

KORRELASIES TUSSEN GESONDHEIDSTOESTAND VAN STEENDRUIWE,  
CHEMIESE SAMESTELLING VAN DIE MOS EN  
ORGANOLEPTIESE BEOORDELING VAN DIE WYN.

deur

P.J.A. VOS.



Skripsie ingelewer vir die graad van MAGISTER IN LANDBOU  
aan die Universiteit van Stellenbosch.

STELLENBOSCH.

November, 1966.

DANKBETUIGINGS.

Hiermee wil ek graag my oopregte dank betuig aan dr. J.A. van Zijl, onder-direkteur van die Navorsingsinstituut vir Wynbou en Wynbereiding, Stellenbosch, vir sy waardevolle leiding en hulp tydens die ondersoek en met die voorbereiding van hierdie skripsie.

Aan mnr. C.T. de Waal en prof. C.J. Orffer van die Fakulteit van Wynbou en Wynbereiding aan die Universiteit van Stellenbosch, my oopregte dank vir hul belangstelling, raad en hulp met die voorbereiding van die geskrif.

Ek is ook dank verskuldig aan mej. C.S. Birgfellner vir die hulp verleen met die bepaling van aminosure en mej. B.B. Herbst vir die statistiese verwerking van die resultate.

My oopregte dank aan my eggenote, Maretha, vir die tik van die skripsie en ondersteuning verleen tydens die werk aan hierdie ondersoek.

Ten slotte wil ek ook die Departement van Landbou Tegniese Dienste bedank vir die verlof om die resultate van hierdie ondersoek vir skripsie-doeleindes te gebruik.

P.J.A. Vos.

STELLENBOSCH.

November, 1966.

INHOUD.bladsy.OPSOMMING.INLEIDING.

(i)

<u>HOOFSTUK 1. MATERIAAL EN TEGNIEKE.</u>	1
1.1. <u>MATERIAAL.</u>	1
1.2. <u>TEGNIEKE.</u>	2
1.2.1. Voorbereiding en bewaring van mosmonsters.	2
1.2.2. Bepalingsmetodes.	3
1.2.2.1. Stikstof.	3
1.2.2.2. Totale suur.	4
1.2.2.3. Vlugtige suur.	4
1.2.2.4. Suiker.	4
1.2.2.5. SO <sub>2</sub> .	4
1.2.2.6. Vry aminosure.	4
1.2.2.7. H <sub>2</sub> S in die gistingsgas.	12
1.2.2.8. Diasetiel en asetoïen.	16
1.2.2.9. Organoleptiese beoordeling.	19
1.2.2.10 Proteïentroebeling.	23
<u>HOOFSTUK 2. BESPREKING VAN RESULTATE.</u>	24
2.1. Suiker.	24
2.2. Totale suur.	26
2.3. Vlugtige suur.	28
2.4. Stikstof.	29
2.4.1. Totale stikstof.	29

2.4.2. Vry stikstof.	30
2.4.3. Vry aminosure.	31
2.4.4. Proteïen stikstof.	34
2.5. H <sub>2</sub> S in die gistingsgas.	36
2.6. Diasetiel en asetofien.	45
2.7. Organoleptiese beoordeling.	52
 <u>HOOFSTUK 3. KORRELASIEKOËFFISIËNTE.</u>	
3.1. Berekening van parsiële korrelasies van die 1964-proefmonsters.	55
 <u>HOOFSTUK 4. BESPREKING VAN KORRELASIES.</u>	
4.1. Suiker en CO <sub>2</sub> .	58
4.2. Suiker en totale suur.	58
4.3. Totale suur en vlugtige suur.	60
4.4. Diasetiel en vlugtige suur.	63
4.5. Diasetiel en organoleptiese beoordeling.	66
4.6. Totale stikstof en vry stikstof.	70
4.7. H <sub>2</sub> S in die gistingsgas en totale stikstof.	71
4.8. H <sub>2</sub> S in die gistingsgas en vlugtige suur.	76
4.9. H <sub>2</sub> S in die gistingsgas en diasetiel.	78
4.10 H <sub>2</sub> S in die gistingsgas en organoleptiese beoordeling.	80
4.11 Totale suur en organoleptiese beoordeling.	84
 <u>HOOFSTUK 5. GEVOLGTREKKINGS.</u>	
<u>LITERATUURVERWYSINGS.</u>	87
<u>TABELLE EN FIGURE.</u>	90

## OPSUMMING.

Met hierdie ondersoek is nagegaan of sommige van die belangrikste faktore, wat die kwaliteit en die gesondheidstoestand van Steendruwe kan beïnvloed, deur middel van chemiese metodes bepaal kan word en in hoeverre hierdie bepalings kan dien as 'n maatstaf vir die bepaling van druifkwaliteit.

As proefmateriaal is 22 monsters van steendruwe uit die ver- naamste wynbou-distrikte versamel, ontstingel, gepars, chemies ontleed, uitgegis en die wyn aan organoleptiese beoordelings onderwerp. Die ondersoek is herhaal met 9 monsters wat versamel is volgens die mate van bederf wat hulle getoon het.

Die ontledings het ingesluit die bepalings van die suikergehalte, totale en vlugtige suurgehalte, diasetielgehalte, totale en vry stikstofgehalte, vry aminosuurgehalte en proteïentroebeling van die mos. Die gewigsafname in  $\text{CO}_2$  gedurende gisting en die  $\text{H}_2\text{S}$ -gehalte in die gistingsgas is bepaal.

Al hierdie resultate is statisties verwerk en beduidende korrelasies is verkry tussen:-

1. Die vlugtige suur- en diasetielgehalte van die mos;
2. Totale en vry stikstofgehalte van die mos;

3. Suikergehalte van die mos en die gewigsafname in  $\text{CO}_2$  gedurende gisting;
  4. Organoleptiese beoordeling van die wyn en totale suurgehalte van die mos;
  5. Vlugtige en totale suurgehalte van die mos;
  6. Organoleptiese beoordeling van die wyn en  $\text{H}_2\text{S}$  in die gistingsgas;
  7. Vlugtige suurgehalte van die mos en  $\text{H}_2\text{S}$  in die gistingsgas en;
  8. Die totale stikstofgehalte van die mos en  $\text{H}_2\text{S}$  in die gistingsgas.
-

## INLEIDING.

Vir die bereiding van 'n wyn van hoogstaande kwaliteit, vereis die wynmaker gesonde, ryp druwe, vry van enige besmetting wat moontlik die latere kwaliteit daarvan nadelig kan beïnvloed. 'n Probleem wat algemeen by wynbereiding voorkom, is dat van hierdie oënskynlik geskikte druwe, dikwels 'n wyn verkry word wat nie aan die verwagte vereistes voldoen nie.

Uit die aard van die saak is dit nie so maklik om die kwaliteit van druwe te omskryf nie. Daar is 'n hele aantal faktore by betrokke wat ten nouste met mekaar saamhang en selfs die organoleptiese beoordeling van die wyn wat uiteindelik van hierdie druwe verkry word, is onderhewig aan die persoonlike voorkeur van die individuele fynproeër.

Die belangrikste faktor by die bepaling van druifkwaliteit is die rypheidsgraad en dit is essensieël dat die druwe wat aan die kelder gelewer word, in 'n optimale toestand van rypheid verkeer. Sommige wynmakers bepaal die rypheidsgraad op 'n suikerbasis terwyl ander van die suiker/suur verhouding gebruik maak. Die suiker/suur verhouding as 'n belangrike faktor by die bepaling van die rypheidsgraad word beklemtoon deur die werk van Amerine & Winkler (1941), La Rosa (1955), Anderson (1957) en ander navorsers.

Wyn van 'n swak gehalte is dikwels die gevolg van druiwe wat onderhewig was aan die aanval en bederf deur sekere mikro-organismes, veral tydens ongunstige weerstoestande. Die kwaliteit van wyndruiwe kan dus nie sonder meer aanvaar word nie en die mikrobiologiese toestand van die druiwe moet dus ook in aanmerking geneem word.

Indien druiwe aan 'n mikroskopiese ondersoek onderwerp sou word, kan die aanwesigheid van ongewenste mikrobes moontlik deur middel van direkte tellings vasgestel word. Alle mikro-organismes is egter nie verantwoordelik vir die bederf van druiwe nie sodat 'n betroubare vertolking van so 'n mikroskopiese ondersoek, die deeglike ondervinding van laboratoriumtegnici vereis en ook tydrowend is. Daar bestaan dus 'n behoefte aan 'n betroubare chemiese metode waarvolgens die mikrobiologiese toestand van die druif bepaal kan word.

Hays & Riester (1952) en Murdock, Troy & Tolinozzo (1952) wat die kwaliteitskontrole van lemoensap konsentrate ondersoek het, het gevind dat sekere suurverdraende bakterieë van die genera Lactobacillus en Leuconostoc verantwoordelik was vir die vorming van aansienlike hoeveelhede diasetiel as metaboliese eindproduk van hul werking. Hierdie sogenaamde diasetieltoets wat ontwikkel is deur Hill, Wenzel & Barretto (1954) is 'n toepassing van die bekende Voges-Proskauer-reaksie en het besonder betroubare resultate gelewer. Die toepassing van hierdie toets kan dus moontlik ook by

druive doeltreffend aangewend word.

Swawel, in sy verskillende chemiese vorms, word lank reeds doeltreffend aangewend om die groei van ongewenste mikro-organismes op druive en in wyn te kontroleer. Afgesien van die voordeleige gebruik van  $\text{SO}_2$ , kan daar gedurende die alkoholiese gisting en ook daarna, swawel verbinding vorm wat uiteraard onaangename geure en smake aan die wyn verleen en gevolglik die organoleptiese kwaliteit sterk benadeel. So onderskei Widmer (1936) tussen die swawel "böckser" ( $\text{H}_2\text{S}$ ) en gis "böckser" (vlugtige organiese swawel verbinding) van wyn.

Volgens Drews, Specht & Wiesenack (1957) bestaan daar geen twyfel dat die vorming van  $\text{H}_2\text{S}$  en ander ongewenste swawelverbinding gedurende gisting deur middel van ensimatisiese werking plaasvind nie. Die werk van Rankine (1963), Thoukis & Stern (1962) en Brenner, Owades & Golyzniak (1953, 1954), toon dat die ontstaan van hierdie ongewenste swawelverbinding onder andere toegeskryf kan word aan die swawelresidu op druive, die tipe gis verantwoordelik vir die gisting, die stikstofgehalte van die mos, swaweldioksiedkonsentrasies, laat oortappe en sovoorts.

Hierdie wangeure word sporadies in sommige jong wyne aangetref sodat dit by die bepaling van druifkwaliteit ook in aanmerking geneem moet word.

Met hierdie ondersoek is nagegaan of sommige van die belangrikste faktore wat druifkwaliteit kan beïnvloed, deur middel van chemiese metodes bepaal kan word en in hoeverre hierdie bepalings kan dien as 'n maatstaf vir die bepaling van wynkwaliteit. Daar word dus gepoog om deur middel van chemiese metodes vooraf vas te stel of 'n betrokke druif 'n wyn van hoogstaande gehalte sal lewer, al dan nie.

---

HOOFSTUK 1.MATERIAAL EN TEGNIEKE.1.1. MATERIAAL.

Die klimaatstoestande en gronde van Suid-Afrikaanse wynboudistrikte verskil tot 'n groot mate vanmekaar en kan 'n belangrike invloed op die kwaliteit van wyndruwe uitoefen. Met hierdie ondersoek is derhalwe Steendruwe as proefmateriaal gekies aangesien dit 'n populêre variëteit is wat wydverspreid in al die vernaamste wynaanduserende distrikte van die Kaap verbou word.

Die distrikte vanwaar proefmonsters ingesamel is, sluit onder andere in Constantia, Stellenbosch, Paarl, Wellington, Tulbagh, Malmesbury, Riebeeck Kasteel, Worcester, Robertson, Bonnievale en Montagu (Tabel 1).

In oorleg met die verskillende wynkelders, is proefmonsters geneem op 'n stadium wat deur die betrokke wynmakers as geskik vir parsdoeleindes beskou is. 'n Verteenwoordigende monster van 50 lb druiwe elk, is uit verskillende wingerde versamel. Altesaam 22 monsters is geneem. Van die proefmonsters in Tabel 1, het monsters 3, 4, 10, 13, 14, 15, 16, 18 en 20 as redelik gesond voorgekom. Die res van die monsters het 'n mindere of meerdere mate van mikrobe

besmetting getoon, terwyl by monsters 21 en 22 'n baie hoë mate van besmetting voorgekom het.

Vir herhaling van die ondersoek, is die aantal monsters verminder na 9 en slegs uit die proefphase Constantia, Nietvoorbij en Elsenburg geneem. Hierdie monsters is versamel ten opsigte van die mate van bederf wat hulle getoon het. Uit elke afsonderlike wingerd is 3 verteenwoordigende monsters versamel wat; (i) heeltemal gesond voorgekom het, (ii) 'n gemiddelde mate van bederf getoon het en (iii) die grootste mate van bederf getoon het. (Tabel 2).

Die oorsprong en datum van insameling is noteer en die monsters so gou moontlik na insameling gepars en verder verwerk.

## 1.2. TEGNIEKE.

### 1.2.1. Voorbereiding en bewaring van mosmonsters.

Die afsonderlike druiwemonsters is so gou moontlik na die insameling daarvan, verder verwerk om enige verdere mikrobe aktiwiteit te verhoed.

Die druwe is ontstingel en met behulp van 'n "Hafico" hidrouliese pers gepars onder 'n druk van  $400 \text{ kg/cm}^2$ . Die  $\text{SO}_2$ -gehalte van die mos is deur die byvoeging van kaliummetabisulfiet tot 'n

konsentrasie van 150 mg/l verhoog.

Ten einde ontslae te raak van enige pitte, doppe en vleisdeeltjies, is al die monsters gesentrifugeer teen 2500 o.p.m. vir 15 minute.

Ses liter van elke mosmonster is in gesikte glashouers geplaas, gekurk en dadelik diepgevries vir verdere bewaring. Wanneer benodig, is die monsters oornag gelaat om te ontdooi en goed gemeng om enige tartrate wat uitgesak het, weer in oplossing te bring. Die benodigde hoeveelheid is geneem en die res weer diepgevries.

Bepalings wat moontlik deur die diepvriesing van die monsters beïnvloed kon word, is voor die diepvriesing daarvan uitgevoer.

#### 1.2.2. Bepalingsmetodes.

##### 1.2.2.1. Stikstof.

Die stikstofbepalings op die mos is uitgevoer voordat enige proteïen as gevolg van die bevriesing kon koaguleer.

Die totale en vry stikstofgehalte van die eksperimentele mos-monsters is deur die mikro-Kjeldahl-metode van Linstead, Elvidge & Whally (1955) bepaal.

#### 1.2.2.2. Totale suur.

Die totale suur bepalings is deur middel van titrasies met standaard 0.1N NaOH uitgevoer (Amerine 1955). Dit is gedoen direk na die pars en sentrifugering van die mos monsters uitgevoer aangesien die diepvries van die monsters 'n groot mate van tartraatuitskeiding tot gevolg het.

#### 1.2.2.3. Vlugtige suur.

Vlugtige suur bepalings is volgens die stoomdistillasie metode gedoen (Amerine 1955).

#### 1.2.2.4. Suiker.

Die suikergehalte van die mos is met behulp van 'n Ballingsaccharometer bepaal (Amerine 1955).

#### 1.2.2.5. SO<sub>2</sub>.

Die bepaling van SO<sub>2</sub> het geskied volgens die volumetriese metode van Ripper (Amerine 1955).

#### 1.2.2.6. Vry aminosure.

Die kwantitatiewe bepaling van die vry aminosure in die mos is gedoen volgens die kolomchromatografiese metode van Moore, Spackman & Stein (1958) en Buys (1964).

##### (i) Skeiding van aminosure.

Die suur en neutrale aminosure is geskei op 'n kolom van

0.9 x 150cm wat voorsien is van 'n watermantel. Die kolom is in 6 seksies gepak met 'n vloeisnelheid van 14ml per uur by 50°C en 'n druk van 20cm Hg. „Aminex-MS; Fraction D", in die Na-vorm is as uitruilhars gebruik.

Voordat die monster opgedra is, is die kolom vir ten minste 1 uur by 50°C met die betrokke buffer konstant gehou. Met 'n druk van 10 cm Hg is 0.5 tot 1.0 ml van die monster op die kolom opgedra. Sodra die meniskus die oppervlakte van die hars bereik het, is die monster met 3 x 0.5 ml buffer pH 2.2 ingewas. Die ruimte bo die hars is dan met pH 3.25 buffer gevul op so 'n wyse dat geen lugblasies vorm nie. Hierop volg die eluering met pH 4.25 buffer om die eluering van valien en die daaropvolgende aminosure te verhaas. Die omruiling van pH 3.25 na pH 4.25 vind plaas nadat 206 ml eluaat opgevang is.

Die pH 3.25 en 4.25 buffers is opgemaak in 10 l hoeveelhede terwyl die pH 2.2 buffer in 500 ml hoeveelhede opgemaak is wanneer dit benodig was. Voor gebruik, is die pH 3.25 en 4.25 buffers eers gekook nadat tioglikol en BRIJ-35 bygevoeg is. Die kokende buffers is dadelik met 'n lagie nugol bedek en toegelaat om af te koel voor gebruik.

Die kolom is gedurende die eluering by 50°C gehou deur water van 'n getempereerde waterbad deur die mantel van die kolom te sirkuleer. Die eluaat wat die neutrale en suur aminosure bevat,

is opgevang in 1 ml fraksies met behulp van 'n fraksieversamelaar en 'n hewelmeganisme wat deur 'n kontroleerder en distribueerde geregleer is.

Die hars is geregenereer deur dit om die beurt met 2N NaOH en 2N HCl op 'n Buchner-tregter te behandel. Nadat dit herhaalde kere met gedistilleerdewater gewas is, is 'n 1:1 suspensie met pH 4.25 buffer daarvan berei. Die kolom is dan weer gepak en getempereer vir die volgende skeiding. 'n Tipiese skeiding word in Figuur 1 geïllustreer.

Die basiese aminosure is geskei deur gebruik te maak van 'n 0.9 x 50 cm kolom, voorsien van 'n watermantel. Die kolom is in twee sekssies gepak met „Aminex-MS; Blend Q-50”, in die Na-vorm. Gedurende die pakking is 'n vloeisnelheid van 20 ml per uur en 'n druk van 20 cm Hg gehandhaaf. Voor die opdra van die monster is die kolom by 50°C vir ten minste 1 uur konstant gehou. Die opdra van die monster en die daaropvolgende prosedure was presies dieselfde as voorheen, behalwe dat in hierdie geval net een buffer naamlik pH 4.26 gebruik is as elueermiddel.

Onmiddellik nadat die monster opgedra is, is die termostaat van die waterbad ingestel op 30°C om sodoende 'n temperatuurgradiënt te verkry. 'n Tipiese skeiding word in Figuur 2 aangetoon. Die uitruilhars is ook geregenereer soos reeds beskrywe.

(ii) Kwantitatiewe bepaling van aminosure.

Die bepalingsmetode berus op die kleurreaksie van die aminosure met ninhidrien soos beskrywe deur Moore & Stein (1954).

Die ninhidrien reaksiemengsel is net voor gebruik berei deur 2 gm ninhidrien en 0.24 gm hidriendantien in 75 ml "methyl cellosolve" op te los. Daarby is 25 ml van 'n sterk Na-asetaat buffer van pH 5.10 bygevoeg. Die "methyl cellosolve" is gereinig deur distillasie oor stannochloried sodat dit 'n negatiewe peroksiedtoets met 10% kaliumjodied gee. Gelyke volumes etanol (gedistilleer oor NaOH) en gedistilleerde water is gebruik as verdunningsmiddel. Elke reagens of nuwe buffers is getoets om seker te maak dat dit vry van ninhidrien positiewe reagense was.

(iii) Kleurontwikkeling.

Vir die bepaling van die aminosuurkonsentrasie in die 1 ml fraksies, is 0.5 ml van die ninhidrien reaksiemengsel tot elke proefbuis gevoeg. Die inhoud is goed gemeng deur versigtig te skud en vir presies 15 minute in 'n kokende waterbad gelaat. Onmiddellik na die buise uit die water gehaal is, is 5 ml van die verdunde alkohol bygevoeg en met rubberproppe afgesluit. Twee rakke van 25 proefbuise elk is meganies geskud vir 15 minute en daarna is die optiese digtheid van elke buis met behulp van 'n spektrofotometer bepaal. Die optiese digthede is by 'n golflengte van 570 m $\mu$  teen verdunde alkohol in 1 cm selle bepaal. Prolien is bepaal by 440 m $\mu$ . Waar die optiese digthede 1.0 oorskry het, is die oplossing

verdun en die konsentrasie bereken deur die verdunningsfaktor in aanmerking te neem.

Voor elke bepaling is die proefbuise met 'n seep-oplossing geborsel en daarna agtereenvolgens uitgespoel met kraanwater en driemaal met gedistilleerde water. Die buise is hierna by  $100^{\circ}\text{C}$  in 'n ammoniakvrye atmosfeer gedroog.

(iv) Berekenings.

Vir die berekening van die aminosuurkonsentrasie, is die waarde  $\Sigma(E-B)$  vir elke aminosuur bepaal waar,

$E$  = absorpsie,

$B$  = blanko waarde,

en  $n$  = aantal fraksies per piek.

Die gemiddelde blanko waarde van toepassing op 'n spesifieke piek is bepaal deur die absorpsiewaardes beide voor en na die piek in aanmerking te neem. In die meeste gevalle is die gemiddelde absorpsie waarde van die fraksies voor die piek geneem.

Deur van elke lesing die ooreenstemmende blanko waarde af te trek, is  $(E-B)$  verkry vir elke fraksie. Die som van hierdie waardes in die piek gee die waarde  $\Sigma(E-B)$ . Deur hierdie waarde te vermengvuldig met die leusienfaktor is die leusienekwivalente verkry.

Vir die berekening van die aminosuurgehaltes is standaarde

getrek waarin die verband tussen die aminosuurkonsentrasie en die kleurontwikkeling met ninhidrien vasgestel is. 'n Reeks van beken-de konsentrasies van sekere aminosure is berei en die optiese digt-hede volgens bogenoemde manier bepaal. Hiervan is 'n liniëre reg-reessielyn getrek. Die aminosuurkonsentrasie in mikromol per frak-sie is grafies op die x-as teenoor die optiese digtheid op die y-as voorgestel. Die kleurfaktore is verkry deur die helling van die regressielyn van die spesifieke aminosuur te verdeel met die helling van die regressielyn vir leusien. Hierdie waardes het baie goed ooreengestem met dié van Buys (1964) en aangesien sy bepalings baie meer omvattend was, is sy waardes in hierdie ondersoek gebruik. Die leusienfaktor is die resiproke van die helling van die regres-sielyn verkry vir leusien naamlik  $L_f = 1/3.2257 = 0.31$ .

Elke piek word dus beskou as 'n leusienpiek en die aantal leu-sienekwivalente stel die aantal mikromol leusien voor wat in elke piek voorkom (Buys 1964). Deur die leusienekwivalente met die kleurfaktor van elke spesifieke aminosuur te verdeel, is die aantal mikromol van die aminosuur verkry.

In gevalle waar die volume van die fraksies nie presies 1 ml of 2 ml was nie, is 'n volumekorreksie aangebring.

Die formule vir die berekening van die aantal mikromol amino-suur teenwoordig in die spesifieke volume van die monster wat op

die kolom opgedra is, is dus as volg:-

$$\sum_{E-B}^n L_f \times V_{cf} \times 1/C_f$$

waar;      n = die aantal fraksies per piek

Lf = leusien faktor = 0.31

Vcf = volume korreksie faktor

Cf = kleurfaktor van die betrokke aminosuur

(v) Voorbereiding van die monsters.

Die monster wat op die kolom opgedra word, moet ca. 1 mg totale stikstof per 0.5 ml bevat. Volgens die totale stikstofgehaltes (volgens mikro-Kjeldahl) is die mosmonsters 50% gekonsentreer. 100 ml van elke monster is met behulp van 'n „Flash Evaporator" by 40°C onder vakuum tot ca. 30 ml ingedamp en opgemaak na 50 ml met 'n pH 2.2 Na-sitraat buffer.

Volgens Moore et al (1954) beïnvloed soute en/of suikers nie die skeiding van die aminosure op die kolom nie.

(vi) Kwalitatiewe identifisering van aminosure.

Vir die kwalitatiewe identifisering van die aminosure is dit nodig dat die aminosuur fraksies, na skeiding op die kolom, eers ontsout en gekonsentreer word sodat dit ca. 0.01mg/0.005 ml bedra. Dit is gedoen volgens die metode van Drèze, Moore & Bigwood (1954).

Die suur en neutrale aminosure is ontsout op 'n chromatografiese kolom met 'n deursnit van 0.9 cm, gevul met Dowex 2 x 8 tot 'n hoogte van 2 cm. Hiervoor was dit nodig om 6 gm hars vooraf te behandel met 200 ml 2N NaOH en 1N HCl.

Net voor die aminosuurfraksie opgedra is, is 20 ml 2N NaOH (verhit tot ca. 45°C) deur die kolom gestuur met 'n vloeisnelheid van 20 ml/uur. Die hars is hierna gewas met gedistilleerde water totdat die eluaat neutraal was. Van die aminosuurfraksie is 1 tot 4 ml opgedra en gewas met 20 ml gedistilleerde water. Die aminosuur is hierna met 10 ml 1N CH<sub>3</sub>COOH geëlueer. Die beweging van die suurfront teen die kolom af kon waargeneem word aan die kleurverandering van die hars. Die ontsoute aminosuur is opgevang in die fraksie wat begin net voordat die eluaat suur word, en vir die daaropvolgende 4 ml.

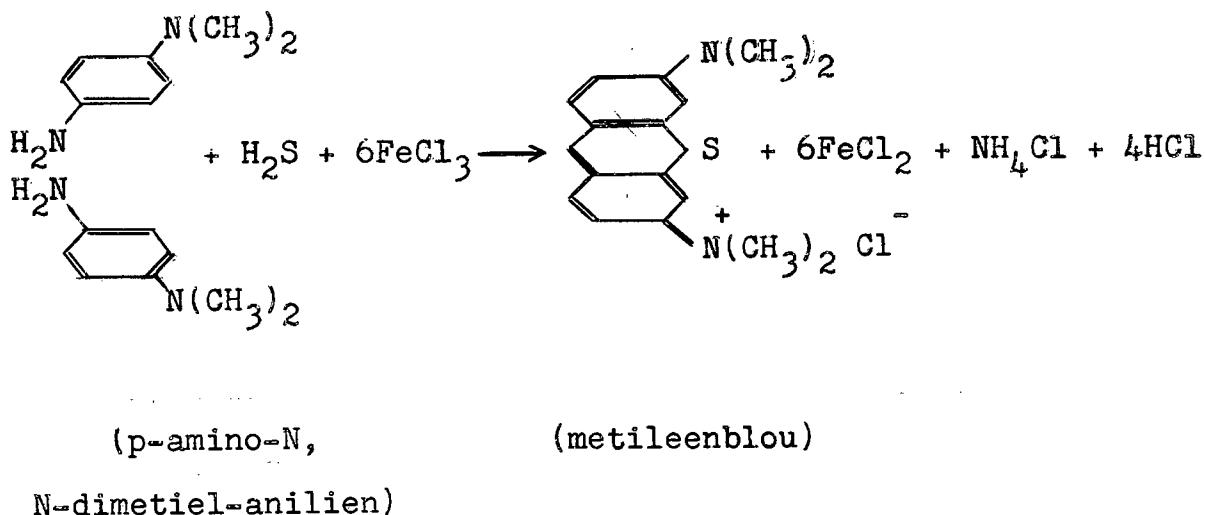
Die soutvrye aminosuur oplossings is by 40°C gedroog en dan weer met 0.1 ml gedistilleerde water opgelos. Voordat die kolom weer gebruik is, is die hars met 10 ml 1N HCl en 5 ml gedistilleerde water, in setu behandel.

Die basiese aminosure is op 'n soortgelyke manier as die suur en neutrale aminosure ontsout behalwe dat Dowex 50 x 8 gebruik is, is die kolom voor gebruik met 10 ml 1N HCl gewas en die aminosure met 4N HCl geëlueer.

Vir die kwalitatiewe identifisering van die verskillende amino-sure is, met die papierchromatografiese metode van Wolfe (1957), baie goeie skeidings verkry. Whatman 3MM papier is vir hierdie doel gebruik.

#### 1.2.2.7. $\text{H}_2\text{S}$ in die gistingsgas.

Volgens Pepkowitz & Shirley (1951) bestaan daar verskeie kolorimetriese metodes waarvolgens  $\text{H}_2\text{S}$  kwantitatief bepaal kan word. Die werk van Fogo & Popowsky (1949) het egter getoon dat die bepaling van  $\text{H}_2\text{S}$  deur die vorming van metileenblou, die mees sensitiewe en spesifieke metode is. Laasgenoemde metode het dan ook die basis van hierdie ondersoek gevorm. Die reaksie kan as volg geformuleer word:-



#### (i) Proeftegniek.

Die bepaling is gedoen volgens die metode van Brenner *et al*

(1953). Die gistingsgas wat gedurende gisting gevorm word, is direk deur 'n absorberings oplossing van 2% Zn-asetaat geleei.  $\text{SO}_2$  en vlugtige merkaptaanverbindings wat ook in die gistingsgas aanwesig mag wees, beïnvloed nie die bepaling nie (Brenner *et al* 1953).

Aangesien  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming gedurende gisting deur die  $\text{SO}_2$ -konsentrasie van die mos beïnvloed kan word, is die  $\text{SO}_2$ -gehalte van al die proefmonsters op presies 150 mg/l totale  $\text{SO}_2$  ingestel deur middel van jodometriese titrasies.

Van elke voorbereide mosmonster is 500 ml in 1 liter reagensflesse uitgemeet en ingeënt tot 'n konsentrasie van 2% (v/v) met 'n reinkultuur van *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* (ras W.E. 14 van die N.I.W.W. reeks). Die reagensfles is afgesluit met 'n afleibuis (voorsien van 'n „tygon" aansluiting) waardeur die gistingsgas deur 'n 40 ml 2% oplossing van Zn-asetaat, in 'n 50 ml gegradeerde maatsilinder, geleei is.

Vir die doeltreffende verspreiding van die gistingsgas deur die absorberingsoplossing, is die afleibuis, in die Zn-asetaat oplossing, voorsien van 'n ventiel wat bestaan uit 'n „tygon" buisie met 'n lengtesnit van 1 cm en aan die onderent afgesluit met 'n glasproprie. Hierdeur is die gas in 'n baie fynverdeelde toestand verkry om maksimum absorberingsoppervlakte te verseker. Sinterglasverspreiders het gou verstop geraak as gevolg van  $\text{ZnS}$  wat daarin

neergeslaan het.

Die mosmonsters is by 'n konstante temperatuur van  $25^{\circ}\text{C}$  uitgeslis. Sodra genoeg van die gistingsgas deur die absorberingsoplossing geborrel het (nie meer as 50%  $\text{H}_2\text{S}/50 \text{ ml}$  nie), is die afleibuis by die „tygon"-aansluiting deur middel van 'n Hoffman-klamp afgesluit, die orige gas in die afleibuis deur die ventiel geforseer en uit die aansluiting getrek. Die gewig van die reagensfles is genoteer, weer aangesluit met 'n vars absorberingsoplossing en die Hoffman-klamp weer versigtig oopgedraai.

Die proses is herhaal totdat die gisting voltooi was. Met die laaste bepaling is die gistingsgas bo die oppervlakte van die wyn ook verplaas met  $\text{CO}_2$ .

(ii) Kleurontwikkeling.

'Die absorberingsoplossing so verkry, met die afleibuis nog steeds daarin, is afgekoel na  $10^{\circ}\text{C}$  (om vervlughtiging van  $\text{H}_2\text{S}$  te verhoed) en 5 ml p-amino-N,N-dimetiel-anilien reagens en 1 ml  $\text{FeCl}_3$  reagens bygevoeg. Dit is versigtig gemeng en vir 1 uur by kamertemperatuur gelaat vir maksimum kleurontwikkeling. Daarna is die afleibuis versigtig verwyder, kwantitatief afgespoel met 2% Zn-aseetaat oplossing, opgevul tot by die 50 ml merk, afgesluit met 'n ingeslypte glasprop en versigtig gemeng. Die optiese digtheid van hierdie oplossings is in 2 cm-selle by 'n golflengte van  $695 \mu\text{m}$

gelees met behulp van 'n spektrofotometer. By lae temperature is die kleur vir ten minste een maand stabiel.

Die som van die konsentrasies  $H_2S$  in al die afsonderlike bepalings per monster, gee dan die totale hoeveelheid  $H_2S$  per 500 ml mos wat gedurende gisting ontwikkel is.

(iii) Berekening van resultate.

Vir die kwantitatiewe bepaling van die  $H_2S$ -konsentrasie in die Zn-asetaat oplossings, was dit nodig om 'n standaard kurwe op te stel.

Met behulp van 'n Kipps-apparaat is  $H_2S$  stadig deur 1 liter gedistilleerde water vir 5 minute geleei. Hierdeur is 'n  $H_2S$ -oplossing met 'n konsentrasie van ca.  $50\gamma /ml$  verkry.

Van hierdie  $H_2S$ -oplossing is 'n standaard ZnS-oplossing op die volgende manier berei; 10 ml van die  $H_2S$ -oplossing is in 'n 100 ml maatkolfie met ca. 25 ml 20% Zn-asetaatoplossing gepipeteer en opgevul tot op die merk. Terselfdertyd is 200 ml van die  $H_2S$ -oplossing behandel met oormaat standraad 0.1N  $I_2$  oplossing en die oormaat bepaal deur terugtitrasie met standaard 0.1N  $Na_2S_2O_3$ , met stysel as indikator. Die verskil gee dan die konsentrasie van die  $H_2S$ -oplossing aan en daaruit is die konsentrasie van die ZnS-oplossing bereken. Die standaard ZnS-oplossing is dus op so 'n wyse berei dat 1 ml daarvan ca.  $5\gamma H_2S$  bevat.

Vir opstel van die standaard kurwe is geskikte aliquots van 0, 1, 2, 5 en 10 ml in 50 ml maatkolfies gepipeteer en die kleur ontwikkel soos reeds beskrywe. Deur die optiese digthede van hierdie oplossings teen die bekende konsentrasies  $H_2S$  grafies voor te stel is 'n reglynige kurwe verkry. Sien Figuur 3.

#### 1.2.2.8. Diasetiel en asetofien.

Die bepaling van diasetiel en asetofien is gedoen volgens die kolorimetriese metode van Neish (1952). Wanneer verdunde oplossings van diasetiel en/of asetofien behandel word met  $\alpha$ -naftol en kreatien, word 'n rooi kompleks van onbekende samestelling verkry.

Met diasetiel vind die kleurverandering vinnig plaas maar stadierg met asetofien. Asetofien moet eers deur atmosferiese suurstof na diasetiel geoksideer word. Die kleurintensiteit is dus eweredig aan die konsentrasie van beide produkte. Daar is geen ander bekende vlugtige gistingsprodukte wat hierdie reaksie gee nie.

Volgens Hill & Wenzel (1957) gee hierdie metode betroubare resultate vir geïsoleerde diasetiel en asetofien. Die skeiding van diasetiel en asetofien deur middel van distillasie is egter tot nou toe nog nie bevredigend bewerkstellig nie. Slegs 'n gedeelte van die asetofien word in die distillaat gevind terwyl diasetiel kwantitatief oorstook.

Verskeie ander metodes vir die bepaling van diasetiel is bekend.

West, Lautenbach & Becker (1952) het dimetielglioksiem met 'n nikkelsout laat reageer om in teenwoordigheid van diasetiel, die oplosbare tetravalente-nikkel-dimetielglioksiem, wat 'n rooi kleur het, te vorm. Hierdie reaksie is hoogs spesifiek teenoordiasetiel, maar is tydrowend en vereis baie noukeurige tegniek.

(i) Proef tegniek.

Van elke voorbereide mos-monster is 20 ml in 'n 250 ml distilleerkolfie uitgemeet en 15 ml gedistilleerde water bygevoeg. Die distilleerkolfie is aan 'n spiraalkoeler verbind deur middel van 'n afleibuis wat voorsien is van 'n distilleerkop net bokant die distilleerkolfie.

As gevolg van die vlugtigheid van diasetiel (kpt.  $88^{\circ}\text{C}$ ) is die spiraalkoeler deur 'n asbesplaat van die distilleerkolfie en vlam beskerm. Die temperatuur van die verkoelingswater was ook altyd laer as  $5^{\circ}\text{C}$ .

Die monsters is kwantitatief oorgestook tot 'n distillaat van 25 ml, dadelik by  $10^{\circ}\text{C}$  gestoor en alleen getempereer voor verdere gebruik. In sommige gevalle waar die diasetiel- en asetofengehalte van die monsters baie laag was, was dit nodig om die distillaat te konsentreer deur 'n kleiner distillaat op te vang.

(ii) Kleurontwikkeling.

Van die distillate so verkry, is na temperering daarvan,

variërende aliquots van 1 tot 5 ml verdun na 'n finale volume van 5 ml. Die volume van hierdie aliquots is so gekies dat 'n konsentrasie van 2 tot 15 diasetiel in die finale verdunning van 5 ml verkry is.

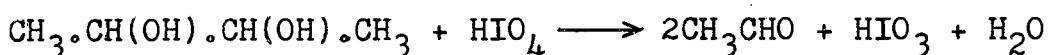
By hierdie verdunnings is 1 ml kreatienreagens en 1 ml varsbereide  $\alpha$ -naftolreagens bygevoeg, versigtig gemeng en vir 1 uur by kamertemperatuur gelaat vir maksimum kleurontwikkeling. Die kleur bly stabiel vir minstens 1 uur.

Die optiese digthede van die oplossings is met behulp van 'n spektrofotometer in 2 cm selle by 'n golflengte van 537 m $\mu$  gelees.

### (iii) Berekening van resultate.

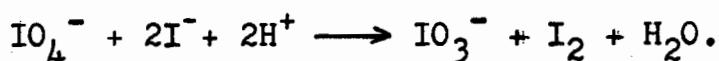
Vir die kwantitatiewe bepaling van diasetiel word 'n presiese hoeveelheid oormaat perjodaat by die organiese verbinding gevoeg en die oormaat aan die einde van die reaksie bepaal. Hierdie waarde, minus die waarde van 'n blanko bepaling, gee die ekwivalent aan die organiese verbinding, naamlik diasetiel, teenwoordig.

Perjodaat oksideer verbindingen met keto- of hidroksielgroepe aan aangrensende koolstofatome. Die eindprodukte is joodsuur, organiese sure, aldehyde en water:-



Hierdie reaksies verloop almal kwantitatief in verdunde waterige oplossings by kamertemperatuur. Ander hidroksi- en dihidroksi-verbindings, wat nie aan bogenoemde vereistes voldoen nie, word nie deur perjodaatsuur geoksideer nie.

Die oormaat perjodaat kan in teenwoordigheid van jodaat bepaal word deur reduksie met jodied:-



Dit is egter belangrik dat die pH bokant 5 bly, aangesien jodaat by laer pH ook jodied na jodium oksideer. Dit is gedoen deur die reaksiemengsel met oormaat  $\text{NaHCO}_3$  te buffer. Die gevormde jodium (ekwivalent aan die oormaat perjodaat) is dan met standaard arseniet getitreer.

Van hierdie gestandardiseerde diaasetieloplossing wat ca. 50g diaasetiel/ml bevat, is gesikte aliquots geneem om die gebied tussen 2 en 20g te dek en aangevul met gedistilleerde water om 'n finale volume van 5 ml te gee. Die kleur is ontwikkel en die optiese digt-hede van hierdie oplossings is grafies teenoor die konsentrasies daarvan voorgestel. Die reglynige kurwe in Figuur 4 is verkry.

#### 1.2.2.9. Organoleptiese beoordeling.

Vir die uiteindelike evaluëring van druifkwaliteit, was dit nodig om die verskillende mosmonsters uit te gis en die verskillende wyne aan 'n organoleptiese beoordeling te onderwerp. Hierdeur kon

die moontlike faktore wat 'n invloed kan uitoefen op die kwaliteit van 'n wyn, in verband gebring word met faktore betrokke by die bepaling van die druifkwaliteit.

(i) Gistings tegniek.

Van die afsonderlike voorbereide mosmonsters, is 1 liter van elke monster in gesikte houers uitgemeet en ingeënt tot 'n konseptrasie van 2% (v/v) met 'n reinkultuur van S. cerevisiae var. ellips. Die houers is afgesluit met 'n prop waardeur 'n glasbuisie gaan wat met watte gestop is. Al hierdie gistinge het by 10°C geskied.

Agt dae na voltooiing van gisting, is die monsters in liggeswawelde houers oorgetap en by 10°C gestoor sodat verdere verheldering van die wyn kon plaasvind. Na 14 dae is die totale SO<sub>2</sub>-gehalte van die wyne na 150 mg/l verhoog, onder 'n CO<sub>2</sub>-atmosfeer gefiltreer en gebottelleer, en met 'n kurkprop verseël. Hierna is die wynmonsters vir 'n verdere tydperk van 1 maand by kamertemperatuur gestoor.

(ii) Organoleptiese beoordeling.

Aangesien wyn so 'n komplekssaamgestelde produk is, moet alle persone dieselfde wyn nie altyd volgens dieselfde maatstaf nie. Dit is dus noodsaaklik dat sekere standaarde opgestel word sodat die verskillende eienskappe en karaktertrekke daarvolgens gemeet en vergelyk kan word.

Die waarde of kwaliteit van 'n wyn kan deur proeërs vasgestel word deur onder andere gebruik te maak van 'n puntetellingkaart. Die aantal punte wat vir die verskillende eienskappe toegeken word, kan nooit wetenskaplik bepaal word nie en kan bloot op willekeurige of arbitrière basis proefondervindelik opgestel word (Henning 1962).

In verband met die betrouwbaarheid van hierdie puntetellingkaart het van der Merwe (1965) statistiese analises uitgevoer op die bevoegdheid van 'n paneel, soos weerspieël in die resultate wat deur hulle verkry is. Hierdeur is vasgestel dat 'n paneel van nege proeërs 'n verskil van 11.07% verskille in 90% van die toetswyne met 95% sekerheid kon vasstel.

Die grootste voordeel van so 'n puntetellingkaart lê daarin opgesluit dat 'n proeër se waardebepaling van 'n wyn gesistimatiseer word en dat 'n reeks van monsters met mekaar vergelyk kan word.

Met hierdie ondersoek is die verskillende proefwyne aan 'n paneel van vyf proeërs van die N.I.W.W. onderwerp wat die wyn volgens 'n puntetellingkaartstelsel beoordeel het. Die spesifieke tellingkaart is deur Henning (1962) ontwerp en opgestel en word vandag algemeen deur beampies van die K.W.V. gebruik.

Met hierdie puntetellingkaart word die punte vir die verskillende eienskappe en karaktertrekke van die wyn as volg toegeken:-

(a) Helderheid (10 punte).

Die standaarde wat in aanmerking geneem word, is skitterend (9-10), helder (7-8), effe dof (5-6), dof (3-4) en baie dof (0-4).

(b) Kleur. (20 punte).

Die kleur moet in ooreenstemming wees met die tipe wyn, stadium van veroudering en ander faktore wat die kleur van die wyn mag beïnvloed.

(c) Geur (30 punte).

Die geur van die wyn word in die volgende eienskappe ingedeel:-

(i) Suiwerheid - ongewenste geure, te veel  $\text{SO}_2$  of vlugtige suur, muf, gronderig, olieagtig,  $\text{H}_2\text{S}$ -agtig ens. Dit wil sê, geure wat waarneembaar is voor die proef van die wyn (10 punte).

(ii) Kenmerkendheid en intensiteit (10 punte).

(iii) Harmonie en aangenaamheid (10 punte).

(d) Smaak (40 punte).

Die toekenning van die punte geskied as volg:-

(i) Suiwerheid - vry van oormatige  $\text{SO}_2$  en ander wansmake (10 punte).

(ii) Tipe egtheid - spesifieke karakter (10 punte).

- (iii) Harmonie en afgerondheid - vaste sure nie te hoog of te laag nie. Wyn moet sag en rond wees maar nie hard of pap nie. (10 punte).
- (iv) Geurigheid - aangename, geurige en blywende na-smaak (10 punte).

Die waardebepaling van die wyn word volgens die totale aantal punte wat daaraan toegeken is, as volg aangegee:-

Uitstaande	80 en hoër
Goed	70 - 79
Middelmatig	60 - 69
Minderwaardig	50 - 59
Swak	49 en laer.

#### 1.2.2.10. Proteietroebeling.

Die proteientroebeling van die afsonderlike mos- en wynmonsters is bepaal met behulp van 'n "Coleman" foto-nefelometer volgens die indirekte metode.

Ten einde onder gekontroleerde toestande te werk, is elke afsonderlike mos- en wynmonster gesentrifugeer teen 2500 o.p.m. vir 15 minute en die lesings onmiddellik daarna geneem. Die mate van troebeling word aangegee in direkte lesings. In die geval van die mosmonsters is 'n filter (No. 8-209) gebruik terwyl 'n filter in die geval van die wynmonsters nie nodig was nie.

## HOOFSTUK 2.

### BESPREKING VAN RESULTATE.

#### 2.1. Suiker.

Volgens tabel 3, wissel die suikergehaltes van die 1964-proefmonsters van 19.25 (monster 20) tot 27.75°B (monster 11) met 'n gemiddelde waarde van 22.62°B. By die 1965-proefmonsters (Tabel 4), is die suikergehaltes laer en wissel van 16.67 (monster 9) tot 22.47°B (monster 4) met 'n gemiddelde waarde van 19.82°B.

Die suikergehaltes van die monsters toon onderling dus groot verskille en word deur verskillende faktore beïnvloed. Die klimaattoestande speel 'n belangrike rol, veral ten opsigte van die temperatuur. Gedurende koel toestande, vind die toename in suiker, sowel as die ander rypwordingsprosesse, stadig plaas. Tydens warm toestande vind die suikertoename egter vinniger plaas en word die volryp stadium gouer bereik (Winkler, 1962).

Volgens Winkler & Williams (1939) word die suikergehalte ook in 'n groot mate beïnvloed deur die grootte van die oes. Namate die grootte van die oes toeneem, sal die verhouding druiwe tot blaaroppervlakte verminder. Relatief minder suiker (wat deur die blare

gesintetiseer word) sal beskikbaar wees en die druive sal langer neem om die volryp stadium te bereik.

Ander faktore, wat volgens Winkler (1962), die suikergehalte beïnvloed, is die inherente vermoë van die variëteit, die grondtipe, besproeiing en bemesting. Ten opsigte van bemesting speel veral stikstof 'n oorwegende rol.

Dit is dus interessant dat sulke groot verskille voorkom veral as in aanmerking geneem word dat hierdie monsters almal tydens die parsstadium versamel is. Die tipe wyn waarvoor hierdie druive aangewend was, kan ten opsigte van die laer suikergehaltes ook 'n rol gespeel het. Dit gebeur dikwels dat druive by laer suikergehaltes gepars word vir die bereiding van ligter wyntipes.

Die koolhidrate in mos bestaan hoofsaaklik uit die heksoses, glukose en fruktose terwyl pentoses en ander suikers in klein hoeveelhede voorkom (Vogt, 1958). Gedurende rypwording oorheers glukose totdat by volrypstadium die glukose tot fruktose verhouding 1:1 is. In moste van oorrype druive, veral by laat variëteite, kom fruktose gewoonlik oorwegend voor (Amerine & Thoukis, 1958).

Opvallend by die 1965-proefmonsters (Tabel 4), wat geselekteer is volgens die mate van bederf wat hulle toon, neem die suikergehalte, met 'n toenemende mate van bederf, af.

Die monsters 1,2 en 3 is uit dieselfde wingerd afkomstig, met 'n toenemende mate van bederf van monster 1 tot 3. Dieselfde geld vir monsters 4,5 en 6 en 7,8 en 9. Volgens die resultate in Tabel 4, neem die suikergehaltes van monsters 1,2 en 3 af met 22.40, 19.27 en 18.95, monsters 4,5 en 6 met 22.47, 20.40 en 20.54 (uitsondering) en monsters 7,8 en 9 met 19.10, 18.60 en 16.67<sup>o</sup>B onderskeidelik.

In hierdie verband het Hofmann (1964) aangetoon dat Rhizopus nigricans en sekere rasse van Botrytis cinerea daadwerklike afnames in die suikergehalte van moste kan teweegbring. Volgens Nelson & Ough (1966) veroorsaak B. cinerea slegs 'n geringe suikerafname by druwe. Suikerafnames kom ook voor by R. arrhizus, Aspergillus niger en A. flavus. Waar hierdie organismes egter saam met Acetobacter roseus en Saccharomyces cerevisiae voorgekom het, is daadwerklike suikerafnames waargeneem veral in die geval van R. arrhizus wat die suikergehalte tot 4.1<sup>o</sup>B verlaag het.

Volgens hierdie resultate kan die mikrobeaktiwiteit op druwe, dus heelwaarskynlik verantwoordelik gehou word vir die ooglopende verlaging van die suikergehaltes by die 1965-proefmonsters.

## 2.2. Totale suur.

Die totale suurgehaltes van die 1965-proefmonsters (Tabel 3), wissel van 5.14 (monster 14) tot 10.20 gm/l (monsters 5 en 21) met 'n gemiddelde waarde van 7.83 gm/l, bereken as wynsteensuur. By

die 1965-proefmonsters (Tabel 4), is die totale suurgehalte gemiddeld effens hoër naamlik 9.55 gm/l wynsteensuur en wissel van 7.07 (monster 7) tot 13.91 gm/l (monster 6).

Verskeie organiese sure word in die mos aangetref. Volgens Amerine & Joslyn (1951) en Winkler (1962) maak wynsteen- en appelsuur meer as 90% van die totale suurgehalte van mos uit. Slegs 0.02 - 0.03% sitroensuur is aanwesig en nog minder askorbien- en fosforsuur. Gedurende rypwording neem die totale suurgehalte van beide wynsteen- en appelsuur af, veral appelsuur wat by sekere variëteite en gedurende warm weer, 'n baie lae waarde bereik.

Amerine & Winkler (1958) het gevind dat wynsteensuur, laat in die seisoen, tot 81% van die totale litreerbare suurgehalte van mos te uitmaak en dat verskillende variëteite karakteristieke verskille toon.

Die sure in die mos kom voor in beide die vry vorm of as suursoute, gebind aan K of Ca ione. Volgens Amerine & Joslyn (1957) wissel die totale suurgehalte van volryp Californiese druwe van 3.0 tot 12.0 gm/l, bereken as wynsteensuur.

Uit Tabel 3 is dit duidelik dat monsters 5,7,13,21 en 22 besonder hoë totale suurgehaltes toon. Volgens Tabel 4 word besonder hoë waardes ook by monsters 3,4,5,6 en 9 aangetref.

Dit kan heelwaarskynlik daaraan toegeskryf word dat hierdie monsters ingesamel is voordat die druiwe die volryp stadium bereik het. Die fisiese konsentrering van druiwesap deur middel van verdamping kan moontlik, veral by besmette druiwe, 'n verdere bydrae lewer tot 'n verhoging van die totale suurgehalte van moste.

### 2.3. Vlugtige suur.

Die vlugtige suurgehaltes van die 1964-proefmonsters wissel volgens Tabel 3 van 0.073 (monster 14) tot 0.548 gm/l (monster 21) met 'n gemiddelde waarde van 0.148 gm/l, bereken as asynsuur. By die 1965-proefmonsters (Tabel 4), is die gemiddelde waarde heelwat hoër naamlik 0.339 gm/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$  en wissel die afsonderlike waardes van 0.019 (monster 1) tot 1.122 gm/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (monster 5).

Volgens Vogt (1958) ontstaan vlugtige sure deur die werking van bakterieë, kimgiste en ander mikro-organismes. Gesonde druiwe bevat slegs geringe hoeveelhede vlugtige suur (0.02 tot 0.06 gm/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). By beskadigde druiwe en druiwe onderhewig aan 'n hoë mate van bederf, kan die vlugtige suurgehalte egter tot 0.4 gm/l en hoër styg. Van die vlugtige sure in die wynbereiding, kom asynsuur oorwegend voor, terwyl mieresuur en die hoër vetsure propioon- en bottersuur in geringe hoeveelhede aangetref word.

Waar relatief hoë vlugtige suurgehaltes aangetref word, moet dit dus noodwendig aan die besmetting van mikro-organismes, veral

asynsuurbakterieë toegeskryf word. Met hul ondersoeke in hierdie verband het Nelson & Ough (1966) gevind dat B. cinerea, R. arrhizus, en A. flavus, waar hulle alleen op druiwe voorgekom het, slegs 'n geringe invloed op die vlugtige suurgehalte van moste gehad het. Waar hierdie mikro-organismes egter saam met Acetobacter roseus en S. cerevisiae voorgekom het, het die vlugtige suurgehalte van die mos daadwerklike toenames getoon.

Dittrich & Kerner (1964) het verder aangedui dat melksuurbakterieë, wat gewoonlik saam met asynsuurbakterieë voorkom, ook in staat is om asynsuur te vorm. Dit is veral die geval by die heterofermentatiewe melksuurbakterieë.

## 2.4. Stikstof.

### 2.4.1. Totale stikstof.

Volgens Tabel 3, wissel die totale stikstofgehaltes van die 1964-proefmonsters van 0.13 (monster 3) tot 0.73 gm/lN (monster 12) met 'n gemiddelde waarde van 0.43 gm/lN. By die 1965-proefmonsters (Tabel 4) is die gemiddelde waarde 0.42 gm/lN en wissel die waardes van 0.20 (monster 4) tot 0.68 gm/lN (monster 8).

Die totale stikstofgehaltes van die afsonderlike mosmonsters toon dus onderling groot verskille. Volgens Winkler (1962) is dit te wagte dat die totale stikstofgehaltes groot verskille sal toon

aangesien die verskillende stikstofffraksies wat die totaal opmaak, ook groot variasies toon. Wingerde van verskillende streke toon groot verskille en selfs drie uit wingerde van dieselfde streek verskil vanmekaar. Die byvoeging van stikstof as bemesting speel 'n belangrike rol. Ondersoeke deur Niehaus (1938) in verband met die totale stikstofgehalte van Suid-Afrikaanse moste het getoon dat die totale stikstofgehalte van mos wat van bevangeryp drie afkomstig is, baie min verskil van dié afkomstig van drie wat normaal ryp geword het. Bemesting met ammoniumsulfaat, kaliumsulfaat sowel as met superfosfaat het hoegenaamd geen invloed op die mos se totale stikstof gehalte nie.

Hennig (1944) het sewe verskillende stikstofffraksies in die moste van Duitsland aangetoon. Die belangrikste organiese fraksies was die aminosuurfraksie en die sogenaamde fosfo-wolframfraksie wat verbindinge soos tri- en tetrapeptide, di-aminozure en heterosikliese aminozure sowel as puriene insluit. Ander fraksies wat aangetoon word, is proteïen-, ammoniak-, humien- en amiedstikstof.

#### 2.4.2. Vry stikstof.

Die vry stikstofgehaltes van die 1964-proefmonsters (Tabel 3), wissel van 0.010 (monster 3) tot 0.098 gm/lN (monster 19) met 'n gemiddelde waarde van 0.053 gm/lN. Met herhaling van die ondersoek, wissel die waardes van 0.014 (monster 4) tot 0.094 gm/lN (monster 7) met 'n gemiddelde waarde van 0.057 gm/lN (Tabel 4).

Indien al hierdie resultate saamgevat word maak die vry stikstof dus gemiddeld 12.10% uit van die totale stikstofgehalte van die mos. Met die kolomchromatografiese ondersoek van die monsters (Tabelle 5 en 6) is gevind dat die gemiddelde vry stikstofgehalte van hierdie 18 monsters 11.5% van die totale stikstofgehalte bedra en dat 451% daarvan as vry ammoniak voorkom. Hier volgens bedra vry  $\text{NH}_3$  38.88% van die totale vry stikstofgehalte, terwyl die ander 61.12% moontlik as  $\text{NH}_4^+$ -soute teenwoordig is.

#### 2.4.3. Vry aminosure.

Volgens die resultate van Hennig (1944) lewer die aminosuurfraksie die grootste enkele bydrae tot die totale stikstofgehalte van moste. Aangesien aminosure ook as belangrike voedingsbron dien vir giste en ander mikro-organismes (Thorne 1941) is die vry aminosuurfraksies van die moste bepaal met identifikasie van die afsonderlike aminosure.

Met hierdie ondersoek is elf verskillende aminosure in die mos bepaal. Volgens tabelle 5 en 6 kom prolien, alanien, arginien, glutamiensuur en serien oorwegend voor. In kleiner hoeveelhede is ook aspartiensuur, treonien, valien, leusien, feniellalanien en  $\alpha$ -aminobottersuur kwantitatief bepaal. In een geval kon ook isoleusien as positief aangedui word.

In hierdie verband het Drawert (1963) met dieselfde kolomchromatografiese metode (Moore et al, 1954) behalwe bogenoemde aminosure, ook histidien, metionien en tirosien in geringe konsentrasies aangetoon terwyl glisien slegs as positief aangedui kon word. In hierdie geval is Duitse Rieslingmoste gebruik.

Castor (1953) en Castor & Archer (1956) kon by die ondersoek van vyf verskillende Kaliforniese wyndruifsoorte, behalwe bogenoemde, ook die aanwesigheid van lisien, triptofaan en sistieen in geringe konsentrasies aantoon. Dit dien egter daarop gelet te word dat laasgenoemde aminosure met behulp van papierchromatografiese metodes bepaal is. Volgens hierdie metode kon van Wyk & Venter (1965) ook die aanwesigheid van glisien, tirosien en isoleusien by Steenmoste aantoon.

Dit wil dus voorkom of die bepaling van aminosure deur middel van papierchromatografiese metodes meer sensitief is teenoor die aminosure wat in baie lae konsentrasies voorkom. Volgens Moore et al (1954) gee kolomchromatografiese metodes egter meer betroubare kwantitatiewe bepalings.

Ten opsigte van laasgenoemde metode is met hierdie ondersoek gevind dat die konsentrasies van die afsonderlike aminosure, onderling, geweldige groot verskille toon. Om die aanwesigheid van ander moontlike aminosure aan te toon wat in lae konsentrasies mag

voorkom, is groter konsentrasies van die mosmonsters opgedra. So-doende is slegs die aanwesigheid van isoleusien aangetoon sonder om die lading van die hars te oorskry.

Aangesien hierdie metode bevredigende kwantitatiewe bepalings lewer, genoodsaak dit verdere ondersoek in hierdie verband. Moontlike voorstelle in hierdie verband, is die verandering van pH-waardes en vloeisnelhede, wat egter noukeurige tegniek vereis. 'n Ander moontlike tegniek is om bekende konsentrasies van die verwagte aminosure, sinteties by die betrokke mos te voeg, dit kwantitatief te bepaal en die oorspronklike konsentrasie van die uiteindelike resultaat af te trek. Hierdie verskil, indien aanwesig, mag dus geringe hoeveelhede aandui wat andersins nie aangetoon kan word nie.

Volgens Tabel 5 wissel die totale aminosuurgehaltes van 8,142 (monster 2) tot 21,986 mikromol/l (monster 12) met 'n gemiddelde waarde van 13,853 mikromol/l. By die 1965-proefmonsters in (Tabel 6), wissel die gehaltes van 4,796 (monster 4) tot 13,041 mikromol/l (monster 7) met 'n gemiddelde waarde van 8,910 mikromol/l.

Die totale aminosuurgehaltes toon onderling dus groot verskille, selfs by monsters uit dieselfde wingerd (vergelyk monsters 1,2 en 3,4,5 en 6 en 7,8 en 9). Dit is ook opvallend dat die gemiddelde totale aminosuurgehalte van die 1965-proefmonsters beduidend laer is as dié van die 1964-proefmonsters.

Ten einde die verband tussen die vry aminosuurgehalte en die totale stikstofgehalte van die mos na te gaan, is die persentasie (bereken as N) bepaal. Hiervolgens bedra die aminosuur stikstof gemiddeld 52.29% van die totale stikstofgehalte van die 1964-proefmonsters. By die 1965-proefmonsters (wat spesiaal geselekteer is volgens die mate van bederf wat voorgekom het), is die gemiddelde waarde heelwat laer naamlik 43.55%. 'n Daling van bykans 10% word dus in laasgenoemde geval verkry.

Hierdie daling moet heelwaarskynlik aan seisoensveranderinge toegeskryf word. Die moontlikheid dat 'n hoër mate van mikrobebesmetting hiervoor verantwoordelik gehou kan word, kan nie heeltemal uitgesluit word nie. Volgens Tabel 4 is dit duidelik dat die aminosuurgehaltes nie noodwendig afneem namate die mate van bederf toeneem nie. Dit is egter duidelik dat by hierdie monsters die totale aminosuurgehalte in verhouding 'n kleiner persentasie van die totale stikstofgehalte uitmaak.

#### 2.4.4. Proteien stikstof.

Volgens Koch & Sajak (1963) besit elke druifsoort 'n spesifieke "oplosbare proteien" wat elke jaar in mos verkry word en tot lastige wyntroebeling kan lei. Die hoeveelheid oplosbare proteien wat verkry word, hang af van die rypheidsgraad van die druiwe, die weersomstandighede en bemesting en is elke jaar verskillend.

Bogenoemde navorsers het hierdie oplosbare proteïene aangetoon as hoogmolekulêre verbindings, saamgestel uit 18 of meer aminosure wat op spesifieke wyse deur peptiedbindings gerangskik is. Hierdie proteïene besit besondere eienskappe waarvan die belangrikste die verskynsel van denaturering is. Hierdeur vind koagulasie van die proteïene gewoonlik plaas en veroorsaak dat die proteïene uitsak. Meganiese (skud), fisiologiese (warmte) en chemiese (alkohol, sure) invloede kan die oorsake van proteïendenaturering wees.

Ten einde na te gaan of daar enige verband aangetoon kan word ten opsigte van die ander bepalings wat gedoen is, is die proteïentroebeling van beide die mos en wyn met behulp van 'n nefelometer bepaal.

Volgens Tabel 7 is dit duidelik dat die oplosbare proteïen gehalte van die 1964-proefmonsters, groot onderlinge verskille toon. Voor gisting wissel die lesingseenhede van 16 (monster 17) tot meer as 130 by monsters 4, 8, 19 en 20. Na gistings wissel die eenhede van 5 (monster 3) tot 59 (monster 13).

Dit is dus duidelik dat na gisting, oor die algemeen 'n laer proteïentroebeling verkry word en dat daar skynbaar geen verband tussen proteïentroebeling voor en na gisting bestaan nie.

By die 1965-proefmonsters (Tabel 8), wissel die lesingseenhede van 2 (monster 8) tot 23 (monster 1) terwyl na gisting dit van 1

(monster 8 en 9) tot 14 (monster 1) wissel. Behalwe dat die proteïentroebeling na gisting ook laer is as voor gisting, is dit opvallend dat die oplosbare proteïengehalte van hierdie reeks oor die algemeen baie laer is as by die 1964-proefmonsters.

Dit is verder ook opvallend dat die monsters wat hier 'n redelike hoë mate van bederf getoon het (2 en 3, 5 en 6 en 8 en 9) relatief baie laer proteïentroebelings toon as die gesonde monsters 1,4 en 7. Volgens Koch & Sajak (1963) besit hierdie oplosbare proteïene 'n hele aantal suur en basiese groepe en vertoon 'n spesifieke pH-waarde waarby die proteïene hul geringste oplosbaarheid besit. Hierdie spesifieke waarde staan bekend as die iso-elektriese punt van die proteïen en word dus deur die suurgehalte van die mos of wyn beïnvloed.

Dit wil dus voorkom dat waar druiwe onderhewig is aan 'n groter mate van bederf deur mikro-organismes, die pH-waarde van die mos op so 'n wyse verander word dat die iso-elektriese punt van die oplosbare proteïen bereik word en moontlik 'n groter uitskeiding van oplosbare proteïen veroorsaak. Geen ondersteuning kon egter vir hierdie aanname in die literatuur gevind word nie.

## 2.5. H<sub>2</sub>S in die gistingsgas.

Volgens Tabel 3. wissel die H<sub>2</sub>S-gehalte van die 1964-proefmonsters van 871 (monster 12) tot 1933  $\mu\text{gm/l}$  (monster 11) met 'n gemiddelde waarde van 1311  $\mu\text{gm/l}$ . By die 1965-proefmonsters

(Tabel 4) is die gemiddelde waarde heelwat laer naamlik  $745.5 \mu\text{gm/l}$ , met die hoogste waarde by monster 1 ( $1766 \mu\text{gm/l}$ ) en die laagste by monster 8 ( $74 \mu\text{gm/l}$ ). Onderling vertoon die afsonderlike monsters dus groot verskille wat die mate van  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming gedurende gisting betref.

Die vorming van  $\text{H}_2\text{S}$  gedurende gisting het reeds aansienlike aandag geniet. Volgens Brenner et al (1953), Drews et al (1957) en Rankine (1963) bestaan daar geen twyfel nie dat die vorming van  $\text{H}_2\text{S}$  en ander ongewenste swawelverbindings gedurende gisting, deur middel van ensimatiiese werking plaasvind. Ricketts & Coutts (1951) kon deur die aanwending van 'n aantal inhibeermiddels vir die glikogeenensieme, die vorming van hierdie verbindings in 'n groot mate strem of selfs verhoed. Die moontlike oorsake vir die vorming van hierdie verbindings moet dus hoofsaaklik by die voeding en metabolisme van die betrokke giste gesoek word.

Brenner et al (1953) en Kleber & Lampl (1958) verklaar dat  $\text{H}_2\text{S}$  en verwante verbindings, gedurende die brou van bier, gevorm kan word van geswawelde hops, swawelbevattende proteïene en sulfate en sulfiete in die brouwwater. In hierdie verband het Rankine (1963) aangetoon dat elementêre swawel, sulfiete, sulfate en organiese swawelverbindings in mos en wyn, die moontlike veroorsakende verbindings moet wees.

Volgens Thoukis & Stern (1962) is die vernaamste bron van elementêre swawel uit die wingerd afkomstig, wat in die vorm van wingerdswawel op die druiwe aanwesig mag wees. Die drup van gesmelte swawel van onvolledig gebrande swawelpitte, is 'n ander belangrike bron van besmetting in vate en tenks. Met die brand van swawel in swawelpanne, kan 'n gedeelte van die swawel sublimeer en aan die koue dele van die vat of tenk kondenseer en sodoende in 'n uiterst fynverdeelde toestand in die mos of wyn te lande kom. Belangrik in hierdie verband is dat Rankine (1963) aangetoon het dat die mate van  $H_2S$ -vorming omgekeerd eweredig is aan die grootte van die swaweldeeltjies.

Die gebruik om die  $H_2S$ -reuk by jong wyne te verwijder deur oksidasie met  $SO_2$ , gee ook elementêre swawel in 'n baie fynverdeelde suspensie in die wyn. Die gebrek aan 'n geskikte breisel met hierdie behandeling, kan dus ook lei tot swawelbesmetting in die wyn.

Volgens Drews et al (1957) word elementêre swawel, onder die anaerobiese toestande van alkoholiese gisting, ensimaties na  $H_2S$  gereduseer en dit blyk seker te wees dat die kodehidrogenases, as waterstofdonors, hierby 'n deurslaggewende rol speel. Rankine (1963) kon egter deur data deur hom verkry, nie tot die gevolgtrekking kom dat die reduksie van elementêre swawel deur middel van ensimatiese werking plaasvind nie. Volgens Kaji & Mc Elroy (1959) kan elementêre swawel direk met glutatjoon in gisswamme reageer om  $H_2S$  te vorm.

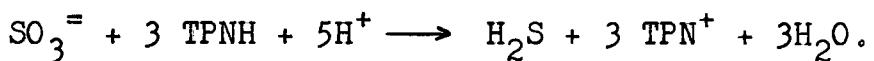
In hierdie verband het Rankine (1963) aangetoon dat elementêre swawel die grootste, enkele bydrae lewer tot die vorming van  $H_2S$  gedurende gisting. Volgens Toukis & Stern (1962) kon slegs 1 d.p.m. die vorming van  $H_2S$  tot gevolg hê. 'n Groot gedeelte gaan egter gedurende gisting, deurdat dit saamgevoer met  $CO_2$ , aan die lug verlore. Ook oortappe verminder die gehalte van  $H_2S$  aansienlik. 'n Konsentrasie van 5 d.p.m. en meer gee egter 'n  $H_2S$ -residu in die wyn, wat moeilik deur oortap en luggee verwijder sal word.

Aangesien slegs 5 d.p.m. swawel 'n  $H_2S$  probleem kan skep, beteken dit dat slegs 4 gm elementêre swawel per ton druiwe voldoende besmetting kan veroorsaak (Thoukis & Stern, 1962).

Swaweltoedienings in die wingerd het aangetoon dat toedienings 3 weke voor parstyd tot sterk  $H_2S$ -vorming gedurende gisting aanleiding gee, terwyl by toedienings 5 weke voor parstyd,  $H_2S$ -vorming afwesig was. Weersomstandighede, veral ten opsigte van reën, beïnvloed die swawelresidu op druiwe ook tot 'n groot mate. Die gevvaar van laat swaweltoedienings in die wingerd, kort voor die parsseisoen, kan dus nie oorbeklemtoon word nie.

Die algemene aanwending van  $SO_2$  in die wynbereiding is welbekend. Volgens Rankine (1963) is die reduksie van sulfiet na  $H_2S$  alleen moontlik wanneer spesifieke sulfietreduktases aanwesig is. Volgens Hilz & Kittler (1958) vind reduksie plaas deur TPNH (geduseerde trifosfo-piridiennukleotied). Geen kofaktore skyn nodig

te wees nie en dit is nie duidelik of een of meer ensieme betrokke is nie. Hulle dui die reaksie as volg aan:



So 'n reduksie is ook deur Brenner (1955) voorgestel en dit skyn of die verskille by die giste, ten opsigte van hul vermoë om sulfiet na  $\text{H}_2\text{S}$  te reduseer, geassosieerd is met die hoeveelheid van die betrokke ensiem wat aanwesig is.

Volgens Schanderl (1959) vind hierdie reduksie baie stadig plaas, maar mag veral by sterkgeswawelde moste tot  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming lei. Hoe hoër die sulfietgehalte, hoe langer word die gisting vertraag en in hierdie tydperk speel die reduksie van sulfiete en bisulfiete af. Thoukis & Stern (1962) vind ook dat klein hoeveelhede sulfiet na  $\text{H}_2\text{S}$  gereduseer word. Konsentrasies van 'n 100 d.p.m.  $\text{SO}_2$  en meer moet egter teenwoordig wees voordat enige spore van  $\text{H}_2\text{S}$  in die wyn waargeneem kan word.

In die praktyk word slegs 50 tot 150 mg/l  $\text{SO}_2$  aangewend (Thoukis & Stern 1962) en kan die bydrae tot  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming deur reduksie van sulfiet as gering beskou word. Die wat wel gevorm word, gaan met die normale kelderbehandeling van die wyn, verlore.

Sulfaat word in natuurlike substrate soos druiwe, as 'n normale bestanddeel aangetref. Volgens Schanderl (1959) kan verdere sulfaatopname deur die mos ook in die houtvat plaasvind.

Wanneer geswawelde houtvate vir 'n lang tydperk drooggelaat word, kan die  $\text{SO}_2$  in die hout na sulfaat geoksideer word en kan hierdie sulfaat uit die hout deur mos opgeneem word. Ook die sintetiese byvoeging van gips ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) by suurarme moste, kan die sulfaat konsentrasie verhoog. Met die gips van mos, reageer  $\text{CaSO}_4$  met kaliumbitartraat waardeur vry wynsteensuur en kaliumsulfaat ontstaan.

Die direkte reduksie van sulfaat na  $\text{H}_2\text{S}$  word deur Hilz & Kitterer (1958) aangetoon. Sulfaat word eers geaktiveer na PAPS (3-fosfoadenosien-5-fosfosulfaat) deur 'n ensiemsisteem van giste wat beide sulfaat- en sulfietione aktiveer. Hierdie geaktiveerde sulfaatione word dan deur TPNH gereduseer na sulfiet. Die verdere reduksie van sulfiet is reeds aangetoon.

In 'n basiese medium soos druwe, is organiese swawelverbindings in toereikende hoeveelhede aanwesig om die verskillende gis-reduktases afbrekingsmoontlikhede te gee. Ook in die gisselle self, kom 'n hele aantal organiese swawelverbindings voor, onder andere, vitamien  $B_1$ , biotien en glutatjoon. Vir hul doeltreffende werking besit giste talryke SH- bevattende ensieme en ko-ensieme (Schanderl 1959). Hy noem die vernaamste ensieme in hierdie verband naamlik B-amilase, karboksilase, alkohol-, asetaldehyd- en fosfogliseraldehydhidrogenase, pirodruiwesuuroksidase, fosfoglukomutase, adenainsentrifosfatase, heksokinase en ko-ensiem A.

Al hierdie verbindings kom dus ook in mos en wyn voor en moet almal as potensiële bronne vir die vorming van  $H_2S$  en ander ongewenste swawelverbindings beskou word. Dit is dus verstaanbaar dat die giste die swawel van substrate, sowel as hul eie selsubstanse-swawel, so kan verander dat  $H_2S$ -vorming gedurende gisting kan ontstaan. Laasgenoemde proteïen  $H_2S$ -vorming moet dus aan die eiwitafbou van giste toegeskryf word. Swawel speel dus 'n belangrike rol in die energie sowel as die boustofwisseling van die gisselle en  $H_2S$  kan by beide ontstaan.

By die ondersoek van die vermoë van verskillende giste om  $H_2S$  te vorm, het Drews et al (1957) gevind dat die hoeveelheid gedurende gisting van 0 tot 716  $\mu\text{gm/l}$  (bepaal in die gistingsgas) wissel. Aangesien pH, temperatuur,  $SO_2$ -konsentrasie en alkoholproduksie by al die rasse eners was, moet die verskillende hoeveelhede  $H_2S$  wat gevorm is, alleen toegeskryf word aan die eiesoortige eienskappe van elke ras. Verder is aangetoon dat met toenemende hoeveelhede gis, 'n toename in  $H_2S$ -vorming verkry word. Stygende suikerkonsentrasie het egter geen invloed getoon nie.

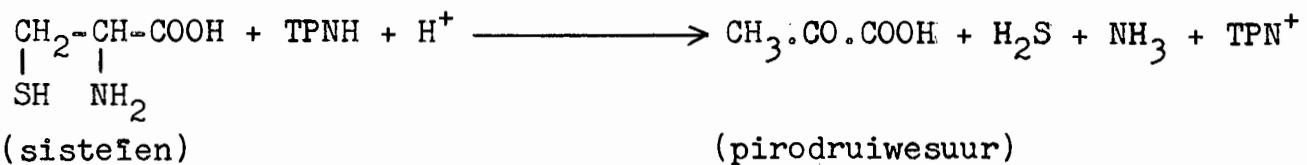
In hierdie verband het Rankine (1964) die  $H_2S$ -vorming van 64 giste van 12 genera in mos, onder verskillende toestande, nagegaan. Groot verskille, van geen  $H_2S$ -vorming tot 'n hoë produksie wat organolepties maklik waarneembaar was, is verkry. Verder is by  $30^\circ C$  vyfmaal soveel  $H_2S$  as by 'n gistingstemperatuur van  $15^\circ C$ , verkry.

Schizosaccharomyces malidevorans het die grootste hoeveelhede gevorm terwyl die oksidatiewe kimgiste van die genera Pichia en Candida, 'n lae, stadige produksie oor 'n lang periode getoon het. Volgens Ricketts & Coutts (1951) kan sekere respirasie ensieme, wat instaat is om SH-groepe na disulfied verbindings te oksideer, vir die afwezigheid van  $H_2S$  by kimgiste verantwoordelik wees.

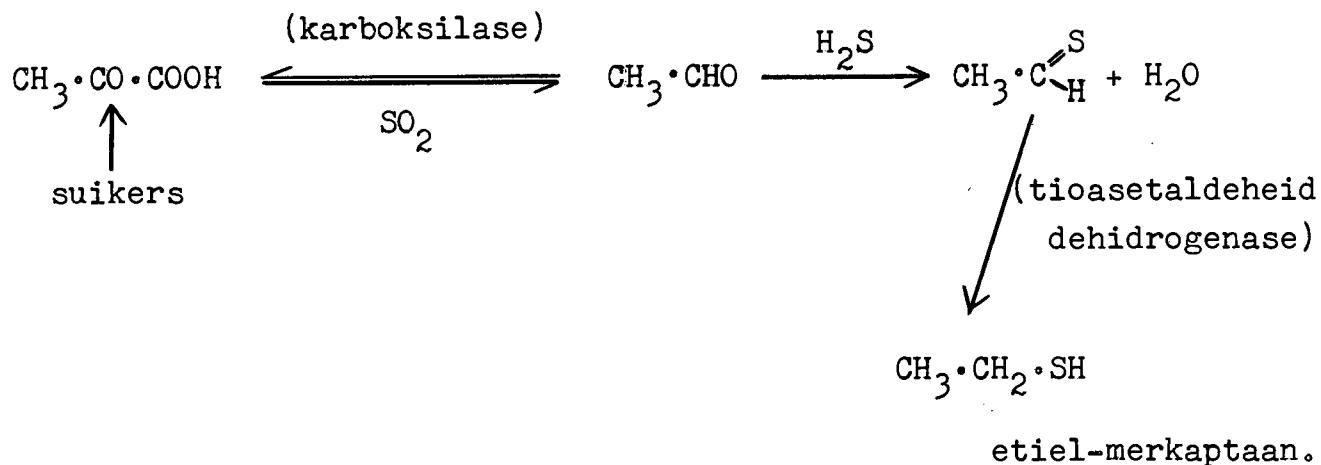
Die meganisme waardeur ongewenste swawelverbindings uit swawelbevattende aminosure gevorm word, is 'n onderwerp wat hom leen tot teenstrydige bevindings en verklarings van verskeie navorsers. Woll (1958) verklaar dat swawelbevattende aminosure oorsprong gee aan  $H_2S$  en dat giste verskil ten opsigte van hul vermoë om hierdie aminosure te gebruik. Schultz & Mc Manus (1950) vind in hierdie verband dat Endomycopsis fibuliger en E. selenaspora alleen sal groei wanneer hulle voorsien word van metionien of sisteiën.

Rankine (1963) kon die vorming van  $H_2S$  uit swawelbevattende aminosure egter nie aantoon nie, maar volgens hom blyk dit seker te wees dat die kodehidrogenases as waterstofdonors hierby betrokke is. Smyth (1942) en Binkley (1943) het aangetoon dat Saccharomyces cerevisiae die ensiem sisteiendesulfurase bevat, wat uit sisteiën,  $H_2S$ , pirodruiwesuur en  $NH_3$  vorm:-

sisteiën  
(desulfurase)

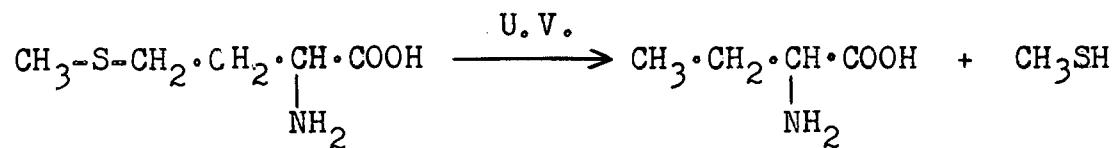


Volgens die skema van Bersin (1950) gee die ensimatiese dekarboksilasie van pirodruiwesuur, asetaldehied, waarmee  $H_2S$  kan reageer om tioasetaldehied te vorm, wat op sy beurt weer na etielmerkaptaan gereduseer kan word:-

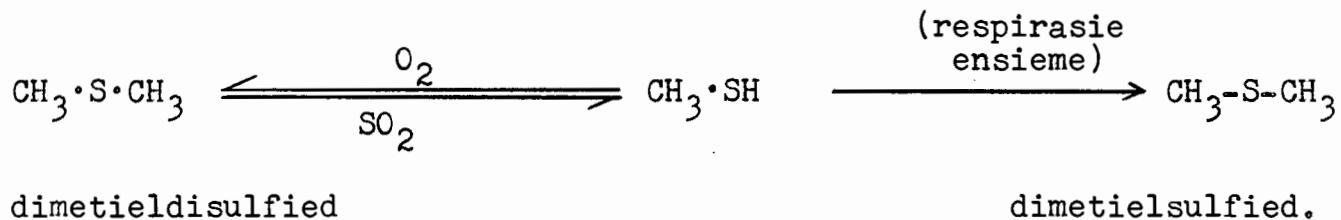


Op dieselfde manier kan hoër aldehyde aanleiding gee tot homoloë tiolverbindings gedurende die alkoholiese gisting.

Thoukis & Stern (1962) kan geen chemiese ondersteuning vind vir die bewering dat  $H_2S$  met etielalkohol reageer om etielmerkaptaan te vorm nie. Hulle beweer dat metielmerkaptaan 'n groter bydrae lewer tot hierdie wangeure by wyne. Die oorsprong van laasgenoemde is vry metionien in die mos of wyn. So kon hulle die vorming van metielmerkaptaan aantoon deur 'n wyn met 1 tot 5 d.p.m. metionien te bestraal met ultraviolet of sonlig:-



Volgens die Bersin-skema (1950) kan metielmerkaptaan verder deur respirasie ensieme geoksideer word na dimetiel-sulfied en dime-tieldisulfied en laasgenoemde weer deur  $\text{SO}_2$  gereduseer word om me-tielmerkaptaan te vorm:-



Rankine (1963) kan die teenwoordigheid van  $\text{H}_2\text{S}$  en etielmerkaptaan gaschromatografies aantoon by moste wat in teenwoordigheid van elementêre swawel gegis was. Die teenwoordigheid van di-etieldisulfied kan nie aangetoon word nie. Wyne waarby  $\text{H}_2\text{S}$  gevoeg is, het ook etielmerkaptaan gevorm.

Uit bostaande is dit dus duidelik dat die vorming van  $\text{H}_2\text{S}$  gedurende gisting deur 'n hele aantal faktore beïnvloed word. Die gis betrokke by die gisting speel 'n belangrike rol en moet die vorming van  $\text{H}_2\text{S}$  nie soseer by die swawelverbindings as sodanig gesoek word nie, maar veel meer by die metabolisme van die giste self.

## 2.6. Diasietiel en Asetofien.

Volgens Tabel 3, wissel die diasietielgehaltes van die 1964-proefmonsters tussen 0.11 (monster 7) en 29.06 mg/l (monster 21) met 'n gemiddelde waarde van 4.17 mg/l. By die 1965-proefmonsters (Tabel 4), wat spesiaal geselekteer is volgens die mate van bederf,

wissel die diasetielgehaltes tussen 0.23 (monster 1) en 40.75 mg/l (monster 5) met 'n gemiddelde waarde van 12.62 mg/l.

Die 1964-proefmonsters is op 'n suiwer verteenwoordigende basis geselekteer, dit wil sê, verteenwoordigend wat betref die rypheidsgraad, die mate van bederf en enige ander faktore wat by so 'n seleksie van toepassing mag wees. Die 1965-proefmonsters daarenteen is spesiaal geselekteer ten opsigte van die mate van bederf wat in elke wingerd voorgekom het. Minstens tweederdes van laasgenoemde monsters het dus 'n redelike hoë mate van bederf getoon. Dit is dus duidelik dat waar die druiwe aan 'n hoë mate van bederf onderhewig is, die gemiddelde diasetielgehalte 'n daadwerklike styging toon.

Van die 1964-proefmonsters, toon monsters 21 en 22 die hoogste diasetiel gehalte, naamlik 29.06 en 10.48 mg/l onderskeidelik. Albei monsters is afkomstig uit die Constantiavallei waar die vogtige invloed van die see gedurende die somermaande, gunstige toestande skep vir die ontwikkeling van mikro-organismes op druiwe. Dit is opvallend dat monsters 5 en 6 van die 1965-proefmonsters, wat ook uit Constantia afkomstig is, weereens die hoogste diasetielgehaltes naamlik 40.75 en 26.92 mg/l onderskeidelik toon. Dit is dus duidelik dat klimaat 'n belangrike rol speel.

'n Baie interessante verskynsel het tevoorschyn getree ten opsigte van die visuele mate van bederf en die diasetielgehalte van

die druiwe. Van die 1964-proefmonsters, het monster 22 'n baie groter mate van bederf getoon as 21, maar die diasetielgehalte van laasgenoemde is teen verwagting feitlik driemaal hoër as dié van 22. Dieselfde verskynsel is by 5 en 6 van die 1956-proefmonsters verkry. Waar monster 6 visueel 'n baie hoër mate van bederf as monster 5 getoon het, is die diasetielgehalte van 6 slegs 26.92 mg/l teenoor 40.75 mg/l van monster 5.

Hierdie verskynsel moet toegeskryf word aan die stadium van bederf tydens die insameling van die monsters. Onder koel, vogtige toestande tree die bederf van druiwe tevoorskyn in 'n vorm wat algemeen bekend staan as natvrot. Wanneer hierdie stadium van bederf opgevolg word deur warm, droë sonskyndae, gaan die besmetting oor in die sogenaamde droëvrot stadium. Dit is veral onder laasgenoemde omstandighede dat 'n laer diasetielgehalte verkry is.

Die verklaring van hierdie verskynsel moet heel waarskynlik gesoek word by die vlugtige eienskappe van diasetiel. Diasetiel het 'n relatief lae kookpunt ( $88^{\circ}$ ) sodat aangeneem kan word dat onder warm, droë toestande, veral by goed deurlugte wingerde, verdamping van diasetiel relatief vinnig sal plaasvind en 'n aansienlike daling in die diasetielgehalte sal veroorsaak. Onder koel toestande, met hoë humiditeit en swak deurlugting, sal die verdamping van diasetiel teengewerp word.

Dit is dan ook die omstandighede waaronder bogenoemde monsters hulle bevind het. Monsters 22 en 6 is versamel in die droëvrot stadium en het ten spyte 'n groter mate van bederf, laer diasetielgehaltes getoon as minder vrot druiwe in die natvrot stadium. Met die vertolking van die diasetielgehalte van druiwe moet die stadium en tipe van bederf dus ook in aanmerking geneem word vir betroubare gevolgturekkings.

Volgens Radler (1962) kan diasetiel deur verdere mikrobeaktiwiteit gereduseer word na asetofien en uiteindelik na 2,3-butanediol. Dit is egter onwaarskynlik dat 'n afname in die diasetielgehalte by druiwe volgens hierdie weg geskied aangesien die reduksie van diasetiel hoofsaaklik onder anaerobiese toestande geskied.

Die 1965-proefmonsters is geselekteer volgens die mate van bederf wat voorgekom het met 'n toenemende mate van monsters 1 tot 3, 4 tot 6 en 7 tot 9. Volgens resultate in Tabel 4 is dit duidelik dat die diasetielgehalte toeneem met 'n toenemende mate van bederf. Daar skyn dus 'n direkte verband te wees tussen die mate van bederf en die diasetielgehalte van die druiwe of mos. Die stadium van bederf moet egter in aanmerking geneem word.

Hoë diasetielgehaltes by druiwe moet derhalwe toegeskryf word aan die aanwesigheid van sekere verrottungsorganismes. Die vorming van diasetiel as metabolismiese eindproduk van sekere mikro-organismes

wat bederf veroorsaak, het reeds aansienlike aandag geniet.

Hays & Riester (1952), Murdock et al (1952) en Hill & Wenzel (1957) het aangetoon dat die vorming van diasetiel en asetofen by lemoensapkonsentrate, veroorsaak word deur die groei van sekere suurverdraende bakterieë van die genera Lactobacillus en Leuconostoc, veral Lactobacillus plantarum.

Die resultate van Guymon & Crowell (1965) en Dittrich & Kerner (1964) toon duidelik aan dat die appelmelksuurbakterieë hoofsaaklik verantwoordelik gehou moet word vir die vorming van diasetiel en asetofen.

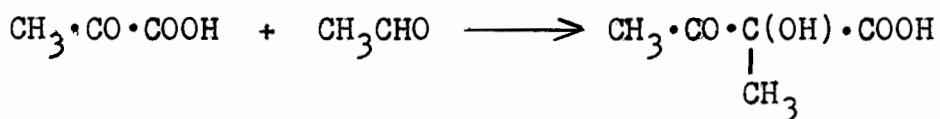
Christensen & Pederson (1958) het aangetoon dat die vorming van hierdie vlugtige verbindinge deur 'n hele aantal faktore beïnvloed word. Die homofermentatiewe melksuurbakterieë vorm diasetiel meer geradelik as die heterofermentatiewe organismes. Volgens du Plessis (1961) word een of meer van hierdie vlugtige verbindinge deur die homofermentatiewe wynmelksuurbakterieë gevorm vanaf koolhidrate en organiese sure in die wyn. Hy kon egter nie die vorming van hierdie verbindinge by die heterofermentatiewe bakterieë aantoon nie.

Fields (1962) het 'n opname gemaak van die vermoë van sekere swamme, hoofsaaklik Penicillium en Aspergillus spp., om diasetiel en asetofen te vorm. Van 16 soorte wat hy ondersoek het, het 81.2% positiewe resultate getoon.

Volgens die literatuur bestaan daar egter nog 'n groot behoefte aan navorsing in hierdie verband, veral ten opsigte van diasetielvormende organismes wat op druwe voorkom. Die vorming van hierdie produk deur die egte wyngiste en asynsuurbakterieë genoedsaak verdere ondersoek. Interessant in hierdie verband is gevind dat sommige monsters wat erg besmet was met Botrytis nie altyd 'n hoë diasetielwaarde getoon het nie.

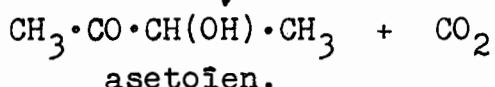
Dit is dus duidelik dat bakterieë, veral die melksuurbakterieë, 'n rol speel by die vorming van diasetiel en asetoïen. Dit kan egter ook aanvaar word dat die ontwikkeling van die sekondêre verrottingsorganismes van die Penicillium en Aspergillus spp. 'n verdere bydrae lewer tot die vorming van hierdie produkte.

Die meganisme waarvolgens hierdie verbindings gevorm word, is vir 'n geruime tyd reeds ondersoek. Volgens Awades, Maresca & Rubin (1960) word asetoïen gedurende bakteriese gistings gevorm deur die kondensasie van 'n asetaldeheidensiemkompleks en pirodruiwesuur om  $\alpha$ -asetomelksuur te vorm, wat na dekarboksilasie, asetoïen en  $\text{CO}_2$  gee:-



$\alpha$ -asetomelksuur.

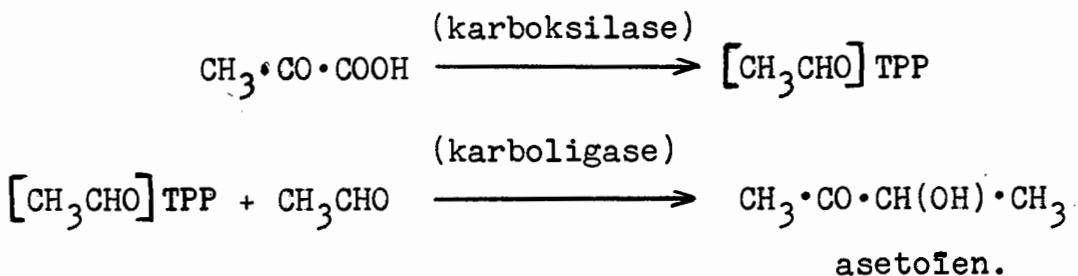
↓  
(karboksilase)



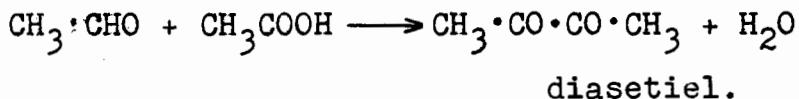
asetoïen.

Deur die verdere ensimatisiese dehidrering van asetofien, word diasetiel verkry. Dit is dus duidelik dat asetofien 'n tussenproduk is by die vorming van diasetiel.

Volgens Guymon & Crowell (1965) word asetofien tydens die alkoholiese gisting by giste gevorm deur die kondensasie van twee molekule asetaldeheid. Een molekuul word vooraf geaktiveer deur met tiamienpirofosfaat te bind. Die ensiem karboligase kataliseer die reaksie en kan as volg voorgestel word:-

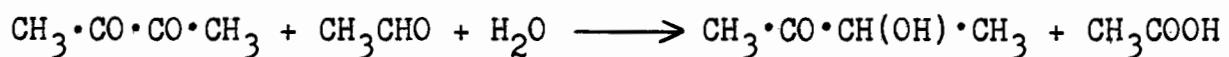


Ribereau-Gayon, Peynaud & Lafon (1956) het 'n verdere meganisme voorgestel waardeur asetofien ontstaan deur die kondensasie van 'n molekuul asetaldehyd en 'n molekuul asynsuur:-



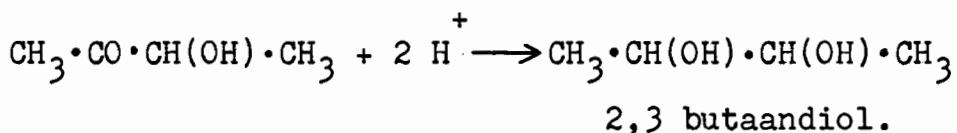
Die reaksie word deur die ensiemsisteem karboksilase gekataliseer. Die volgende stap is 'n oksidasie-reduksie reaksie tussen 'n molekuul diasetiel en 'n molekuul asetaldehyd waardeur asetofien

ontstaan en asynsuur weer geregenereer word:-



Geregenereerde asynsuur kan dus weer met 'n verdere molekuul asetaldehied kondenseer en vervul dus die rol van 'n katalisator.

Deur verdere reduksie van die ander karbonielgroep van die asetofien, ontstaan 2,3-butaandiol:-



Daar bestaan dus meningsverskil oor die presiese meganisme waarvolgens diasetiel en asetofien gevorm word. Dit is egter duidelik dat pirodruiwesuur, asetaldehied en asynsuur as die uitgangsstowwe van hierdie verbindings aanvaar moet word. Guymon & Crowell (1965) kon, deur die byvoeging van asetaldehied by die gisting van Saccharomyces cerevisiae, die konsentrasie asetofien merkbaar vermeerder. Dit gebeur alleenlik in teenwoordigheid van gistende suikers of pirodruiwesuur, wat bewys dat asetofien van suikers afgelei word.

## 2.7. Organoleptiese beoordeling.

Volgens Tabel 3, wissel die organoleptiese beoordelingspunte, wat aan die verskillende monsters van die 1964-proefmonsters toegeken

is, van 51.5 (monster 6) tot 69.2 (monster 12) met 'n gemiddelde waarde van 59.8. By die 1965-proefmonsters (Tabel 4), wissel die aantal punte tussen 540 (monster 5) en 64.0 (monster 8) en die gemiddelde waarde is 59.1. Volgens die waardebepaling moet hierdie wyne dus oor die algemeen as minderwaardig beskou word.

Verskeie redes kan vir hierdie minderwaardige kwaliteit aangevoer word. Die mos is onder eksperimentele toestande uitgegis wat nie absoluut verteenwoordigend is van die toestand in die praktyk nie. Vir die statistiese berekening van die resultate moes noodwendig die gemiddelde waardes van die individuele proeërs geneem word. Hierdeur het die weergawe van die spesifieke eienskappe van die wyne deur die verskeie proeërs tot 'n mate verlore gegaan. Indien dit die geval sou wees, is dit dus te wagte dat hierdie monsters van 'n laer gehalte sal wees.

Van die 1964-proefmonsters word monsters 1,2,3,5,7,8,10,12,13, 14 en 17 as middelmatig beskou (totale puntetoekennings tussen 60 en 69) terwyl die res almal minderwaardig is (50-59).

By die 1965-proefmonsters is slegs monsters 3,7,8 en 9 van middelmatige gehalte. By hierdie monsters het die mate van bederf toegeneem van 1 tot 3, 4 tot 6 en 7 tot 9. Volgens Tabel 4 is dit egter duidelik dat die aantal beoordelingspunte nie altyd ooreenkomsdig afgeneem het met 'n toename in die mate van bederf nie.

In verband met die organismes betrokke by die bederf van druiwe en hul invloed op die kwaliteit van wyne, het Nelson & Ough (1966) die volgende resultate verkry. Botrytis cinerea, Rhizopus arrhizus, Aspergillus niger en A. flavus het baie min of geen effek gehad op die vlugtige suurgehalte van die wyn nie. In kombinasies met Acetobacter roseus en Saccharomyces cerevisiae met A. niger, R. arrhizus of B. cinerea het die vlugtige suur egter toegeneem. Die totale suur van die wyne is alleen deur A. niger verhoog, wat ook die pH verlaag het.

Wyne wat nie drooggegis het nie, was daardie met hoë vlugtige suurgehaltes. Volgens Nelson en Ough (1966) was daar egter nie merkbare verskille ten opsigte van die suikerresidue in die wyn nie. 'n Omgekeerde verband tussen die alkohol- en vlugtige suurgehalte van die wyn is ook aangetoon. Wyne van druiwe onderhewig aan die besmetting van A. flavus, was baie hoër in tannien as wyne waarvan die druiwe met ander fungi besmet was. Ook die kleur is in hierdie geval benadeel.

Dit is dus duidelik dat die verskillende mikro-organismes op druiwe 'n merkbare invloed kan uitoefen op die kwaliteit van wyne. Die resultate van hierdie ondersoek dui egter duidelik aan dat ook verskeie ander faktore betrokke is by die organoleptiese evaluering van wynkwaliteit.

---

## HOOFSTUK 3.

### KORRELASIEKOËFFISIËNTE.

#### 3.1. Berekening van parsiële korrelasies van die 1964-proefmonsters.

Ten einde na te gaan of daar enige korrelasie tussen die verskillende bepalings bestaan, is die parsiële korrelasiekoëffisiënte volgens die metode van Doolittle (Goulden, 1952) bereken.

Hiervoor was dit nodig om eers die enkelvoudige korrelasiekoëffisiënte tussen die verskillende reekse bepalings  $X_1$ ,  $X_2$ .....  
 $X_9$  te bepaal. Daar was altesaam 36 aangesien dit bereken word tussen  $X_1$  &  $X_2$ ,  $X_1$  &  $X_3$ .....  $X_1$  &  $X_9$  sowel as tussen  $X_2$  &  $X_3$ ,  $X_2$  &  $X_4$ .....  $X_2$  &  $X_9$  ens. tot  $X_8$  &  $X_9$ .

Die enkelvoudige korrelasiekoëffisiënt,  $r$ , tussen  $X_1$  &  $X_2$  byvoorbeeld, is as volg bereken:-

$$r_{12} = \frac{\sum X_1 X_2 - \frac{\sum X_1 \sum X_2}{n}}{\sqrt{\left(\sum X_1^2 - \frac{(\sum X_1)^2}{n}\right)\left(\sum X_2^2 - \frac{(\sum X_2)^2}{n}\right)}} = 0.0360.$$

waar  $n$ = aantal monsters naamlik 22.

Met hierdie gegewens is die korrelasiematriks opgestel en die waardes, soos aangetoon in Tabel 9, is verkry.

Die verskillende parsiële korrelasiekoëffisiënte is uit bovenoemde korrelasiematriks bereken en die parsiële korrelasies, soos aangetoon in Tabel 10, verkry.

Die parsiële korrelasiekoëffisiënt  $r_{24.1356789}$  is byvoorbeeld 0.8821 en dit meet die korrelasie tussen  $X_2$  &  $X_4$  en terselfdertyd elimineer dit enige neiging van die oorblywende Xse om die ware korrelasie te vertroebel.

Alleen die volgende parsiële korrelasiekoëffisiënte het werklike korrelasie getoon:-

$$\begin{aligned} r_{24.1356789} &= 0.8821 \quad (\text{beduidend by } 1\%) \\ r_{56.1234789} &= 0.8125 \quad " \\ r_{78.1234569} &= 0.7447 \quad " \\ r_{13.2456789} &= 0.4763 \quad (\text{beduidend by } 10\%) \\ r_{23.1456789} &= 0.4605 \quad " \\ r_{19.2345678} &= -0.4401 \quad " \\ r_{29.1345678} &= -0.4480 \quad " \\ r_{59.1234678} &= -0.4546 \quad " \end{aligned}$$

Dit stem ooreen met:-

$X_2$  en  $X_4$  - vlugtige suur en diasetiel.

$X_5$  en  $X_6$  - totale N en vry N.

$X_7$  en  $X_8$  - suiker en  $\text{CO}_2$ .

$X_1$  en  $X_3$  - organoleptiese beoordeling en totale suur.

$X_2$  en  $X_3$  - vlugtige suur en totale suur.

$X_1$  en  $X_9$  - organoleptiese beoordeling en  $\text{H}_2\text{S}$

$X_2$  en  $X_9$  - vlugtige suur en  $\text{H}_2\text{S}$ .

$X_5$  en  $X_9$  - totale N en  $\text{H}_2\text{S}$ .

Die parsiële korrelasiekoëfisiënte beduidend by 1% kan as absoluut gekorreleerd beskou word. Die waardes beduidend by 10% kan onder andere toegeskryf word aan die beperkte aantal monsters wat ondersoek is. Met 'n groter aantal monsters mag beter korrelasies verkry word.

Weens praktiese oorwegings was die ontleding van meer monsters nie moontlik nie. Korrelasie by 10% kan dus nie as absoluut beskou word nie en toon hoogstens 'n neiging tot perfekte korrelasie.

---

## HOOFSTUK 4.

### BESPREKING VAN KORRELASIES.

#### 4.1. Suiker en CO<sub>2</sub>.

Met die statistiese verwerking van die gesamentlike resultate van die 1964-proefmonsters, is 'n beduidende korrelasie van  $r = 0.7447$  (beduidend by 1%) verkry tussen die suikergehalte van die mos en die totale gewig CO<sub>2</sub> wat gedurende gisting afgegee is (Tabel 10). Hierdie korrelasie kan as aksiomaties beskou word.

#### 4.2. Suiker en totale suur.

Dit word algemeen aanvaar dat die rypheidsgraad 'n belangrike faktor is by die bepaling van druifkwaliteit en dat, vir die bereiding van 'n wyn van hoogstaande kwaliteit, dit essensieel is dat die druiwe in 'n optimum toestand van rypheid verkeer. (Bergh 1958).

Daar bestaan geen universele metode waarvolgens die rypheidsgraad bepaal kan word nie. Verskeie maatstawwe is reeds voorgestel maar geeneen was nog omvattend genoeg om onder alle toestande van toepassing te wees nie.

Die werk van La Rosa (1955) en Anderson (1957) en verskeie ander navorsers, toon aan dat die tradisionele evaluering van die rypheidsgraad, deur middel van die suiker/suur verhouding, geensins absoluut is nie. Gedurende rypwording vind daar wel 'n geleidelike afname in die suurgehalte met 'n ooreenstemmende toename in die suikergehalte plaas. Dit is egter bekend dat daar geen chemiese of biologiese verband tussen dié bestanddele in die druif bestaan nie, in elk geval nie met rypwording nie.

Ten einde die moontlike verband van die suiker/suur verhouding op die kwaliteit van die wyne na te gaan, is hierdie verhouding volgens die metode van Amerine & Winkler (1941) uitgewerk. Die suiker/suur verhoudings van die 1964-proefmonsters, tesame met die ooreenkomsstige organoleptiese beoordelingspunte, word in Tabel 11 aangevoon.

Volgens hierdie resultate toon die suiker/suur verhouding onderling groot verskille en wissel tussen 20.5 (monster 5) en 47.9 (monster 11). Met die statistiese verwerking van hierdie resultate kon geen beduidende korrelasie aangetoon word tussen hierdie verhouding en die organoleptiese kwaliteit van die wyn nie.

Verder word volgens Tabel 10 geen korrelasie verkry tussen die suiker- en totale suurgehalte van die mos nie. Dit is dus in ooreenstemming met die resultate van bogenoemde navorsers.

Suiker- en suurveranderings gedurende rypwording vind onafhanklik vanmekaar plaas.

In uiterste gevalle, waar die mos lae suikergehaltes getoon het, is sommige wyne egter as plat, dun of sonder karakter beskryf. Monsters 4,18 en 20 is voorbeeld van sulke wyne. Geringe fluktuasies in die suiker- of suurgehalte van die mos kan egter nie met wynkwaliteit in verband gebring word nie.

Volgens Bergh (1958) en bogenoemde navorsers, bly die suiker/suur verhouding, met sy tekortkominge, nog die vernaamste maatstaf ten opsigte van die graad van rypheid en die optimum plukstadium.

#### 4.3. Totale suur en vlugtige suur.

Volgens Tabel 10, word 'n beduidende korrelasie van 10% ( $r = 0.4605$ ) tussen die totale suur- en vlugtige suurgehalte van die mos verkry. Geen oortuigende chemiese ondersteuning kan vir hierdie korrelasie gevind word nie.

Die histogram van die 1964-proefmonsters (Figuur 5) toon duidelik aan dat monsters 5,21 en 22 met totale suurgehaltes van 10.20, 10.20 en 10.16 gm/l W.S.S. gepaard gaan met vlugtige suurgehaltes van 0.273, 0.548 en 0.229 gm/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$  onderskeidelik. Veral in die geval van monster 21, waar die hoogste totale suurgehalte gepaard gaan met die hoogste vlugtige suurgehalte.

Die mees aanvaarbare verklaring vir hierdie korrelasie is dat in die meeste gevalle, asynsuurbesmetting ingetree het voordat die druwe die volryp stadium bereik het, met ander woorde terwyl die druwe nog relatief hoë suurgehaltes bevat het. Die hoë totale suurgehaltes dui daarop dat hierdie monsters voor die volryp stadium ingesamel is of andersins dat mikrobebesmetting tydens rypwording die verdere rypwording van die druwe vertraag en relatief hoë totale suurgehaltes behoue bly.

Aangesien sulke besmettings gewoonlik gepaard gaan met die afskeiding van druiwesap buite die korrel (Nelson & Ough 1966), kan verdamping ook 'n verdere bydrae lewer tot verhoging van die totale suurgehalte.

Die vorming van geringe hoeveelhede vaste sure deur Rhizopus nigricans en Botrytis cinerea is deur Nelson & Ough (1966) en Hofmann (1964) aangetoon. Onder gunstige toestande vir die ontwikkeling van asynsuurbakterieë, skep Botrytis-besmette druwe 'n baie gunstige substraat vir die groei en ontwikkeling van hierdie organismes. In hierdie verband het Nelson & Ough (1966) aangetoon dat waar so 'n kompleks van mikro-organismes saam met giste by besmetting betrokke is, beide die totale- en vlugtige suurgehaltes van druwe toenames toon. Hierdie bevindings kan egter nouliks verantwoordelik gehou word vir die besonder hoë totale suurgehaltes van hierdie monsters.

(62)

In die geval van monster 7 (Tabel 3) gaan 'n totale suurgehalte van 9.17 gm/l W.S.S. gepaard met 'n relatief lae vlugtige suurgehalte (0.122 gm/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Namate die vlugtige suurgehaltes daal na die gemiddelde waarde van 0.148 gm/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$  is die verband met die totale suurgehalte nie meer so uitgesproke nie. In die geval van monsters 1, 2 en 8 gaan vlugtige suurgehaltes bo die gemiddelde gepaard met gemiddelde of onder gemiddelde totale suurgehaltes. Dit moet dus toegeskryf word aan asynsuurbesmettings naby of tydens die volrypstadium van ontwikkeling waar die totale suurgehaltes reeds hul hoogste waardes bereik het.

Dit dien daarop gelet te word dat alhoewel die totale suurgehalte ook die vlugtige suurgehaltes insluit, die bydrae van laasgenoemde baie gering is (gemiddeld hoogstens 2% van die totaal) en dus nie hierdie korrelasie beduidend kan beïnvloed nie.

In die geval van die 1965-proefmonsters (Figuur 6) tree hierdie korrelasie weer baie duidelik navore. In die geval van monsters 1 en 2, gaan lae vlugtige suurgehaltes (0.019 en 0.024 gm/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) gepaard met die totale suurgehaltes van 6.16 en 7.44 gm/l W.S.S. ondskeidelik.

By monster 3, met 'n vlugtige suurgehalte van 0.273 gm/l  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , kry ons 'n totale suurgehalte van 10.66 gm/l W.S.S. By monster 4 kry ons die ooreenkomsstige verlaging van albei. Monsters

5 en 6, met geweldig hoë vlugtige suurgehaltes (1.122 en 0.711 gm/l CH<sub>3</sub>COOH) word totale suurgehaltes van 13.46 en 13.91 gm/l W.S.S. onderskeidelik verkry. Monster 7 toon weer 'n duidelike afname terwyl monsters 8 en 9 weer ooreenkomsstige toenames in beide vlugtige- en totale suurgehaltes toon.

Dit is opvallend dat die 1965-proefmonsters, wat spesiaal ten opsigte van die mate van bederf geselekteer is, 'n hoër gemiddelde totale suurgehalte toon naamlik 9.55 gm/l W.S.S. teenoor die gemiddelde waarde van 7.83 gm/l van die 1964-proefmonsters.

Dit blyk dus dat die voorkoms van mikro-organismes op druwe 'n groot invloed kan hê op die totale suurgehalte van die mos.

#### 4.4. Diasetiel en vlugtige suur.

Met die statistiese verwerking van die resultate van die 1964-proefmonsters, is 'n beduidende korrelasie van  $r = 0.8821$  tussen die diasetiel- en vlugtige suurgehalte van die mos verkry (Tabel 10). Hierdie waarde is beduidend by 1% en toon dus 'n besondere goeie korrelasie. Volgens Tabel 10, is dit ook die grootste korrelasie wat met hierdie ondersoek verkry is.

Deur die histogram van die 1964-proefmonsters in Figuur 5 van nader te beskou, kan hierdie korrelasie duidelik waargeneem word. Hoë diasetielgehaltes gaan gepaard met hoë vlugtige suurgehaltes en omgekeerd. Die korrelasie is egter nie absoluut nie.

Monster 5 het byvoorbeeld 'n laer diasetielgehalte as monster 1, alhoewel sy vlugtige suurgehalte hoër is as laasgenoemde. Hierdie verskynsel kan ook by ander monsters waargeneem word. Daar is dus meer as een faktor by hierdie verband betrokke.

By die 1965-proefmonsters in Figuur 6 tree hierdie korrelasie ook duidelik navore. Monster 5, met die hoogste diasetielgehalte naamlik 40.75 mg/l, het 'n vlugtige suurgehalte van 1.122 gm/l, terwyl monster 1, met 'n diasetiel gehalte van 0.23 mg/l, slegs 0.019 gm/l vlugtige suur bevat.

Volgens hierdie korrelasie gaan die bederf van druiwe dus gepaard met vlugtige-suurvorming en moet die aanwesigheid van asynsuurbakterieë hiervoor verantwoordelik gehou word. Dittrich & Kerner (1964) wys daarop dat asynsuur (die oorwegende vlugtige suur by die wynindustrie) in die meeste gevalle deur asynsuurbakterieë gevorm word. Melksuurbakterieë is egter ook instaat om behalwe melksuur, ook asynsuur te vorm.

Die wyse waarop asynsuur deur melksuurbakterieë gevorm word, is egter verskillend. Volgens Stanier, Adelberg & Doudoroff (1958) kan die melksuurbakterieë in twee groepe ingedeel word, naamlik die homofermentatiewe groep, waarvan die gistingsprodukte hoofsaaklik melksuur is en die heterofermentatiewe groep wat behalwe melksuur, ook alkohol, asynsuur en  $\text{CO}_2$  vorm.

Volgens Neuberg & Reinfurth (1923) sorteer onder die homofermentatiewe groep veral Pediococcus, wat nie alleen pirodruiwesuur na melksuur dehidreer nie, maar eersgenoemde ook kan dekarboksileer. Die gedekarboksileerde pirodruiwesuur kan dan na alkohol gereduseer word of na asynsuur geoksideer word.

By die heterofermentatiewe groep daarenteen, vind die suikerabouing op 'n ander manier plaas. Hier is asetielfosfaat die uitgangsstof vir die vorming van asynsuur. Onder anaerobiese toestande word die asetielfosfaat deur die afsplitsing van fosforsuur dehidreer na asetaldehyd en verder na alkohol. Onder aerobiese toestande egter kan geen reduksie plaasvind nie sodat asynsuur as oksidasieproduk van die asetaldehyd ontstaan.

Dit is dus duidelik dat onder aerobiese toestande, soos dit by die besmetting van druwe die geval is, die melksuurbakterieë ook 'n bydrae kan lewer tot vlugtige suurvorming. Volgens Dittrich & Kerner (1964) word asynsuur- en melksuurbakterieë altyd saam aangetref en moet veral asynsuurbakterieë verantwoordelik gehou word vir hoge vlugtige suurgehaltes.

Geen ondersteuning kan verkry word vir die wedersydse vorming van diasetiel of asetofien deur asynsuurbakterieë nie. Daar bestaan dus waarskynlik geen direkte verband tussen asynsuur- en diasetielvorming by asynsuurbakterieë nie. Soos reeds genoem moet melksuurbakterieë, Penicillium en Aspergillus spp. verantwoordelik gehou word

vir die vorming van diasetiel en asetofien. Vir hierdie korrelasie moet dus 'n kompleks van bogenoemde organismes vir die besmetting verantwoordelik wees.

Volgens die histogramme in Figure 5 & 6 is dit duidelik dat die relatiewe diasetiel- en vlugtige suurgehaltes van monster tot monster verskil. So byvoorbeeld het monster 7 'n relatief laer diasetielgehalte as monster 6 (Figuur 5), terwyl hul vlugtige suurgehaltes feitlik dieselfde is. Hierdie verskille moet dus hoofsaaklik aan die aard van die mikrobebesmetting toegeskryf word. Dieselfde geld vir verskeie ander monsters.

Dit is dus duidelik dat die diasetiel- en vlugtige suurgehalte van mos direk gekorreleerd is, as gevolg van die voorkoms van beide diasetiel- en vlugtige suurvormende organismes. Mikrobebesmetting op druiwe is dus kompleks van aard en kan selde aan die voorkoms van enkele organismes toegeskryf word.

#### 4.5. Diasetiel en organoleptiese beoordeling.

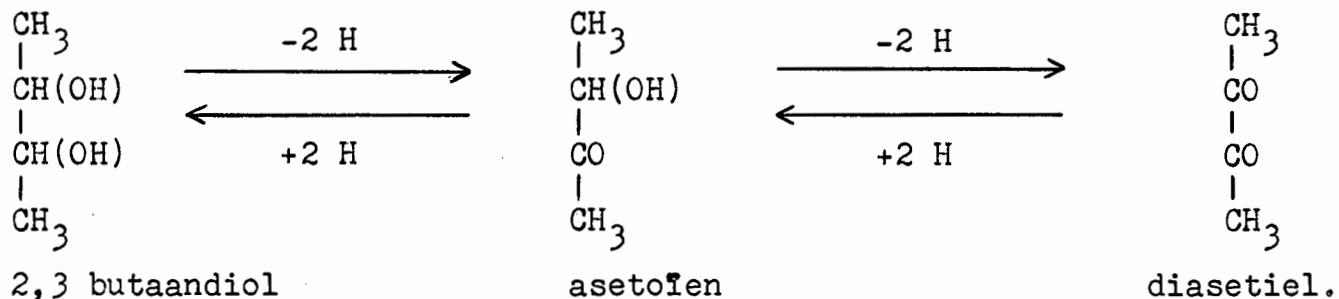
Geen beduidende korrelasie is verkry tussen die diasetielgehalte van die mos en die organoleptiese beoordeling van die wyn nie. Volgens hierdie resultate bestaan daar dus geen verband tussen die mate van bederf en die kwaliteit van die wyn nie. Dit kan egter nie sonder meer aanvaar word nie.

Volgens Hays & Riester (1952), Murdock et al (1952), Dittrich & Kerner (1964) en verskeie ander navorsers, kan diasetiel, wat as gevolg van die bederf van bederfbare produkte ontstaan, organolepties waargeneem word. Diasetiel is een van die hoofkomponente wat aan botter sy karakteristieke geur verleen. Dit is vlugtig en kan in lae konsentrasies waargeneem word. Hierdie geur is by wyn baie ongewens en verleen 'n wansmaak indien relatief hoë konsentrasies aanwesig is.

Guymon & Crowell (1965) het aangetoon dat buitengewone hoë konsentrasies diasetiel en asetofien verkry word met fermentasies wat baie lug gekry het. Hulle wys verder daarop dat die teenwoordigheid van veral diasetiel van belang is as gevolg van die smaak en geur wat dit veroorsaak.

Volgens Dittrich & Kerner (1964) ontstaan hierdie bottergeur of galsterigheid by 'n sterk ontwikkeling van melksuurbakterieë, veral onder aerobiese toestande. Melksuur, gevorm uit appelsuur, kan egter nie verantwoordelik gehou word vir hierdie smaakfout nie.

Guymon & Crowell (1965) toon ook aan dat asetofien 'n baie beraamde produk is by die suikergisting van melksuurbakterieë. Ander belangrike stofwisselingsprodukte is diasetiel en 2,3 butaan-diol waarvan asetofien die voorloper is. Hulle toon die verband tussen hierdie verbindingssstrukture as volg aan:-



Asetofien en 2,3 butaandiol in die wyn is, wat die smaak en reuk daarvan betref, feitlik onbeduidend.

Volgens Kielkofer en Würdig (1960) is die diasetielgehalte van die wyn nie afhanklik van die gesondheidstoestand van die druiwe nie. In hierdie verband het Katô & Nishikawa (1960) gevind dat waar giste gedurende die gistingsproses saamgroei met diasetielproduserende bakterieë in gistende wort, 'n gedeelte van die diasetiel in die medium agterbly, alhoewel die giste die diasetielinhoud tot 'n aansienlike mate verminder.

Resultate het verder aangetoon dat reeds gedurende die reduksie van diasetiel die, daaruit gevormde, asetofien ook gereduseer word na 2,3 butaandiol. Dehidrering van die betrokke verbinding vind dus gelyktydig plaas. Dit is dus duidelik dat gedurende gisting, diasetiel na asetofien gereduseer word en dat die hoë produksie van asetofien verlore gaan deur reduksie na 2,3 butaandiol.

Dat hierdie reduksie van diasetiel en asetofien gedurende die gisting van erg besmette druwe ook sal plaasvind, kan dus geredelik aanvaar word. Prakties beteken dit dat mos, met 'n hoë diasetiel- en asetofiengehalte, nie noodwendig 'n wyn met 'n hoë diasetielgehalte sal lewer nie. Met oorspronklike abnormaal hoë gehaltes sal egter heelwaarskynlik 'n wyn met 'n smaakfout verkry word. Dit is egter duidelik dat wyne met so 'n smaakfout deur middel van 'n tweede gisting feitlik herstel kan word.

Aangesien asynsuur nie deur gisting verwijder kan word nie (Dittrich & Kerner, 1964), kan wyne met hierdie geur- en smaakfout nie herstel word nie. Die hoë asynsuurgehalte bly staan.

Dit is dus duidelik dat 'n vertolking van die diasetielgehalte by druwe versigtig benader moet word. Diasetiel as sodanig verdwyn gedurende gisting tot so 'n mate dat sy bydrae tot 'n wansmaak as feitlik onbeduidend geag kan word.

Waar hoë diasetielgehaltes gepaard gaan met lae organoleptiese beoordelingspunte moet dit veel eerder toegeskryf word aan die voorkoms van sekere ongewenste mikro-organismes op die druwe en die nadelige invloed wat dit het op die kwaliteit van die wyn wat daarvan verkry word.

Volgens die histogram in Figuur 5 is dit duidelik dat by monsters

21 en 22, die voorkoms van hierdie nadelige mikro-organismes verantwoordelik gehou moet word vir die swak organoleptiese beoordeling.

Monsters 1 en 5 met relatief hoë diasetielgehaltes, het albei beoordelingspunte bo die gemiddelde. Ten opsigte van die mate van bederf, lewer sekere ongewenste verrottungsorganismes 'n groot bydrae tot die diasetielgehalte. Volgens hierdie monsters (1 en 5) egter, kan die moontlike bydrae deur gewenste organismes nie buite rekening gelaat word nie. Waar hoë diasetielgehaltes egter gepaard gaan met hoë vlugtige suurgehaltes, lei dit geen twyfel nie dat 'n daadwerklike verlaging van wynkwaliteit verkry word.

By die 1965-proefmonsters (Tabel 4), toon monsters 5 en 6, met diasetielgehaltes van 40.75 en 26.92 mg/l onderskeidelik, duidelik dat sekere ongewenste mikro-organismes 'n daadwerklike verlaging van die kwaliteit van die wyn tot gevolg het. By monsters 8 en 9 is die organoleptiese beoordelingspunte bo die gemiddelde toegeken. Dus weer 'n geval waar gewenste organismes ook 'n moontlike bydrae kan lewer tot die diasetielgehalte van die druwe.

#### 4.6. Totale stikstof en vry stikstof.

Volgens Tabel 10, word 'n beduidende korrelasie van  $r = 0.8125$  (beduidend by 1%) verkry tussen die totale en vry stikstofgehalte van die mos.

Aangesien die aard van hierdie twee stikstoffraksies, met hierdie ondersoek, nie in detail ontleed is nie, kan geen chemiese verklaring vir hierdie korrelasie gegee word nie. Die feit dat die totale stikstofgehalte in elke geval die vry stikstofgehalte insluit, mag 'n bydrae lewer tot beduidendheid van hierdie korrelasie.

#### 4.7. $H_2S$ in die gistingsgas en totale stikstof.

Met betrekking tot  $H_2S$ , is die bevredigendste korrelasie tussen  $H_2S$  en die totale stikstofinhoud van die mos verkry, naamlik  $r = 0.4546$ , beduidend by 10% (Tabel 10).

Volgens die histogram van die 1964-proefmonsters (Figuur 5) is dit duidelik dat lae stikstofgehaltes 'n neiging tot hoë  $H_2S$ -vorming toon terwyl by hoë stikstofgehaltes daar 'n duidelike afname is in die mate van  $H_2S$ -vorming gedurende gisting.  $H_2S$  is dus omgekeerd gekorreleerd met die totale stikstofgehalte van die mos.

By monsters 1,2,3,4,5,6,8,9,11,18 en 22 is die  $H_2S$ -gehaltes almal hoëer as die gemiddelde waarde ( $1311 \mu\text{gm/l}$ ) en wissel die totale stikstofgehaltes van hierdie monsters tussen  $0.13 \text{ gm/l}$  (monster 3) en  $0.52 \text{ gm/l}$  (monster 8). Die res van die monsters toon  $H_2S$ -gehaltes onder die gemiddelde waarde terwyl die totale stikstofgehaltes in hierdie gevalle tussen  $0.31 \text{ gm/l}$  (monster 21) en  $0.73 \text{ gm/l}$  (monster 12) wissel.

Deur die afsonderlike monsters van nader te beskou, is dit opvallend dat monster 12, met die hoogste totale stikstofgehalte (0.73 gm/l) die laagste  $H_2S$ -gehalte (871  $\mu\text{gm/l}$ ) tot gevolg gehad het. 'n Lae  $H_2S$ -waarde (899  $\mu\text{gm/l}$ ) is ook by monster 14, met 'n totale stikstofgehalte van 0.65 gm/l, verkry.

Namate die totale stikstofgehaltes afneem na die gemiddelde waarde (0.43 gm/l), neem die  $H_2S$ -gehaltes in die meeste gevalle toe, alhoewel die verband in hierdie gevalle nie so uitgesproke is nie. So byvoorbeeld bevat monsters 6,8 en 9 totale stikstofgehaltes net bo die gemiddelde naamlik 0.44, 0.52 en 0.45, maar gee egter aanleiding tot bo-gemiddelde  $H_2S$ -waardes, veral in die gevalle van monsters 8 (1576  $\mu\text{gm/l}$ ) en 9 (1624  $\mu\text{gm/l}$ ).

Dit is verder duidelik dat waar die totale stikstofgehaltes van sekere monsters feitlik in dieselfde gebied lê, dit nie noodwendig aanleiding gee tot dieselfde mate van  $H_2S$ -vorming nie. So byvoorbeeld lê die totale stikstofgehaltes van monsters 4,6,9,16,18 en 20 almal tussen 0.41 en 0.45 gm/l terwyl die  $H_2S$ -gehalte van 901 tot 1520  $\mu\text{gm/l}$  wissel.

Hoër totale stikstofgehaltes gee ook soms aanleiding tot hoër  $H_2S$ -gehaltes as wat by laer totale stikstofgehaltes die geval is. So byvoorbeeld, neem die totale stikstofgehaltes van monsters 3,2 en 11 onderskeidelik toe met 0.13, 0.25 en 0.31, terwyl die  $H_2S$ -gehaltes

teen verwagting ook toeneem met 1717, 1762 en 1933  $\mu\text{gm/l}$ .

Dit is dus duidelik dat die mate van  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming gedurende gisting deur, behalwe die totale stikstofgehalte, ook ander faktore beïnvloed word. Ander moontlike faktore wat dit kan beïnvloed, is die mate van elementêre swawel besmetting en die samestelling van die mos ten opsigte van organiese stikstofverbindingen.

Volgens die 1965-proefmonsters (Figuur 6), is dit weereens duidelik dat hierdie verband weer baie prominent tevoorskyn tree. As gevolg van die oorwegende rol van stikstof, is die monsters 7, 8 en 9 van Elsenburg ingesluit, vanweë die hoë stikstofgehaltes wat hulle toon.

Monster 8, met die hoogste totale stikstofgehalte naamlik 0.68 gm/l het weer soos in die geval van monster 12 van die 1964-proefmonsters, die laagste hoeveelheid  $\text{H}_2\text{S}$  gevorm naamlik 74  $\mu\text{gm/l}$ . Saam met 7 en 9 (0.66 en 0.64 gm/l totale stikstof onderskeidelik) het hierdie drie monsters die laagste  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming (192 en 260  $\mu\text{gm/l}$  onderskeidelik) tot gevolg gehad.

Monsters 1 en 2 het die meeste  $\text{H}_2\text{S}$  gevorm naamlik 1766 en 1462  $\mu\text{gm/l}$  onderskeidelik, alhoewel hulle nie die laagste totale stikstofgehaltes getoon het nie. Monsters met die laagste totale stikstofgehaltes naamlik 4 (0.20 gm/l) en 5 (0.24 gm/l) het onderskeidelik 882

en 752  $\mu\text{gm/l}$   $\text{H}_2\text{S}$  gevorm.

Met herhaling van die proef is die bevindings van die 1964-proefmonsters in hierdie verband dus bevestig. Monsters met relatief hoë totale stikstofgehaltes gaan gepaard met lae  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming gedurende gisting. Waar gemiddelde stikstofgehaltes aanwesig is, is die verband tussen  $\text{H}_2\text{S}$  en stikstof nie so ooglopend nie. By lae waardes egter, toon die meeste monsters 'n sterk neiging tot hoog  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming en tree die verband duidelik tevoorskyn.

Skeikundig skyn daar geen direkte verband tussen  $\text{H}_2\text{S}$  en die totale stikstofgehalte te wees nie. Rankine (1963) kon byvoorbeeld met verhoging van die metionien konsentrasie in gistende mos, nie 'n verhoging in  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming teweegbring nie. Dit sou in elk geval beteken dat die totale stikstofgehalte ook verhoog word, wat die resultate van hierdie ondersoek sou weerlê.

Die verklaring in hierdie verband moet veel eerder gesoek word by die metabolisme van giste en die hoeveelheid toeganklike stikstof wat vir assimilasie beskikbaar is. Volgens Thorne & Barton-Wright (1949) het resultate by die gisting van wort aangetoon dat meer as 70% van die totale stikstof wat deur giste geassimileer word, voorsien word deur aminosure. Die resultate van hierdie ondersoek het aangetoon dat die aminosuurgehalte van die mos, direk eweredig is aan die totale stikstofgehalte. Die korrelasie tussen  $\text{H}_2\text{S}$  en totale

stikstof staan dus heel waarskynlik in verband met die aminosuurgehalte, en nie soseer die totale stikstofgehalte van die mos nie.

Wat die toeganklikheid van aminosure ten opsigte van assimilasie deur giste betref, het Thorne (1941) aangetoon dat, van die 18 aminosure wat hy ondersoek het, aspartiensuur en glutamiensuur baie toeganklik is en dus by voorkeur geassimileer sal word. Die toeganklikheid van die ander aminosure wissel oor 'n wye gebied. Glisien, lisien en sistefien word selde geassimileer. Die toeganklikheid van metionien is ook redelik laag. Meer toeganklik as laasgenoemde is leusien, arginien, prolien, alanien, valien en isoleusien.

Dit kan dus aanvaar word dat waar aminosure in toereikende hoeveelhede voorkom, die swawelbevattende aminosure metionien en sistefien, feitlik onaangeraak sal bly. Waar die maklik assimileerbare aminosure egter in ontoereikende hoeveelhede voorkom, mag die gis genoodsaak wees om die minder verkieslike aminosure te assimileer. Onder hierdie toestande kan die assimilasie van swawelbevattende aminosure plaasvind en  $H_2S$  as newelproduk gevorm word. Die deamining van sistefien deur die ensiem sistefendesulfurase is reeds aangetoon.

Volgens Thorne (1941) is dit nie heeltemal duidelik waarom so 'n groot variasie ten opsigte van die toeganklikheid van die verskillende aminosure verkry word nie.

Almal vervul dieselfde funksie naamlik om na deaminering,  $\text{NH}_3$  aan die giste te voorsien. Daar is egter twee moontlike verklarings naamlik (a) dat die residu wat hulle na deaminering nalaat, 'n toksiese uitwerking teenoor giste toon en (b) dat die aminosure verskil ten opsigte van die gemak waarmee hulle gedeamineer word.

Uit Tabelle 5 en 6 is dit duidelik dat in die natuurlike mos-substraat, die meer toeganklike aminosure prolien, alanien, arginien, glutamiensuur, aspartiensuur en leusien algemeen voorkom. Veral prolien, alanien en arginien kom oorwegend voor. By moste met lae stikstofgehaltes mag hierdie toeganklike aminosure egter in ontbrekende hoeveelhede voorkom. Onder hierdie omstandighede kry ons dan 'n hoë mate van  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming as gevolg van die assimilasie van die minder toeganklike swawelbevattende aminosure.

#### 4.8. $\text{H}_2\text{S}$ in die gistingsgas en vlugtige suur.

Met die statistiese verwerking van die resultate, is 'n verdere korrelasie tussen  $\text{H}_2\text{S}$  en die vlugtige suurgehalte van die mos verkry naamlik  $r = 0.4480$ , beduidend by 10% (Tabel 10).

Volgens die 1964-proefmonsters (Tabel 3) is dit duidelik dat die hoë vlugtige suurgehalte van moste dikwels gepaard gaan met 'n hoë mate van  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming. Monsters 1, 2, 5, 8 en 22, met vlugtige suurgehaltes almal bo die gemiddelde ( $0.148 \text{ gm/l } \text{CH}_3\text{COOH}$ ), toon almal  $\text{H}_2\text{S}$ -gehaltes bo die gemiddelde waarde van  $1311 \text{ } \mu\text{gm/l}$ . Monsters 7,

10,12,13,14,15,16,17 19 en 20 daarenteen toon, met vlugtige suurgehaltes onder die gemiddelde, ook  $H_2S$ -gehaltes onder die gemiddelde waarde. Dit is dus duidelik dat daar 'n direkte korrelasie bestaan tussen  $H_2S$  en vlugtige suur.

By die monsters 3,4,6,9,11 en 18 egter, het relatief lae vlugtige suurgehaltes gepaard gegaan met hoë  $H_2S$ -vorming terwyl by monster 21, 'n relatief hoë vlugtige suurgehalte (0.548 gm/l) gepaard gaan met 'n lae  $H_2S$ -gehalte. Dit is dus duidelik dat by hierdie monsters ook ander faktore betrokke is wat die korrelasie beïnvloed.

Hierdie korrelasie kon dus met herhaling van die proef nie aangedui word nie. By die 1965-proefmonsters (Figuur 6) is dit duidelik dat hierdie korrelasie baie maklik deur ander faktore beïnvloed word.

In hierdie verband het Rankine(1963) aangetoon dat  $H_2S$ -vorming toeneem met verlaging van die pH van die mos. Volgens hom gaan dit gepaard met die behoefte aan vry  $H^+$ ione gedurende die reduksie van  $SO_2$  en ander swawelverbindings na  $H_2S$ . Hy voer dit ook aan as rede waarom druiwe met lae suurgehaltes (dus hoë pH-waardes) in besproei-de gebiede, selde  $H_2S$ -vorming tot gevolg het.

Volgens Nelson & Ough (1966) gee die besmetting van druiwe deur asynsuurbakterieë (Acetobacter roseus) aanleiding tot 'n daadwerklike

verlaging van die pH van mos. Hierdie pH-verlaging is veral opvallend waar B. cinerea en A. niger ook aanwesig is. Die verlaging van pH kan dus moontlik 'n bydrae lewer tot die korrelasie wat hier tussen  $H_2S$  en vlugtige suur verkry is. Daar moet egter op gelet word dat geen beduidende korrelasie tussen die totale suurgehalte van die mos en  $H_2S$  verkry is nie. pH-verlaging kan dus nie alleen verantwoordelik gehou word vir hierdie korrelasie nie.

#### 4.9. $H_2S$ in die gistingsgas en diasetiel.

Geen beduidende korrelasie is tussen  $H_2S$  en die diasetielgehalte van die mos verkry nie. Na aanleiding van die vorige bespreking moet egter ook in aanmerking geneem word dat diasetiel met 'n beduidende korrelasie van 1% ( $r = 0.8821$ ) met vlugtige suur gekorreleerd is. Beide diasetiel en vlugtige suur gee 'n aanduiding van mikro-biese aktiwiteit op druiwe. Dit is dus te wagte dat die voorkoms van hierdie verrottungsorganismes op druiwe, die samestelling van die voedingsmedium (mos) tot 'n sekere mate kan verander.

Die werk van verskeie navorsers het aangetoon dat vitamiene en aminosure essensieel is vir die groei van verskeie mikro-organismes op druiwe. Snell, Strong & Peterson (1939) het byvoorbeeld aangetoon dat die vitamien, pantotenaat, essensieel is vir die groei van twee rasse van die genus Lactobacillus. In hierdie verband het Steward, Hinz & Brenner (1962) aangetoon dat wanneer giste gekweek word in 'n medium met 'n tekort aan hierdie vitamien, groot hoeveelhede  $H_2S$  gevorm word.

Ten opsigte van die aminosuurbehoeftes van die wyn-melksuurbakterieë, het du Plessis (1961) gevind dat aminosure, essensieel is vir die metabolisme van hierdie bakterieë, wat gewissel het van 5 (Lactobacillus hilgardii) tot 17 (Pediococcus cerevisiae). Glutamiensuur, valien, arginien, leusien en iso-leusien was vir al die rasse wat hy ondersoek het, noodsaaklik.

Janke & Janke (1963) kon ook 'n aantal essensiële aminosure aantoon gedurende die metabolisme van verskeie Acetobacter soorte. Dit het geblyk dat asynsuurbakterieë verskil ten opsigte van hul aminosuur behoeftes, maar dat dit 'n noodsaaklike boustof gedurende hul metabolisme is.

Volgens die resultate van Hofmann (1964) het Rhizopus en verskeie rasse van Botrytis 'n afname van tot 82% in die amino-stikstofgehalte van moste veroorsaak.

Dit is dus duidelik dat die voorkoms van hierdie organismes 'n daadwerklike verandering kan teweegbring in die samestelling van die druwe. Waar essensiële aminosure onder hierdie omstandighede in ontoereikende hoeveelhede voorkom, mag dit aanleiding gee tot H<sub>2</sub>S-vorming.

Dit is dus duidelik dat al hierdie korrelasies met H<sub>2</sub>S teruggevoer moet word na stikstof, wat op sy beurt die oorwegende funksies

vervul gedurende die metabolisme van die giste. Waar sekere van hierdie stikstofffraksies in ontoereikende hoeveelhede voorkom, word die normale verloop van 'n gesonde gisting versteur wat aanleiding kan gee tot die vorming van ongewenste neweprodukte soos  $H_2S$ .

Volgens die histogram in Figuur 6, gaan hoë  $H_2S$ -vorming by monsters 1 en 2 (1766 en 1462  $\mu\text{gm/l}$  onderskeidelik) gepaard met lae diasetiel- en vlugtige suurgehaltes. 'n Moontlike tekort aan essensiële voedingstowwe as oorsaak vir 'n hoë mate van  $H_2S$ -vorming, moet in hierdie geval as inherent by die druiwe beskou word.

By monsters 5 en 6 het besonder hoë diasetiel- en vlugtige suurgehaltes gepaard gegaan met slegs 'n gemiddelde mate van  $H_2S$ -vorming. Teen verwagting is hier dus minder  $H_2S$  gevorm en moes die totale stikstofgehalte van die mos, ten spyte van hoë mikrobeaktiwiteit, toereikend wees ten opsigte van essensiële voedingstowwe. 'n Moontlike verlaging van die pH het skynbaar hier ook nie 'n belangrike invloed nie.

In die geval van monsters 7,8 en 9 is dit duidelik dat die hoë stikstofgehaltes wat hier voorkom, vir beide mikrobeaktiwiteit op druiwe en gisting, toereikend is.

#### 4.10. $H_2S$ in die gistingsgas en organoleptiese beoordeling.

Volgens Tabel 10 word 'n korrelasie van  $r = 0.4401$  (beduidend by 10%) verkry tussen die organoleptiese beoordeling van die wyn en die

mate van  $H_2S$ -vorming gedurende gisting. Uit die histogram van die 1964-proefmonsters (Figuur 5), is dit duidelik dat monsters 7, 10, 12, 13, 14 en 17, met organoleptiese beoordelings bo die gemiddelde (59.8 punte),  $H_2S$ -vorming onder die gemiddelde van 1311  $\mu\text{gm}/\text{l}$  getoon het. Monsters 4, 6, 9, 11, 18 en 22 daarenteen, met  $H_2S$ -gehaltes bo die gemiddelde, toon beoordelingspunte onder die gemiddelde waarde.

By die 1965-proefmonsters het monsters 1, 2, 4 en 6  $H_2S$ -waardes bo die gemiddelde (745.5  $\mu\text{gm}/\text{l}$ ) met ooreenstemmende beoordelingspunte onder die gemiddelde waarde van 59.1 punte. Met herhaling van die proef is die direkte verband tussen  $H_2S$  en organoleptiese beoordeling dus weer verkry.

Die voorkoms van  $H_2S$  en ander ongewenste swawelverbindings en die skadelike invloed wat hulle op die smaak en geur van wyn uitoefen, is lank reeds bekend. So onderskei Widmer (1936) tussen  $H_2S$  as die "böckser" van wyn en vlugtige organiese swawelverbindings as die gis- "böckser".

Volgens Rankine (1963) herinner hierdie wangeur, wanneer dit in jong wyne waargeneem word, sterk aan  $H_2S$ . Mettertyd verander dit egter na 'n karakter wat as gisagtig, rubberagtig, stagnant of vuil beskrywe word. Hierdie karakter moet toegeskryf word aan die ontstaan van merkaptane, sulfiedes, disulfiedes en ander verwante verbindings

van swawel.

Van groot belang in hierdie verband is dat die neus teenoor hierdie vlugtige swawelverbindings, uiters sensitief is. Volgens Rankine (1963) het Crocker gevind dat so min as  $10^{-7}$  d.p.m. van verskeie merkaptane en Smith et al (1961), 0.02 d.p.m.  $H_2S$ , in die lug waargeneem kan word.

Die waarnemingspeil van hierdie verbindings in wyn, is egter baie laer. Deur die byvoeging van bekende konsentrasies  $H_2S$  tot verskillende wyne, het Rankine (1963) die waarnemingspeil op tussen 100 en 1000  $\mu\text{gm/l}$  vasgestel. Met organoleptiese toetse op bier het Brenner et al (1953) aangetoon dat bygevoegde  $H_2S$  in 'n konsentrasie van 0.005 d.p.m. 'n verandering in die geur veroorsaak. Beoordeling by bier het nie berus op die karakteristieke waarneming van  $H_2S$  as sodanig nie. Dit het geblyk dat by die meeste proeërs, hierdie konsentrasie slegs gedien het om die normale aroma van bier te verander. Op 'n peil van 5 tot 20  $\mu\text{gm/l}$  het die kommentaar van gisagtig of swawelagtig egter dikwels voorgekom. 'n Duidelike  $H_2S$ -reuk is alleen met 100  $\mu\text{gm/l}$  en meer verkry.

In gistingstoetse was die hoeveelheid  $H_2S$  wat gedurende gisting in die gistingsgas bepaal is, direk eweredig met die peil van  $H_2S$  wat in die wyn waargeneem (Rankine 1963). Dit kan dus aanvaar word dat met hierdie ondersoek die konsentrasie tussen  $H_2S$  in die gistingsgas en organoleptiese beoordeling, ook by  $H_2S$  in die wyn van toepassing is.

Deur die afsonderlike monsters in figuur 5 van nader te beskou is dit opvallend dat monster 12, wat die laagste H<sub>2</sub>S-gehalte naamlik 871 µgm/l, die hoogste organoleptiese beoordeling verkry naamlik 69.2 punte. Met herhaling van die ondersoek, is dieselfde resultate by monster 8 verkry (Figuur 6).

By die organoleptiese beoordeling van hierdie wyne moet egter in gedagte gehou word dat puntetoekenning verteenwoordigend is ten opsigte van al die komponente wat kwaliteit kan beïnvloed. Die korrelasie met H<sub>2</sub>S as sodanig is dus veelseggend. Behalwe met H<sub>2</sub>S, is die organoleptiese beoordeling slegs in een ander geval beduidend gekorreleerd naamlik met die totale suurgehalte van die mos. Dit dui dus op 'n belangrike faktor by die beoordeling van wyne.

Dit is egter duidelik dat hierdie verband nie by al die monsters so uitgesproke is nie. By monsters 1,2,3,5 en 8 (Figuur 5) gaan relatief hoë H<sub>2</sub>S-waardes gepaard met gemiddelde organoleptiese beoordelings. Veral by monsters 2,3 en 8 met H<sub>2</sub>S-gehaltes van 1762,1717 en 1576 sou laer beoordelings verwag word. By monsters 15,16,19,20 en 21 is dit duidelik dat die lae H<sub>2</sub>S-gehaltes nie verantwoordelik gehou kan word vir die lae kwaliteit nie.

By die 1965-proefmonsters (Tabel 4) moet H<sub>2</sub>S hoofsaaklik verantwoordelik gehou word vir die lae organoleptiese beoordeling van monsters 1,2 en 4.

Met  $H_2S$ -gehaltes van 1766, 1462 en 882  $\mu\text{gm/l}$ , is organoleptiese beoordeelings van slegs 58.0, 57.6 en 56.8 onderskeidelik verkry. By monsters 5 en 6, waar die laagste beoordeelings toegeken is (54.0 en 54.4 onderskeidelik), is dit egter duidelik dat die bydrae van  $H_2S$  tot verlaging van die kwaliteit nie oorwegend is nie. In die geval van monsters 7, 8 en 9, is die  $H_2S$ -gehaltes onbeduidend laag en is ooreenstemmende hoë organoleptiese beoordeelings aan hierdie wyne toegeken.

In verband met die voorkoms van die  $H_2S$ -reuk by jong wyne wys Rankine (1963) daarop dat, waar dit nie in te hoë konsentrasies voorkom nie, dit tot 'n groot mate verwyder kan word. Die wyn word sterk luggegee en in 'n sterk geswawelde houer gepomp. Onder hierdie omstandighede tree  $SO_2$  oksiderend op en  $H_2S$  in die wyn word na swawel geoksideer:-



Waar merkaptaanvorming egter reeds ingetree het, sal hierdie baie ongewenste reuk egter moeilik deur gewone kelderbehandelings verwyder word.

#### 4.11. Totale suur en organoleptiese beoordeling.

Ten slotte is ook 'n beduidende korrelasie van 10% ( $r = 0.4763$ ) verkry tussen die totale suurgehalte van die mos en die organoleptiese beoordeling van die wyn (Tabel 10).

(85)

Volgens Amerine & Cruess (1960) het 'n hoë vaste suurgehalte (wat die grootste gedeelte van die totale suurgehalte uitmaak) 'n belangrike invloed op die smaak van wyne. Dit verleen 'n frisheid aan die wyn, wat veral by die delikate droëwyne so gesog is. Dit verseker 'n lae pH gedurende gisting en skep dus ongunstige toestande vir die ontwikkeling van ongewenste mikro-organismes. Sodoende word 'n gesonde gisting verkry.

Dit is dus duidelik dat 'n hoë vaste suurgehalte, veral in ons warm klimaat, 'n belangrike invloed uitoefen op die kwaliteit van wyne.

Volgens die histogram van die 1964-proefmonsters (Figuur 5) is dit duidelik dat hoë totale suurgehaltes gepaard gaan met hoër organoleptiese beoordelings, met een voorbehoud naamlik dat die vlugtige suurgehaltes nie buitengewoon hoog is nie.

By monsters 2,3,7,10,12,13,14 en 17, veral 7 en 13 is die bydrae van totale suur, ten opsigte van wynkwaliteit, baie duidelik. By monster 1, met 'n gemiddelde totale suurgehalte, kry ons reeds 'n laer organoleptiese beoordeling. Dit is moontlik as gevolg van 'n hoër vlugtige suurgehalte. By monsters 21 en 22 is dit duidelik dat ten spyte van hoë totale suurgehaltes, die hoë vlugtige suurgehaltes 'n daadwerklike bydrae lewer tot die swak kwaliteit van die wyn.

(86)

By die 1965-proefmonsters (Figuur 6) is dit duidelik dat die totale suurgehalte, feitlik net in die geval van monster 3, 'n moontlike bydrae tot kwaliteit lewer. By monsters 5 en 6 word die voordeleige invloed van die totale suurgehalte heeltemal vertroebel deur hoë vlugtige suurgehaltes en is die laagste organoleptiese beoordelingspunte aan hierdie monsters toegeken.

Monsters 7,8 en 9 het die hoogste toekennings ten opsigte van organoleptiese beoordeling gekry. Die bydrae van totale suur is hier egter nie oorwegend nie.

Dit is verder interessant om daarop te let dat relatief hoë vlugtige suurgehaltes nie altyd 'n daadwerklike verlaging van die organoleptiese kwaliteit van die wyn tot gevolg het nie. In Figuur 5 is dit duidelik dat by monsters 1,2,5 en 8, vlugtige suurgehaltes bo die gemiddelde waarde van 0.148 gepaard gaan met organoleptiese beoordelings bo die gemiddelde waarde van 598. In Figuur 6 word dieselfde verskynsel gekry by monsters 8 en 9.

---

(87)

## HOOFSTUK 5.

### GEVOLGTREKKINGS.

Volgens die resultate van hierdie ondersoek, kan die volgende gevolgtrekkings gemaak word:-

1. Die suiker/suur verhouding van die druwe wat gebruik is, kon in hierdie ondersoek nie in verband gebring word met die organoleptiese kwaliteit van wyne nie. 'n Toename in die totale suurgehalte van die mos gee aanleiding tot verbetering van wynkwaliteit en is direk met mekaar gekorreleerd. Waar totale suurgehaltes egter gepaard gaan met hoë vlugtige suurgehaltes, word die voordeelige eienskappe van totale suur egter benadeel.

2. Die vry stikstofgehalte van mos is direk gekorreleerd met die totale stikstofgehalte. Die vry aminosuurgehalte van die mos staan in direkte verhouding met die totale stikstofgehalte en bedra meer as 50% van die totale stikstof. Prolien, alanien en glutamiensuur kom oorwegend voor in Steenmoste.

3. Proteïentroebeling van mos en wyn is skynbaar nie afhanklik van die stikstofgehalte van die mos nie.

4. Die mate van  $H_2S$ -vorming gedurende gisting is omgekeerd eweredig aan die stikstofgehalte van die mos. Die verklaring vir hierdie korrelasie lê heelwaarskynlik opgesluit in die metabolisme verbruik van aminosure deur giste.

5.  $H_2S$ -vorming gedurende gisting is direk gekorreleerd met die organoleptiese kwaliteit van die wyn en lewer die grootste enkele bydrae tot verlaging van wynkwaliteit.

6. Direkte korrelasie is verkry tussen die mate van  $H_2S$ -vorming gedurende gisting en die vlugtige suurgehalte van die mos. Hierdie korrelasie kon egter nie met herhaling van die proef weer aangetoon word nie.

7. Die diasetielgehalte van mos dien as 'n maatstaf van sekere mikrobeaktiwiteit op druwe. Dit kan egter nie sonder meer as 'n aanduiding van verwagte wynkwaliteit aanvaar word nie. Dit is egter direk gekorreleerd met die vlugtige suurgehalte en waar relatief hoë diasetielgehaltes gepaard gaan met hoë vlugtige suurgehaltes, word daadwerklike verlaging van wynkwaliteit verkry.

(89)

Met vertolking van die diasetielgehalte van druwe moet die aard en stadium van besmetting ook in aanmerking geneem word.

Indien al hierdie gevolgtrekkings saamgevat word, is dit duidelik dat die stikstofgehalte van mos, die kern vorm waarom die verskillende faktore wat wynkwaliteit beïnvloed, draai.

Volgens die literatuur is ons huidige kennis in verband met die aard en samestelling van die verskillende stikstofverbindings in mos nog beperk en bestaan daar dus 'n groot behoefte aan verdere navorsing in hierdie rigting.

---

LITERATUURVERWYSINGS.

- AMERINE, M.A. (1955). Laboratory procedures for enology, Davis, California: Univ. of Calif. Press (Mimeo).
- AMERINE, M.A. & CRUESS, W.V. (1960). The technology of wine making. West port, Comm.: Avi Publishing Co.
- AMERINE, M.A. & JOSLYN, M.A. (1951). Table wines. The technology of their production in California.
- AMERINE, M.A. & THOUKIS, G. (1958). Vitis 1, 224.
- AMERINE, M.A. & WINKLER, A.J. (1941). Amer. Soc. Hort. Sci. Proc., 38, 379.
- ANDERSON, D.R. (1957). Am. J. Enol. & Vit., 8, 31.
- OWADES, J.L., MARESCA, L. & RUBIN, G. (1960). Wallerstein Lab. Com-  
muns., 80, 58.
- BERG, H.W. (1958). Am. J. Enol. & Vit., 9, 202.
- BERSIN, T. (1950). Advances in Enzymology, 10, 228.
- BINKLEY, F. (1943). J. biol. Chem., 150, 261.
- BRENNER, M.W., OWADES, J.L. & FAZIO, T. (1955). Proc. Amer. Soc. Brew., 125.
- BRENNER, M.W., OWADES, J.L. & GOLYZNIAK, R. (1953). Proc. Amer. Soc. Brew. Chem., 83.
- BRENNER, M.W., OWADES, J.L. & GOLYZNIAK, R. (1954). Proc. Amer. Soc. Brew. Chem., 81.
- BUYS, G.S. (1964). Some biochemical changes during the fermentation of lupine silages. Thesis. Univ. of Stellenbosch.

(91)

- CASTOR, J.G.B. (1953). Food Research, 18, 139.
- CASTOR, J.G.B. (1953). Food Research, 18, 146.
- CASTOR, J.G.B. & ARCHER, T.E. (1956). Am. J. Enol., 7, 19.
- CHRISTENSEN, M.D. & PEDERSON, C.S. (1958). Appl. Microbiol., 6, 319.
- DITTRICH, H.H. & KERNER, E. (1964). Wein-Wiss., 19, 528.
- DRAWERT, F. (1963). Vitis 4, 49.
- DREWS, B., SPECHT, H. & WEISENACK, R. (1957). Branntweinwirtschaft, 79, 105.
- DREZE, A., MOORE, S. & BIGWOOD, E.J. (1954). Anal. Chim. Acta., 11, 554.
- DU PLESSIS, L de W. (1961). The taxonomy and physiology of the lactic acid bacteria in South African wines. Univ. of Stellenbosch.
- FIELDS, M.L. (1962). Appl. Microbiol., 10, 513.
- FOGO, J.K. & POPOWSKY, M. (1949). Anal. Chem., 21, 732.
- GOULDEN, C.H. (1952). Methods of statistical analysis. 2nd Edition. Wiley.
- GUYMON, J.F. & CROWELL, E.A. (1965). Am. J. Enol. & Vit., 16, 85.
- HAEHN, H. (1952). Biochemie der Garungen. Berlin: Walter de Gruyter.
- HAYS, G.L. & RIESTER, D.W. (1952). Food Technology, 6, 386.
- HENNIG, K. (1944). Z.f. Lebensmittel-Unters. und-Forschung, 87, 40.
- HENNING, C.B. (1962). Die beoordeling van wyn. (Ongepubliseerde data).
- HILL, E.C. & WENZEL, F.W. (1957). Food Technology, 11, 240.
- HILL, E.C., WENZEL, F.W. & BARRETTO, A. (1954) Food Technology, 8, 168.
- HILZ, H. & KITTLER, M. (1958). Biochem. biophys., Acta, 30, 650.
- HOFMANN, G. (1964). Biochemiese veranderinge in druiwemos veroorsaak

deur Botrytis cinerea en Rhizopus nigricans. Tesis. Univ.  
van Stellenbosch.

- JANKE, A. & JANKE, R. (1963). Weinberg und Keller, 10, 489.
- KAJI, A. & Mc ELROY, W.D. (1959). J. Bact., 77, 630.
- KATÔ, S. & NISHIKAWA, N. (1960). Bull., Brew. Sci., Tokyo, 6, 12.  
(Abstr. J. Inst. Brew., 68, 288).
- KIELHOFER, E. & WÜRDIG, G. (1960). Wein-Wiss., 15, 135.
- KLEBER, W. & LAMPL, P. (1958). Brauwissenschaft, 11, 54. (Chem. Abstr.,  
1958, 52, 9512).
- KOCH, J. & SAJAK, E. (1963). Weinberg und Keller, 10, 35.
- LA ROSA, V.W. (1955). Am. J. Enol. & Vit. 6, 42.
- LINSTEAD, R.P., ELVIDGE, J.A. & WHALLEY, M. (1955). Modern techniques  
of organic chemistry. London: Butterworths Scientific  
Publications.
- MOORE, S., SPACKMAN, D.H. & STEIN, W.H. (1958). Anal. Chem., 30, 7,  
1185.
- MOORE, S. & STEIN, W.H. (1954). J. biol. Chem., 211, 893.
- MURDOCK, D.L., TROY, V.S. & TOLINAZZO, J.F. (1952). Food Technology,  
6, 127.
- NEISH, A.C. (1952). Analytical methods for bacterial fermentations.  
2 nd. rev. National Res. Council of Canada, NRC. No. 2952.
- NELSON, K.E. & OUGH, C.S. (1966). Am. J. Enol. & Vit., 17, 38.
- NEUBERG, C. & REINFURTH, E. (1923). Biochem. Z., 143, 553.
- NIEHAUS, CHAS. J.G. (1938). Studies on the Nitrogen Content of South  
African Musts and Wines. Science Bulletin 172.

- PEPKOWITZ, L.P. & SHIRLEY, E.L. (1951). Anal. Chem., 23, 1709.
- RADLER, F. (1962). Vitis, 3, 136.
- RANKINE, B.C. (1963). J. Sci. Fd. Agric., 2, 79.
- RIBEREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E. & LAFON, M. (1953). Am. J. Enol. & Vit., 7, 53.
- RICKETTS, J. & COUTTS, M.W. (1951). Amer. Brew., 27, 71 (Chem. Abstr., 1952, 46, 11575).
- SCHANDERL, H. (1959) Handbuch der Kellerwirtschaft, II. Die Mikrobiologie des Mostes und Weines, Stuttgart: Eugen Ulmer.
- SCHULTZ, A.S. & Mc MANUS, D. (1950) Arch. Biochem. and Biophys., 19, 184.
- SMITH, A.F., JENKINS, D.G. & CUNNINGWORTH, D.E. (1961). J. appl. Chem., 11, 317.
- SMYTH, C.V. (1942). J. biol. Chem., 142, 387.
- STANIER, R.Y., DOUDOROFF, M. & ADELBERG, E.A. (1958). General Microbiology. London. Macmillan.
- STEWARD, E.D., HINZ, C. & BRENNER, M.W. (1962). Amer. Soc. Brew. Chem. Proc., 40.
- THORNE, S.R.W. (1941). J. Inst. Brewing, 47, 255.
- THORNE, S.R.W. & BARTON-WRIGHT, E.C. (1949). J. Inst. Brewing, 55, 353.
- THOUKIS G. & STERN, L.A. (1962). Am. J. Enol., 13, 133.
- VAN DER MERWE. (1965) Ongepubliseerde data.
- VOGT, E. (1958). Handbuch der Kellerwirtschaft, III. Weinchemie und Weinanalyse, 2. Auflage, Stuttgart: Eugen Ulmer.

(94)

- VAN WYK, C.J. & VENTER, P.J. (1965). S. Afr. J. Agric. Sci., 8, 57.
- WIDMER, A. (1936). Mitt. Lebensm. Hyg. Bern., 27, 352. (Chem. Abstr. 1937, 31, 5938).
- WEST, D.B., LAUTENBACH, A.L. & BECKER, K. (1952). Proc. Am. Soc. Brew. Chem., 81.
- WINKLER, A.J. (1962). General Viticulture. Univ. of Calif. Press. Berkeley and Los Angeles.
- WINKLER, A.J. & WILLIAMS, W.O. (1939). Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 33, 430.
- WOLFE, M. (1957). Biochem. biophys. Acta., 23, 186.
-

Tabel 1. Oorsprong, datum van insameling en gesondheidstoestand van 1964-proefmonsters.

Monster nommers	Oorsprong van monster	Datum van insameling	Gesondheidstoestand
1	Bonnievale	4/2/64	**
2	Robertson	"	**
3	Bonnievale	"	*
4	Montagu	"	*
5	Bonnievale	"	**
6	Montagu	"	**
7	Wellington	6/2/64	**
8	Wellington	"	**
9	Klein Drakenstein	"	**
10	Paardeberg	"	*
11	Worcester	10/2/64	**
12	Worcester	"	**
13	Wolseley	12/2/64	*
14	Tulbagh	"	*
15	Malmesbury	17/2/64	*
16	Riebeeck Kasteel	"	*
17	Malmesbury	"	**
18	Malmesbury	"	*
19	Elsenburg	20/2/64	**
20	Stellenbosch	"	*
21	Groot Constantia	21/2/64	***
22	Constantia	"	***

\* redelik gesond. \*\* minder of meer besmet. \*\*\* erg besmet.

Tabel 2. Oorsprong, datum van insameling en gesondheidstoestand van 1965-proefmonsters.

Monster nommers	Oorsprong van monster	Datum van insameling	Gesondheids-toestand
1	Nietvoorbij	24/2/65	*
2	"	"	**
3	"	"	***
4	Groot Constantia	28/2/65	*
5	"	"	**
6	"	"	***
7	Elsenburg	25/2/65	*
8	"	"	**
9	"	"	***

\* heeltemal gesond.

\*\* gemiddelde mate van bederf.

\*\*\* erg besmet.

Tabel 3. Gesamentlike ontledings en gemiddelde waardes  
van die 1964-proefmonsters.

Monster nommers	Suiker (°Ballings)	Totale suur (gm/1 W.S.S.)	Vlugtige suur (gm/1 CH <sub>3</sub> -COOH)	Diasetiel (mgm/l)	Vry stikstof (gm/1 N)	Totale stikstof (gm/1 N)	Gewigsgafname in CO <sub>2</sub> (gm CO <sub>2</sub> per 500 ml)	H <sub>2</sub> S in gis- tingsgas (µgm /l)	Organoleptiese beoordeling (totale punte)
1	21.65	7.52	0.234	7.78	0.034	0.33	56.3	1378	61.0
2	23.40	7.89	0.197	4.28	0.015	0.25	50.3	1762	62.0
3	25.80	7.67	0.095	1.89	0.010	0.13	55.5	1717	61.8
4	19.30	7.67	0.084	0.42	0.072	0.41	41.3	1280	56.0
5	20.95	10.20	0.273	6.87	0.022	0.30	44.0	1329	61.2
6	21.32	7.82	0.130	1.65	0.063	0.44	44.6	1361	57.5
7	21.83	9.17	0.122	0.11	0.092	0.54	45.3	1123	67.5
8	25.50	6.78	0.181	3.74	0.058	0.52	55.3	1576	60.8
9	24.75	7.62	0.112	2.16	0.043	0.45	54.0	1624	59.8
10	23.80	7.04	0.091	2.06	0.070	0.64	50.1	1209	61.5
11	27.75	5.79	0.110	3.25	0.025	0.31	57.1	1933	55.8
12	25.92	7.70	0.106	3.28	0.083	0.73	55.7	871	69.2
13	20.95	9.17	0.091	2.69	0.048	0.39	43.7	1153	61.2
14	22.00	5.14	0.073	1.64	0.065	0.65	47.2	899	63.2
15	22.85	7.41	0.079	1.49	0.064	0.50	49.9	1118	58.0
16	21.15	7.19	0.085	1.84	0.055	0.41	45.3	901	57.5
17	20.37	8.51	0.134	0.66	0.046	0.38	43.4	1118	64.5
18	19.42	6.90	0.084	0.88	0.069	0.39	41.4	1502	57.2
19	21.90	7.45	0.110	3.78	0.098	0.67	46.2	1150	55.5
20	19.25	7.26	0.097	2.83	0.055	0.42	40.5	1031	57.0
21	22.45	10.20	0.548	29.06	0.026	0.31	48.1	1057	55.2
22	25.35	10.16	0.229	10.48	0.043	0.38	54.4	1758	57.5
Gemid. waardes.	22.62	7.83	0.148	4.17	0.053	0.43	48.2	1311	59.8

Tabel 4. Gesamentlike ontledings en gemiddelde waardes  
van die 1965-proefmonsters.

Monster nummers	Suiker (°Balling)	Total suur (gm/1 W.S.S.)	Vlugtige suur (gm/1 $\text{CH}_3\text{COOH}$ )	Diasetiel (mgm/1)	Vry stikstof (gm/1 N)	Total stikstof (gm/1 N)	H <sub>2</sub> S in gisting gas (ugm/1)	Gewigsafname in CO <sub>2</sub> (gm CO <sub>2</sub> per 500 ml)	Organoleptiese beoordeling (totale punte)
1	22.40	6.16	0.019	0.23	0.037	0.30	1766	49.3	58.0
2	19.27	7.44	0.024	0.82	0.043	0.35	1462	40.1	57.6
3	18.95	10.66	0.273	6.98	0.033	0.32	629	47.8	62.8
4	22.47	9.22	0.115	6.64	0.014	0.20	882	50.1	56.8
5	20.40	13.46	1.122	40.75	0.020	0.24	692	42.9	54.0
6	20.54	13.91	0.711	26.92	0.023	0.37	752	42.6	54.4
7	19.10	7.07	0.037	2.08	0.092	0.66	192	41.4	62.8
8	18.60	8.01	0.347	14.16	0.089	0.68	74	42.3	64.0
9	16.67	10.00	0.406	15.00	0.091	0.64	260	42.8	62.4
Gemiddelde waardes.	19.82	9.55	0.339	12.62	0.051	0.42	745.5	45.5	59.1

**Tabel 5. Afsonderlike en totale vry aminosuurgehalte, NH<sub>3</sub>-gehalte (mikromol/l) en totale stikstofgehalte (gm/l N) van nege 1964-proefmonsters.**

Monsternummers	2	7	11	12	14	15	16	19	21
Aspartiensuur	245	417	240	344	482	336	379	440	193
Treonien	659	1006	359	1225	1415	1097	714	1495	654
Serien	649	1621	620	1772	1101	1279	782	2024	596
Arginien	449	1791	432	2279	2387	1603	1288	2225	846
Glutamiensuur	1131	1682	1005	2007	1397	1274	1174	1908	1147
Prolien	2840	2639	4757	7928	5660	4718	3925	6330	4055
Alamien	1304	2449	1121	4484	3648	2049	1730	3788	1602
Valien	360	309	336	631	764	346	329	467	291
Leusien	81	209	180	246	319	128	109	207	167
Fenielalanien	166	196	228	453	464	235	217	434	209
γ-Amino bottersuur	257	295	288	619	491	416	297	404	430
Totaal	8142	12563	9565	21986	18128	13480	10944	19723	10142
NH <sub>3</sub>	361	2510	602	2096	2004	1236	1644	2904	489
Totale N (gm/l N)	0.25	0.54	0.31	0.73	0.65	0.50	0.41	0.67	0.31

**Tabel 6. Afsonderlike en totale vry aminosuurgehalte, NH<sub>3</sub>-gehalte (mikromol/l) en totale stikstofgehalte (gm/l N) van die 1965-proefmonsters.**

Monsternummers	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Aspartiensuur	88	169	130	14	40	228	182	272	150
Treonien	357	443	351	160	207	242	476	420	332
Serien	559	608	589	293	273	525	893	1784	1078
Arginien	714	939	779	447	767	1190	2854	2446	2286
Glutamiensuur	982	978	675	721	551	643	1281	1418	1019
Prolien	3211	2495	2394	1554	1832	1924	3832	4078	3439
Alamien	1463	1663	1404	1234	849	1758	2036	2752	2350
Valien	148	223	134	25	81	96	437	363	477
Leusien	94	118	159	16	55	169	185	321	268
Fenielalanien	176	219	31	12	94	128	386	344	238
γ-Amino bottersuur	240	246	334	220	354	374	484	519	500
Totaal	8033	8100	6980	4796	5105	7276	13047	14716	12137
NH <sub>3</sub>	719	1159	910	361	508	1309	2468	2637	2334
Totale N (gm/l N)	0.30	0.35	0.32	0.20	0.24	0.37	0.66	0.68	0.64

Tabel 7. Proteïentroebeling van die 1964-  
proefmonsters voor en na gisting.

Monster nommers	Lesings eenhede (volgens indirekte metode)	
	Voor gisting (filter no 8-209)	Na gisting (sonder filter)
1	38	14
2	20	30
3	18	5
4	130	34
5	117	16
6	18	37
7	99	48
8	130	11
9	34	48
10	18	26
11	47	7
12	70	21
13	58	59
14	25	45
15	50	7
16	60	25
17	16	50
18	103	31
19	130	38
20	130	49
21	130	46
22	125	19

Tabel 8. Proteïentroebeling van die 1965-  
proefmonsters voor en na gisting.

Monster nummers	Lesings eenhede (volgens indirekte metode)	
	Voor gisting (filter no.8-209)	Na gisting (sonder filter)
1	23	14
2	5	2
3	7	4
4	12	7
5	6	2
6	5	4
7	19	2
8	2	1
9	3	1

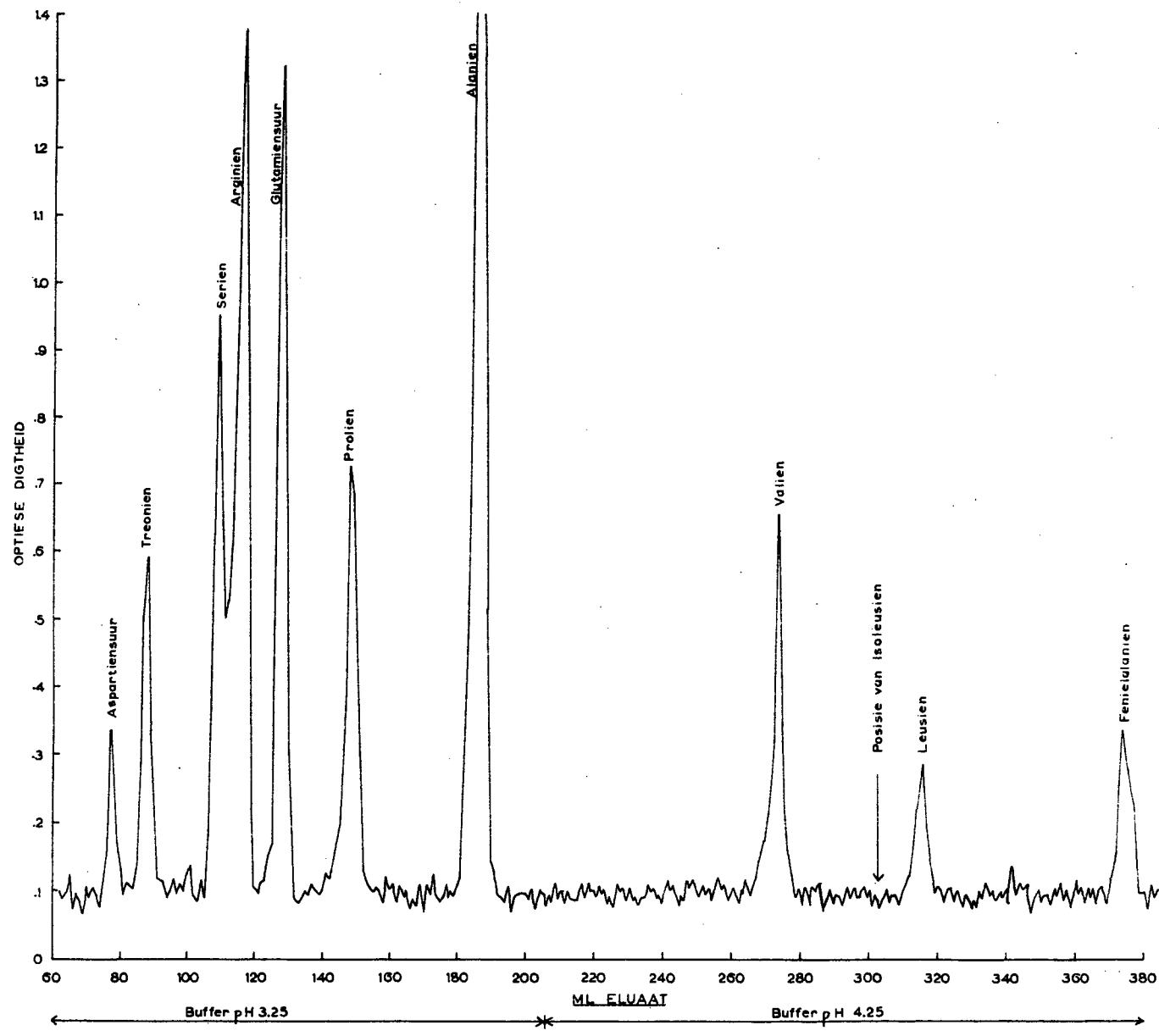
Tabel 9. Enkelvoudige korrelasies van die 1964-  
proefmonsters met nege onafhanklikes.

Tabel 10. Parsiële korrelasies van die 1964-  
proefmonsters met nege onafhanklikes.

Tabel 11. Suiker/suur-verhoudings en organoleptiese kwaliteit van die 1964-proefmonsters.

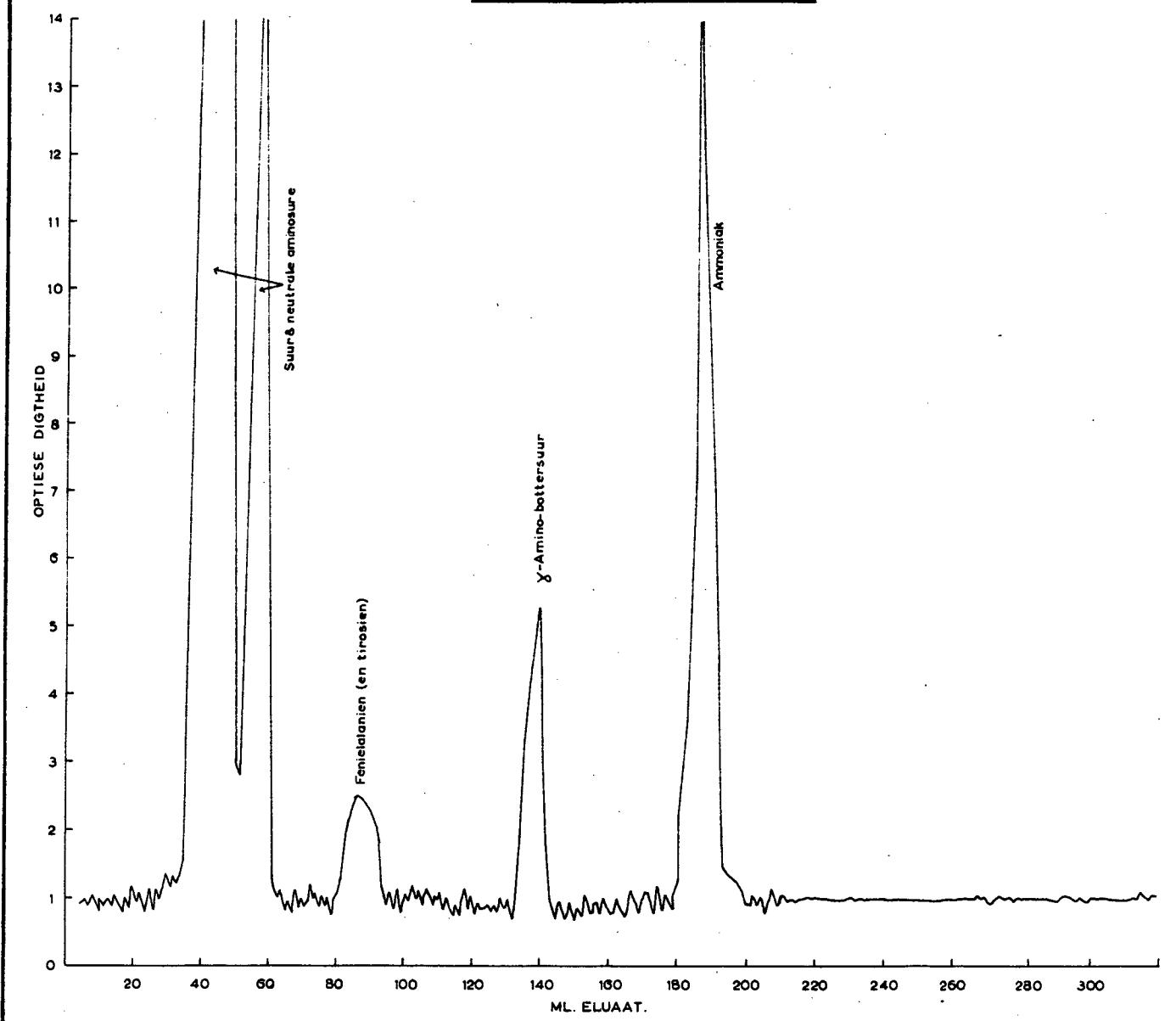
Monster nommers	Suiker( <sup>o</sup> B)	Totale suur gm/100cc WSS.	Suiker/suur	Organoleptie- se beoordeling
1	21.65	0.75	28.8	61.0
2	23.40	0.79	29.7	62.0
3	25.80	0.77	33.6	61.8
4	19.30	0.77	25.2	56.0
5	20.95	1.02	20.5	61.2
6	21.32	0.78	27.3	51.5
7	21.83	0.92	23.8	67.5
8	25.50	0.68	37.6	60.8
9	24.75	0.76	32.5	59.8
10	23.80	0.70	33.8	61.5
11	27.75	0.58	47.9	55.8
12	25.92	0.77	33.7	69.2
13	20.95	0.92	22.8	61.2
14	22.00	0.51	42.8	63.2
15	22.85	0.74	30.8	58.0
16	21.15	0.72	29.4	57.5
17	20.37	0.85	23.9	64.5
18	19.42	0.69	28.1	57.2
19	21.90	0.75	29.4	55.5
20	19.25	0.73	26.5	57.0
21	22.45	1.02	22.0	55.2
22	25.35	1.02	25.0	57.5

FIGUUR I.  
CHROMATOGRAM VAN SUUR EN NEUTRALE AMINOSURE. (MONSTER 7).

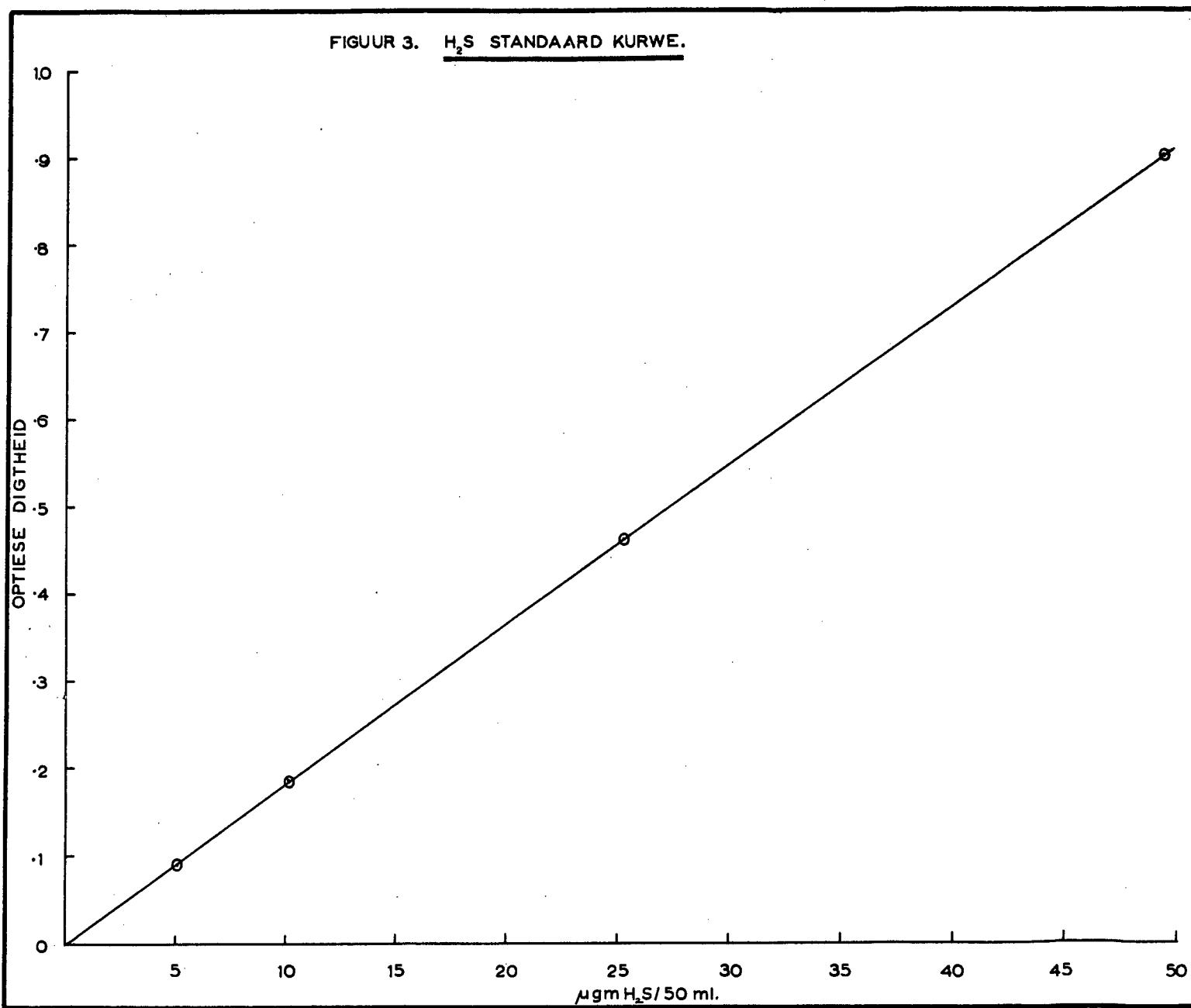


FIGUUR 2.

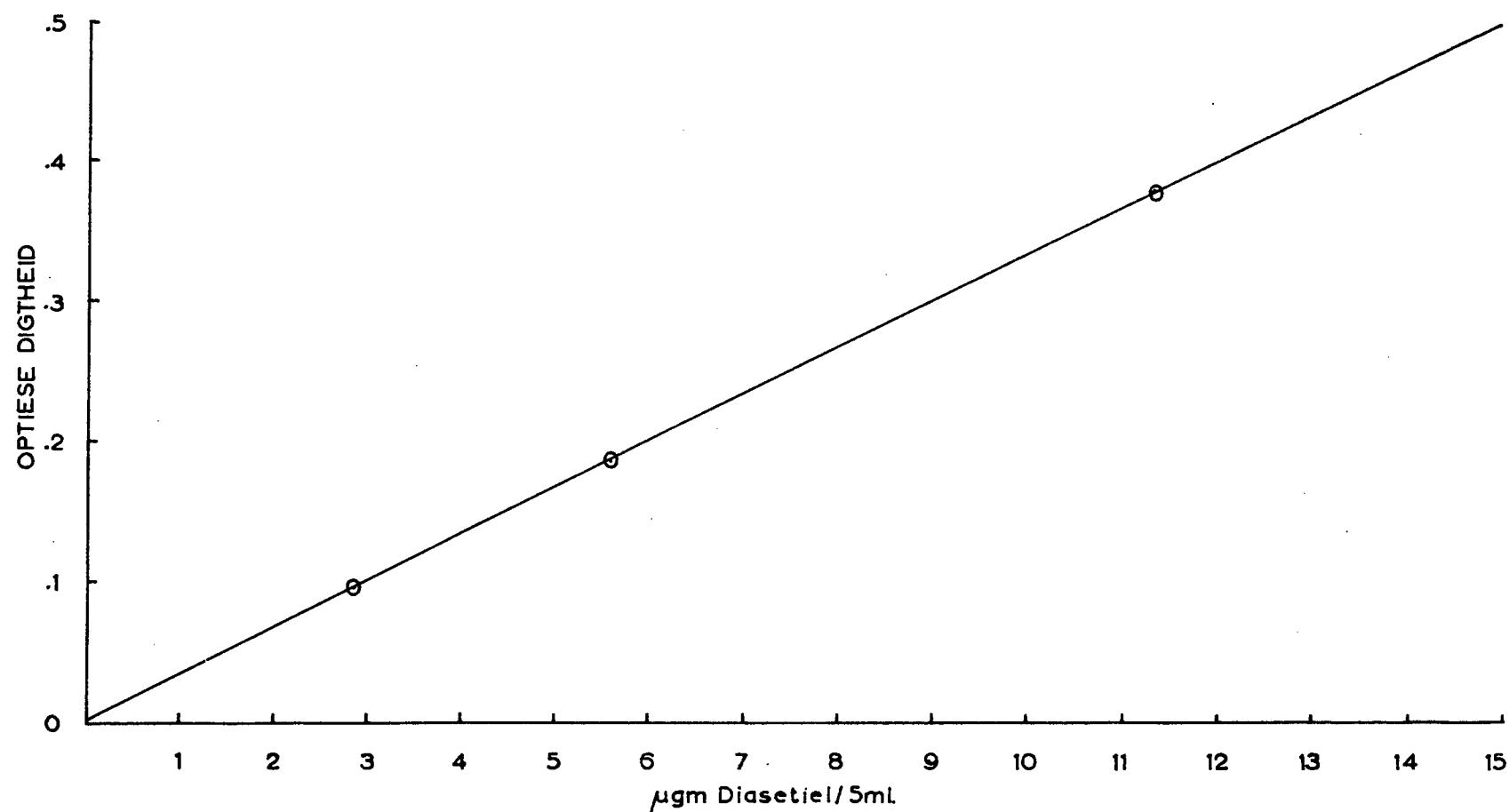
CHROMATOGRAM VAN BASIESE AMINOSURE (MONSTER 7)



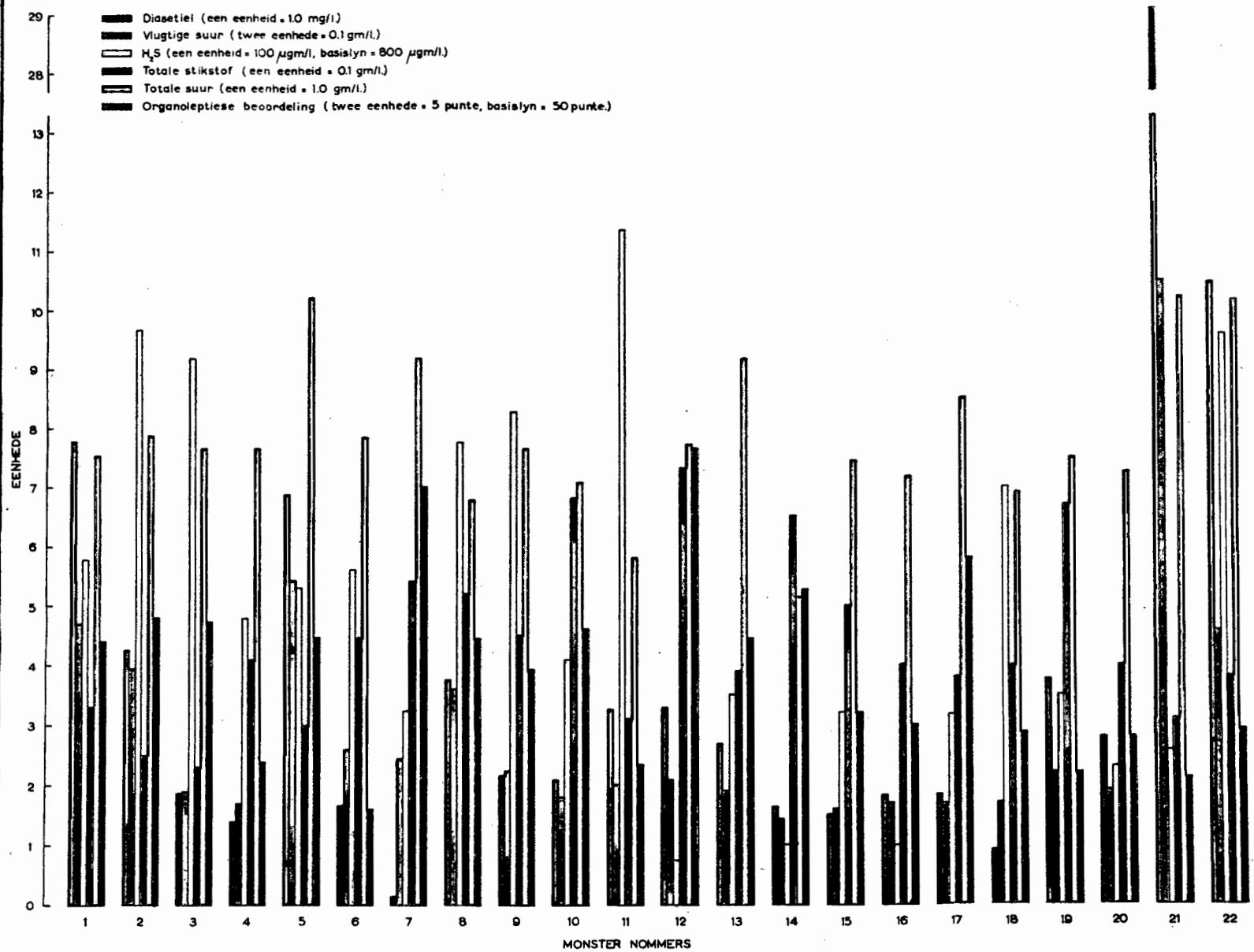
FIGUUR 3.  $\text{H}_2\text{S}$  STANDAARD KURWE.



FIGUUR 4. DIASETIEL STANDAARD KURWE.



FIGUUR 5. HISTOGRAM VAN GEKORRELEERDE FAKTORE IN 1964 PROEFMONSTERS.



FIGUUR 6. HISTOGRAM VAN GEKORRELEERDE FAKTORE IN 1965 PROEFMONSTERS.

