b	36,19 ab	21,79 ab	30,92 a	31,19 c	23,63 a
LSD 5%	12,48	16,98	8,72	n.s.	3,99	n.s.

Također, valja uočiti da su vrijednosti sadržaja slobodnog amino dušika značajno niže od onih koje se navode kao optimalne za nesmetano odvijanje procesa fermentacije. Nekolicina autora navodi razinu od 140 mg N/l [1,5,8], što podrazumijeva dušik koji se može iskoristiti od strane kvasaca, dakle, asimilacijski dušik (YAN). Međutim, kemijska definicija FANA [2] ne razlikuje spojeve koji mogu biti iskorišteni od strane

Saccharomyces kvasaca, i one koji se ne mogu iskoristiti. Stoga, analiza FANA obično pokazuje uvećanu količinu pristupačnog ili iskoristivog slobodnog amino dušika, a istovremeno podrazumijeva značajno nižu razinu spojeva kao što je primjerice arginin, koji itekako doprinosi rastu stanica kvasaca. Carnevillier i sur. [6] uspoređivali su Chardonnay iz različitih proizvodnih regija svijeta. Primjera radi, prosječna razina FANA izmjerena u pojedinim regijama Francuske kretala se od 150 do 240 mg/l, dok je najviša razina izmjerena u vinu Chardonnaya koje potječe iz Južne Afrike (370 mg/l) i SAD-a (300 mg/l). Nadalje, Spayd i sur. [15] su na uzorku od 120 moštava Chardonnaya i 142 mošta Rizlinga rajnskog iz vinogradarskih regija savezne države Washington, došli do prosječnih 251 mg/l odnosno 156 mg/l slobodnog amino dušika. Isti istraživači navode da je 96% uzoraka Rizlinga rajnskog sadržavalo manje od 400 mg/l FANA, a kod 77% uzoraka izmjereno je manje od 200 mg/l istog, te je među svim bijelim pokusnim kultivarima Rizling rajnski u prosjeku najsiromašniji slobodnim amino dušikom. Usporedbom sa rezultatima naših istraživanja lako je zaključiti kako je sadržaj FANA u moštu svih pokusnih kultivara značajno niži, i zasigurno daleko od zadovoljavajućeg.

Tablica 3. Utjecaj gnojidbe dušikom na sastav amonijaka u moštu (mg/L), Chardonnay, Rizling rajnski, Graševina, Jazbina, 2006-2007. g.

Table 3. Nitrogen fertilization impact on ammonia composition of grape juice (mg/L), Chardonnay, White Riesling, Italian Riesling, 2006-2007., Jazbina

Tretmani	CHARDONNAY		R. RAJNSKI		GRAŠEVINA	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007
Kontrola	10,87 a	38,60 a	14,57 a	40,89 a	6,02 a	12,37 a
23 kg N/ha	11,00 a	43,10 a	24,76 a	28,61 b	7,18 a	16,97 a
70 kg N/ha	5,30 ab	43,95 a	22,38 a	43,14 a	12,37 a	17,75 a
117 kg N/ha	21,20 ac	53,16 a	25,09 a	41,17 a	12,23 a	20,23 a
LSD 5%	12,04	n.s.	n.s.	11,32	n.s.	n.s.

Tablica 4. Utjecaj gnojidbe dušikom na sastav asimilacijskog dušika (YAN) u moštu (mg/L), Chardonnay, Rizling rajnski, Graševina, Jazbina, 2006-2007. g.

Table 3. Nitrogen fertilization impact on assimilable nitrogen composition of grape juice (mg/L), Chardonnay, White Riesling, Italian Riesling, 2006-2007., Jazbina

Tretmani	CHARDONNAY		R. RAJNSKI		GRAŠEVINA	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007
Kontrola	36,98a	59,26 a	27,79 a	64,94 ab	23,79 a	35,38 a
23 kg N/ha	30,91	74,15 a	48,68 b	54,34 a	27,66 a	42,14 a
70 kg N/ha	33,61a	89,29 a	51,40 b	77,42 b	37,44 ab	51,36 a
117 kg N/ha	61,62b	89,35 a	46,89 b	72,09 b	43,41 b	43,86 a
LSD 5%	17,27	n.s.	14,91	15,01	14,26	n.s.

Amonijak

U tablici 3 su prikazani rezultati prosječnog sadržaja amonijaka u moštu pokusnih sorata. Statistička analiza pokazala je negativan utjecaj gnojidbe sa 23 kg N/ha na sadržaj amonijaka u moštu R. rajnskog iz 2007. godine. Nadalje, između N2 i N3 moštova Chardonnaya iz 2006. godine također je zabilježena statistički značajna razlika u korist intenzivnije varijante gnojidbe dušikom. Vrijednosti su ipak nešto više u 2007. godini, premda su sve prosječne koncentracije niže od 55 mg/L. Prema istraživanju koje su proveli Bell i sur. [3] dušičnom gnojidbom udvostručena je razina amonijaka u moštu, u odnosu na neprihranjeni, dakle, mošt kontrolnih trsova. No, važno je napomenuti da je razina udvostručena pri gnojidbi sa 112 kg N/ha, dok se daljnjim povećanjem razine gnojidbe na 224 odnosno 448 kg N/ha koncentracija amonijaka nije značajno mijenjala. Vrlo je indikativno i istraživanje Spayda i sur. [13] koji su uz kontrolnu varijantu, primijenili tri razine gnojidbe dušikom: 56, 112 i 224 kg/ha. Sa svakim povećanjem razine gnojidbe povećavale se i koncentracija amonijaka u moštu Rizlinga rajnskog, i to od kontrolnih 12 mg/l do najviših 107 mg/l. Nasuprot ovim istraživanjima, Monteiro i Bisson [11] navode da nije zabilježena povezanost između gnojidbe dušikom i sadržaja amonijaka u moštu triju sorata. Uzimajući u obzir sve navedeno, možemo zaključiti da su razine amonijaka u moštovima svih triju sorata datog agroekološkog područja vrlo niske, te svakako treba razmotriti intenziviranje gnojidbe, pogotovo u slučaju ponavljanja sličnih rezultata po pitanju sadržaja slobodnog amino dušika i pojedinačnih aminokiselina.

Asimilacijski dušik

U tablici 4 prikazane su prosječne vrijednosti asimilacijskog dušika za sve tri sorte u obje pokusne godine. Koncentracija asimilacijskog dušika tj. onog koji je iskoristiv od strane kvasaca dobivena je kao rezultat zbroja vrijednosti slobodnog amino dušika (FAN) i amonijaka [5]. Statistička razlika zabilježena je u moštovima Rizlinga rajnskog u obje godine istraživanja, te kod Chardonnaya i Graševine iz 2006. godine. Ono što sa sigurnošću možemo tvrditi jest da je varijanta gnojidbe sa 117 kg N/ha (N3) utjecala na povećanje sadržaja asimilacijskog dušika u moštu u svim navedenim slučajevima. Nadalje, u svim slučajevima osim Chardonnaya 2006. godine, vidljivo je da se gnojidba sa 117 kg N/ha nije značajno razlikovala u odnosu na gnojidbu sa 70 kg N/ha. Vrijednosti YANA dobivene u ovom istraživanju značajno su niže od potrebnih 140 mg/l za nesmetano odvijanje procesa fermentacije [1]. Spayd i sur. [14] dodatkom 112 kg N/ha postigli su razinu od 150 mg/L asimilacijskog dušika, što nama u ovom istraživanju evidentno nije uspjelo.

ZAKLJUČCI

Sadržaj ukupnog dušika (TN) u moštu povećao se uslijed dušične gnojidbe samo kod sorte Chardonnaya iz 2007. godine. Razina slobodnog amino dušika (FAN) u moštu povećala se pod utjecajem dušične gnojidbe kod svih kultivara 2006. godine, a u 2007. samo kod sorte Chardonnay. Viši amonijak u moštu kod Chardonnaya 2006. i Rizlinga rajnskog 2007. utvrđen je u svim gnojidbenim varijantama u usporedbi s

kontrolom. Ukupni asimilacijski dušik (YAN) bio je viši u moštovima gnojidbenih varijanti svih kultivara 2006. godine, ali samo kod Rizlinga rajnskog 2007. godine. Iz svega navedenog može se zaključiti kako je gnojidba dušikom u pravilu utjecala na povećanje razine dušičnih parametara u moštu, premda je općenito koncentracija istih bila vrlo niska, te bi kao takva zasigurno bila nedostatna za nesmetano odvijanje procesa alkoholne fermentacije. Dobiveni rezultati ukazuju na kompleksnost problematike te potrebu za daljnim istraživanjima.

LITERATURA

- [1] Agenbach, W. A. A., A study of must nitrogen content in relation to incomplete fermentations, yeast production and fermentation activity, In: Proceedings of South African Society for Enology and Viticulture, Cape Town (1977)
- [2] Amerine, M. A., and C. S., Ough, Methods for analysis of musts and wines, John Wiley and Sons, New York, 794p (1980)
- [3] Bell, A. A., C. S. Ough, W. M. Kliewer, Effects on must and wine composition, rates of fermentation and wine quality of nitrogen fertilization *Vitis vinifera* var. Thompson Seedless grapevines, American Journal of Enology and Viticulture. (1979) 30 (2): 124-129
- [4] Bell, S.-J., Henschke, P. A., Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine, Australian Journal of Grape and Wine Research. (2005) 11(3): 242-295
- [5] Bely, M., J. M., Sablayrolles, P., Barre, Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic fermentation in oenological conditions, Journal of Fermentation Bioengineering. (1990) 70: 246-252
- [6] Carnevillier, V., P., Schlich, J., Guerreau, C., Charpentier, M., Feuillat, Characterization of the production regions of Chardonnay wines by analysis of free amino acids, *Vitis*. (1999) 38(1): 37-42
- [7] Conradie, W. J., D., Saayman, Effects of long-term nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization on Chenin blanc vines. II. Leaf analyses and grape composition, American Journal of Enology and Viticulture. (1989) 40 (2): 91-98
- [8] Ingledew, W. M., and R. E., Kunkee, Factors influencing sluggish fermentations of grape juice, American Journal of Enology and Viticulture. (1985) 36: 65-76
- [9] Kliewer, W. M., Free amino acids and other nitrogenous substances in grape wines, Journal of Food Science. (1970) 35: 17-21
- [10] Lie, S., The EBC-Ninhydrin method for determination of free alpha amino nitrogen (FAN). J. Inst. Brew. (1973) 79: 37-41

- [11] Monteiro, F. F., L., Bisson, Biological assay of nitrogen content of grape juice and prediction of sluggish fermentations, *American Journal of Enology and Viticulture*. (1991) 42(1): 47-57
- [12] O.I.V. „International Code of Oenological Practices”, Paris, 2001.
- [13] Spayd, S. E., R. L., Wample, R. G., Evans, R. G., Stevens, B. J., Seymour, C. W., Nagel, Nitrogen fertilization of White Riesling grapes in Washington. Must and wine composition, *American Journal of Enology and Viticulture*. (1994) 45(1): 34-42
- [14] Spayd, S. E., C. W., Nagel, C. G., Edwards, Yeast growth in Riesling juice as affected by vineyard nitrogen fertilization, *American Journal of Enology and Viticulture*. (1995) 46(1): 49-55
- [15] Spayd, S. E., J., Andersen-Bagge, Free amino acid composition of grape juice from 12 *Vitis vinifera* cultivars in Washington, *American Journal of Enology and Viticulture*. (1996) 47(4): 389-402
- [16] Taillandier, P., F. R., Portugal, A., Fuster, P., Strehaiano, Effect of ammonium concentration on alcoholic fermentation kinetics by wine yeasts for high sugar content, *Food Microbiology*. (2007) 24: 95-100
- [17] Van Leeuwen, C., Friant, Ph., Soyer, J.-P., Molot, Ch., Chone, X., Dubordieu, D., Measurement of total nitrogen and assimilable nitrogen in grape juice to assess vine nitrogen status, *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. (2000) 34(2): 75-82
- [18] Vilanova, M., M., Ugliano, C., Varela, T., Siebert, I. S., Pretorius, P., A., Henschke, Assimilable nitrogen utilisation and production of volatile and non-volatile compounds in chemically defined medium by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts, *Appl. Microbiol Biotechnol*. (2007) 77: 145-157