

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Dejan BAVČAR

**VPLIV MACERACIJE NA AROMATIČNE
ZNAČILNOSTI PRIMORSKIH BELIH VIN**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Dejan BAVČAR

**VPLIV MACERACIJE NA AROMATIČNE ZNAČILNOSTI
PRIMORSKIH BELIH VIN**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**INFLUENCE OF MACERATION ON AROMATIC PROPERTIES OF
WHITE WINES FROM PRIMORSKA REGION**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2011

Popravki:

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete in sklepa Komisije za doktorski študij Univerze v Ljubljani z dne 24.02.2011 je bilo potrjeno, da kandidat izpolnjuje pogoje za opravljanje doktorata znanosti na Interdisciplinarnem doktorskem študiju Bioznanosti, znanstveno področje živilstvo. Za mentorja je bila imenovana prof. dr. Tatjana Košmerl in za somentorja doc. dr. Franc Čuš. Poskusi in analize so bili izvedeni na Kmetijskem inštitutu Slovenije v Ljubljani.

Mentorica: prof. dr. Tatjana Košmerl

Somentor: doc. dr. Franc Čuš

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: doc. dr. Blaž CIGIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Članica: prof. dr. Tatjana KOŠMERL
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Član: doc. dr. Franc ČUŠ
Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije

Članica: doc. dr. Helena PROSEN
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo

Datum zagovora:

Doktorska disertacija je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Doktorand:

Dejan BAVČAR

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

MD	Dd
DK	UDK 663.221 (497.4): 663.251/.252.4:547.52: 543.9 (043) = 163.6
KG	vino/ bela vina/ postopki vinifikacije/ maceracija drozge/ dodatek jagod/ zamrzovanje grozdja/ zamrzovanje drozge/ malvazija/ rebula/ zelen/ aromatične spojine/ fenolne spojine/ kemijska sestava/ senzorične lastnosti
AV	BAVČAR, Dejan, mag., univ. dipl. inž. živil. tehnol.
SA	KOŠMERL, Tatjana (mentorica) / ČUŠ, Franc (somentor)
KZ	SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti, področje živilstva
LI	2011
IN	VPLIV MACERACIJE NA AROMATIČNE ZNAČILNOSTI PRIMORSKIH BELIH VIN
TD	Doktorska disertacija
OP	XV, 183 str., 58 pregl., 12 sl., 23 pril., 199 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V letih 2008 in 2009 smo proučevali vpliv različnih postopkov maceracije na proste aromatične spojine (AS), fenolne spojine in osnovne kemijske parametre belih vin sort zelen, rebula in malvazija (<i>Vitis vinifera</i> L.) iz vinorodne dežele Primorska. Kvantitativna določitev 38 AS je bila izvedena s tremi analitskimi metodami HS-SPME-GC-MS, GC-FID in LLE-GC-MS. Za slednjo je bila izvedena tudi obsežna validacija metode. Z uvedbo pojma aktivna vonjalna vrednost (OAV) smo ovrednotili tudi senzorični vpliv maceracije. V letniku 2008 smo v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja pri sortah zelen in malvazija določili večje vsebnosti terpenov in hlapnih fenolov ter večji vpliv na vonj po cvetlicah, fenolih in začimbah. Postopka kontrole in dodatka 7 % jagod v mošt sta pri vseh sortah pozitivno vplivala na vonj po sadju in maščobah zaradi večje vsebnosti senzorično vplivnih estrov. Pri sorti rebula je bila vsebnost 2-feniletanola ter 2-feniletil acetata zaradi manjše vsebnosti terpenov odločilna za največji vpliv na vonj po cvetlicah v postopku hladne maceracije. Potencialno negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov smo pri sorti rebula določili tako v kontroli kot pri hladni maceraciji. V letniku 2009 smo v primerjavi postopkov dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt določili pozitiven vpliv dodatka 12 % jagod za sorti zelen in rebula na vonj po sadju zaradi največje vsebnosti senzorično vplivnih estrov, za sorti zelen in malvazija pa tudi boljšo ekstrakcijo primarnih AS. Pri sorti rebula je kontrola zopet izkazovala največji vpliv na vonj po cvetlicah zaradi vsebnosti 2-feniletanola in 2-feniletil acetata in ne zaradi terpenov. Postopka dodatka jagod v mošt pri sorti rebula nista bistveno izboljšala vonja vina. V letniku 2009 smo v primerjavi postopkov zamrzovanja drozge in zamrzovanja grozdja za vse tri sorte določili pozitivni vpliv zamrzovanja grozdja na vonj po sadju zaradi vsebnosti senzorično vplivnih estrov. Oba postopka zamrzovanja sta pri sortah zelen in malvazija imela pozitiven vpliv na vonj po cvetlicah. Z izjemo zamrzovanja drozge pri sorti malvazija smo določili največji vpliv na vonj po topilih ali kemikalijah pri postopku kontrole zaradi vsebnosti višjih alkoholov. V letniku 2009 smo v primerjavi postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije za sorti rebula in malvazija določili pozitiven vpliv kontrole na vonj po sadju zaradi največje vsebnosti senzorično pomembnih estrov. Maceracija drozge med fermentacijo se je izkazala kot najbolj uspešen postopek za ekstrakcijo primarnih AS. Potencialno negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov smo pri sorti rebula določili tako v postopku kontrole kot maceracije drozge med fermentacijo. Večje vsebnosti fenolnih spojin smo določili v maceriranih vinih obeh letnikov, a brez senzoričnega vpliva, z izjemo postopka maceracije drozge med fermentacijo. V istem postopku smo določili tudi največje vsebnosti metanola. Metoda glavnih komponent (PCA) se je izkazala primerna za ločevanje vin istega letnika na osnovi sorte ali postopka.

KEY WORDS DOCUMENTATION

MD Dd
DC UDC 663.221 (497.4): 663.251/.252.4:547.52: 543.9 (043) = 163.6
CX wine/ white wines/ winemaking/ maceration of pomace/ berries addition/ freezing of grapes/ freezing of pomace/ Malvasia Istriana/ Ribolla Gialla/ Zelen/ aromatic compounds/ phenolic compounds/ chemical composition/ sensory properties
AU BAVČAR, Dejan
AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/ ČUŠ, Franc (co-advisor)
PP SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101, Slovenia
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Interdisciplinary Postgraduate Study of Bioscience, Field: Food Science and Technology
PY 2011
TI INFLUENCE OF MACERATION ON AROMATIC PROPERTIES OF WHITE WINES FROM PRIMORSKA REGION
DT Doctoral dissertation
NO XV, 183 p., 58 tab., 12 fig., 23 ann., 199 ref.
LA SI
AL sl/en
AB Influences of different skin contact procedures on free aromatic compounds (AC), phenolic compounds and general wine composition were studied in the 2008 and 2009 vintages for white varieties Zelen, Ribolla Gialla and Malvasia Istriana (*Vitis vinifera* L.) from the Primorska winegrowing region. Quantitative determination of 38 AC was performed using three analytical methods, HS-SPME-GC-MS, GC-FID and LLE-GC-MS. For the last one an extensive method validation was performed. With the introduction of the term odour activity value (OAV), the sensorial impact of maceration was evaluated. In the cryomaceration and freezing procedures of the 2008 vintage, higher quantities of terpenes and volatile phenols with positive impact on floral, phenolic and spicy odour were determined for Zelen and Malvasia. The control and 7 % berry additions in must proved positive for fruity and fatty odour due to higher quantities of sensorially important esters. Due to low terpene concentrations in the Ribolla wines, 2-phenylethanol and 2-phenylethyl acetate content proved to be determinative for the floral odour impact. Potentially negative sensorial impact of volatile phenols in Ribolla was detected in both the control and the cryomaceration. In 2009, comparisons of the procedures of 6 % and 12 % berry additions in must, helped to determine a positive influence on fruity odour for 12 % berry additions in Zelen and Ribolla due to the highest quantities of sensorially important esters, and more effective extraction of primary varietal AC in Zelen and Malvasia. Because of low terpene content, 2-phenylethanol and 2-phenylethyl acetate were found responsible for the positive floral odour impact in the control for Ribolla. Both berries addition procedures in Ribolla were found to have only a limited impact on wine aromatics. In the 2009 comparisons of pomace freezing and whole grape freezing procedures, a positive impact of grape freezing on fruity odour due to sensorially important ester content for all three varieties was determined. Both freezing procedures had a positive influence on the floral odour in Zelen and Malvasia. With the exception of pomace freezing in Malvasia, the highest impact on solvent-chemical odour was determined in the control, due to concentrations of higher alcohols. In the 2009 comparisons of pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedure, a positive influence on fruity odour for control was determined in Ribolla and Malvasia due to the highest quantities of sensorially important esters. Pomace maceration during fermentation proved to be the most successful procedure for primary varietal AC extraction. Potentially negative sensorial impact of volatile phenols in Ribolla was detected in both the control and the pomace maceration during fermentation. In the skin contact wines, higher quantities of total phenols with no sensorial impact were determined in both vintages, with the exception of pomace maceration during fermentation. In the same procedure, the highest methanol content was detected. Principal component analysis (PCA) was found to be an adequate method for the separation of the same vintage wines based on variety or procedure.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	IX
Kazalo slik	XII
Kazalo prilog	XIII
Okrajšave in simboli	XV
1 UVOD	1
1.1 UTEMELJITEV PREDLAGANE VSEBINE	1
1.2 NAMEN DELA	2
1.3 DELOVNE HIPOTEZE	3
2 PREGLED OBJAV	4
2.1 OSNOVNA DELITEV AROMATIČNIH SPOJIN V VINU	4
2.1.1 Aromatična in nearomatična bela vina	4
2.1.1.1 C ₆ alkoholi in aldehyd	5
2.1.1.2 Hlapni fenoli	6
2.1.1.3 Višji alkoholi	7
2.1.1.4 Estri	8
2.1.1.5 Terpeni	9
2.1.1.6 C ₁₃ norizoprenoidi	10
2.1.1.7 Aldehydi, laktoni in ketoni	11
2.2 OBLIKE AROMATIČNIH SPOJIN V VINU	12
2.3 HIDROLIZA VEZANIH GLIKOZIDNIH AROMATIČNIH SPOJIN	13
2.3.1 Glikozidaze grozdja	13
2.3.2 Glikozidaze kvasovk	14
2.3.3 Eksogene glikozidaze	15
2.4 MACERACIJA BELEGA GROZDJA	16
2.4.1 Aromatične spojine belih vin pridelanih z maceracijo	17
2.5 POSEBNE TEHNIKE MACERACIJE	20
2.5.1 Karbonska maceracija v atmosferi ogljikovega dioksida	20
2.5.1.1 Karbonska maceracija v pridelavi rdečih vin	20
2.5.1.2 Aromatične spojine rdečih vin pridelanih s karbonsko maceracijo	21
2.5.1.3 Karbonska maceracija v pridelavi belih vin	22
2.5.2 Dodatek celih grozdnih jagod v mošt in delna karbonska maceracija belih vin	23
2.5.3 Zamrzovanje ali supraekstrakcija grozdja	24
2.5.4 Maceracija drozge med alkoholno fermentacijo ali maceracija »na tropu«	24
2.6 FENOLNE SPOJINE V BELIH VINIH	24
2.6.1 Hidroksicimetne kisline	25
2.6.2 Ostale fenolne spojine v belih vinih	26
2.7 METODE DOLOČEVANJA AROMATIČNIH SPOJIN VINA	26
2.7.1 Kvalitativno in kvantitativno določevanje aromatičnih spojin	26

2.7.2	Ekstrakcijske tehnike za aromatične spojine iz vina	27
2.7.2.1	Ekstrakcija tekoče tekoče (LLE)	28
2.7.2.2	Ekstrakcija na trdno fazo (SPE)	29
2.7.2.3	Mikroekstrakcija na trdno fazo (SPME)	30
3	MATERIAL IN METODE	33
3.1	AROMATIČNE SPOJINE V VINU	33
3.1.1	Plinska kromatografija z masnospektrometričnim detektorjem in ekstrakcijo tekoče-tekoče (LLE-GC-MS)	33
3.1.1.1	Ekstrakcija tekoče-tekoče (LLE)	33
3.1.1.2	Pogoji za kromatografijo LLE-GC-MS	34
3.1.1.3	Validacija metode LLE-GC-MS	35
3.1.2	Plinska kromatografija z masnospektrometričnim detektorjem in mikroekstrakcijo na trdno fazo iz plinski fazi vzorca (HS-SPME-GC-MS)	41
3.1.2.1	Mikroekstrakcija na trdni fazi v plinski fazi vzorca (HS-SPME)	41
3.1.2.2	Pogoji ekstrakcije in kromatografije HS-SPME-GC-MS	42
3.1.2.3	Validacija metode HS-SPME-GC-MS	43
3.1.3	Plinska kromatografija s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID)	44
3.1.3.1	Pogoji za kromatografijo GC-FID	45
3.1.3.2	Validacija metode GC-FID	45
3.2	FENOLNE SPOJINE V VINU	47
3.2.1	Skupni fenoli vina	47
3.2.2	Hidroksicimetine kisline v vinu	48
3.3	OSNOVNI KEMIJSKI PARAMETRI VINA IN MOŠTA	49
3.3.1	Dejanski alkohol v vinu	49
3.3.2	Skupni suhi ekstrakt vina	50
3.3.3	Reducirajoči sladkorji v vinu	50
3.3.4	pH vina	51
3.3.5	Skupne (titrabilne) kisline v vinu	51
3.3.6	Hlapne kisline v vinu	52
3.3.7	Pepel v vinu	53
3.3.8	Sladkorna stopnja v moštu	53
3.4	SENZORIČNO OCENJEVANJE VINA Z RANGIRANJEM	54
3.5	AKTIVNE VONJALNE VREDNOSTI (OAV)	54
3.6	ANALIZA Z METODO GLAVNIH KOMPONENT (PCA)	55
3.7	IZVEDBA VINIFIKACIJ V LETIH 2008 IN 2009	57
3.7.1	Vinifikacije 2008	57
3.7.2	Vinifikacije 2009 – postopki dodatka jagod v mošt	58
3.7.3	Vinifikacije 2009 – postopki zamrzovanja drozge in mošta	59
3.7.4	Vinifikacije 2009 – postopki maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	60
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	62
4.1	VINIFIKACIJE 2008	62
4.1.1	Osnovni kemijski parametri vina	63
4.1.2	Aromatične spojine	65
4.1.2.1	C ₆ alkoholi in aldehid	68

4.1.2.2	Hlapni fenoli	69
4.1.2.3	Višji alkoholi	71
4.1.2.4	Estri	73
4.1.2.5	Aldehidi, ketoni, laktoni	77
4.1.2.6	Terpeni in C ₁₃ norizoprenoidi	78
4.1.3	Fenolne spojine	80
4.1.4	Vrednotenje zaznavnih aromatičnih spojin z uporabo aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV)	83
4.1.5.	Senzorično ocenjevanje vina z rangiranjem	85
4.2	VINIFIKACIJE 2009 – POSTOPKI DODATKA JAGOD V MOŠT	86
4.2.1	Osnovni kemijski parametri vina	86
4.2.2	Aromatične spojine	88
4.2.2.1	C ₆ alkoholi in aldehyd	91
4.2.2.2	Hlapni fenoli	92
4.2.2.3	Višji alkoholi	93
4.2.2.4	Estri	94
4.2.2.5	Aldehidi, ketoni, laktoni	96
4.2.2.6	Terpeni in C ₁₃ norizoprenoidi	97
4.2.3	Fenolne spojine	98
4.2.4	Vrednotenje zaznavnih aromatičnih spojin z uporabo aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV)	100
4.2.5	Senzorično ocenjevanje vina z rangiranjem	102
4.3	VINIFIKACIJE 2009 – POSTOPKI ZAMRZOVANJA DROZGE IN GROZDJA	103
4.3.1	Osnovni kemijski parametri vina	103
4.3.2	Aromatične spojine	105
4.3.2.1	C ₆ alkoholi in aldehyd	108
4.3.2.2	Hlapni fenoli	109
4.3.2.3	Višji alkoholi	110
4.3.2.4	Estri	111
4.3.2.5	Aldehidi, ketoni, laktoni	113
4.3.2.6	Terpeni in C ₁₃ norizoprenoidi	114
4.3.3	Fenolne spojine	116
4.3.4	Vrednotenje zaznavnih aromatičnih spojin z uporabo aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV)	118
4.3.5	Senzorično ocenjevanje vina z rangiranjem	120
4.4	VINIFIKACIJE 2009 – POSTOPKI MACERACIJE DROZGE MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO IN DELNE KARBONSKE MACERACIJE	121
4.4.1	Osnovni kemijski parametri vina	121
4.4.2	Aromatične spojine	123
4.4.2.1	C ₆ alkoholi in aldehyd	125
4.4.2.2	Hlapni fenoli	126
4.4.2.3	Višji alkoholi	126
4.4.2.4	Estri	128
4.4.2.5	Aldehidi, ketoni, laktoni	129
4.4.2.6	Terpeni in C ₁₃ norizoprenoidi	130

4.4.3	Fenolne spojine	131
4.4.4	Vrednotenje zaznavnih aromatičnih spojin z uporabo aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV)	133
4.4.5	Senzorično ocenjevanje vina z rangiranjem	134
4.5	ANALIZA AROMATIČNIH SPOJIN VINA Z METODO GLAVNIH KOMPONENT (PCA)	135
4.5.1	PCA vinifikacij 2008	135
4.5.2	PCA vinifikacij 2009 – postopki dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja	138
4.5.3	PCA vinifikacij 2009 – postopki maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	141
4.5.4	PCA vinifikacij 2008 in 2009 – postopki kontrole	144
4.6	RAZPRAVA	147
4.6.1	Vinifikacije 2008	147
4.6.2	Vinifikacije 2009 – postopki dodatka jagod v mošt	149
4.6.3	Vinifikacije 2009 – postopki zamrzovanja drozge in mošta	151
4.6.4	Vinifikacije 2009 – postopki maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	154
5	ZAKLJUČKI IN SKLEPI	156
6	POVZETEK	160
6.1	Povzetek	160
6.2	Summary	163
7	VIRI	167
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Pogoji za kromatografijo LLE-GC-MS	34
Preglednica 2: Območja linearnosti, kvadrati korelacijskih koeficientov (R^2), meje zaznav (LOD) in meje določitev (LOQ) metode LLE-GC-MS	36
Preglednica 3: Linearnost metode LLE-GC-MS v širšem koncentracijskem območju	37
Preglednica 4: Izkoristki aromatičnih spojin iz modelne raztopine vina	38
Preglednica 5: Standardni odmik ponovljivost (s_r) in obnovljivosti (s_R) metode LLE-GC-MS	39
Preglednica 6: Merilna negotovost ponovljivosti (U_r) in obnovljivosti (U_R) metode LLE-GC-MS	40
Preglednica 7: Pogoji uporabe enote SPME	42
Preglednica 8: Pogoji za kromatografijo HS-SPME-GC-MS	42
Preglednica 9: Območja linearnosti, kvadrati korelacijskih koeficientov (R^2), meje zaznav (LOD) in meje določitev (LOQ) metode HS-SPME-GC-MS	43
Preglednica 10: Standardni odmik ponovljivost (s_r) in obnovljivosti (s_R) metode HS-SPME-GC-MS	43
Preglednica 11: Merilna negotovost ponovljivosti (U_r) in obnovljivosti (U_R) metode GC-MS-HS-SPME	44
Preglednica 12: Pogoji za kromatografijo GC-FID	45
Preglednica 13: Območja linearnosti, kvadrati korelacijskih koeficientov (R^2), meje zaznav (LOD) in meje določitev (LOQ) metode GC-FID	46
Preglednica 14: Standardni odmik ponovljivost (s_r) in obnovljivosti (s_R) metode GC-FID	46
Preglednica 15: Merilna negotovost ponovljivosti (U_r) in obnovljivosti (U_R) metode GC-FID	47
Preglednica 16: Prag senzorične zaznave in opis vonja posameznih aromatičnih spojin	55
Preglednica 17: Osnovni kemijski parametri vin letnika 2008	63
Preglednica 18: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih zelen letnika 2008	65
Preglednica 19: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih rebula letnika 2008	66
Preglednica 20: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih malvazija letnika 2008	67
Preglednica 21: Razmerja hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola : 4-vinilfenolu v vinih letnika 2008	68
Preglednica 22: Vsebnost hidroksicimetnih kislin in skupnih fenolov v vinih letnika 2008	80
Preglednica 23: Razmerja hidroksicimentnih kislin, skupnih fenolov in vsebnost flavonoidov v vinih letnika 2008	81
Preglednica 24: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2008	83
Preglednica 25: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2008	84
Preglednica 26: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija	

	letnika 2008	84
Preglednica 27:	Rezultati senzoričnega ocenjevanja z rangiranjem v štiri skupine za vina letnika 2008	85
Preglednica 28:	Osnovni kemijski parametri vin letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	86
Preglednica 29:	Vsebnost aromatičnih spojin v vinih zelen letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	88
Preglednica 30:	Vsebnost aromatičnih spojin v vinih rebula letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	89
Preglednica 31:	Vsebnost aromatičnih spojin v vinih malvazija letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	90
Preglednica 32:	Razmerja hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola : 4-vinilfenolu v vinih letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	91
Preglednica 33:	Vsebnost hidroksicimetnih kislin in skupnih fenolov v vinih letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	98
Preglednica 34:	Razmerja hidroksicimentih kislin, skupnih fenolov in vsebnost flavonoidov v vinih letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	99
Preglednica 35:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	100
Preglednica 36:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	101
Preglednica 37:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	101
Preglednica 38:	Rezultati senzoričnega ocenjevanja z rangiranjem v tri skupine za vina letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt	102
Preglednica 39:	Osnovni kemijski parametri vin letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	103
Preglednica 40:	Vsebnost aromatičnih spojin v vinih zelen letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	105
Preglednica 41:	Vsebnost aromatičnih spojin v vinih rebula letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	106
Preglednica 42:	Vsebnost aromatičnih spojin v vinih malvazija letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	107
Preglednica 43:	Razmerja hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola : 4-vinilfenolu v vinih letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	108
Preglednica 44:	Vsebnost hidroksicimetnih kislin in skupnih fenolov v vinih letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	116
Preglednica 45:	Razmerja hidroksicimentih kislin, skupnih fenolov in vsebnost flavonoidov v vinih letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	117
Preglednica 46:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	118
Preglednica 47:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	119
Preglednica 48:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	119

Preglednica 49:	Rezultati senzoričnega ocenjevanja z rangiranjem v tri skupine za vina letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja	120
Preglednica 50:	Osnovni kemijski parametri vin letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	121
Preglednica 51:	Vsebnost aromatičnih spojin v vinih rebula letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	123
Preglednica 52:	Vsebnost aromatičnih spojin v vinih malvazija letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	124
Preglednica 53:	Razmerja hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola : 4-vinilfenolu v vinih letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	125
Preglednica 54:	Vsebnost hidroksicimetnih kislin in skupnih fenolov v vinih letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	131
Preglednica 55:	Razmerja hidroksicimentih kislin, skupnih fenolov in vsebnost flavonoidov v vinih letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	132
Preglednica 56:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	133
Preglednica 57:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	133
Preglednica 58:	Rezultati senzoričnega ocenjevanja z rangiranjem v tri skupine za vina letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	134

KAZALO SLIK

	str.	
Slika 1:	Projekcija spremenljivk, določenih s prvima dvema glavnima komponentama v ravnini - vinifikacije 2008	135
Slika 2:	Projekcija spremenljivk v ravnini, določenih s tretjo in četrto glavno komponento - vinifikacije 2008	136
Slika 3:	Projekcija podatkov o vinih, pridelanih po različnih postopkih, v ravnini določeni s prvima dvema glavnima komponentama - vinifikacije 2008	137
Slika 4:	Projekcija spremenljivk, določenih s prvima dvema glavnima komponentama v ravnini - vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja	138
Slika 5:	Projekcija spremenljivk v ravnini, določenih s tretjo in četrto glavno komponento - vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja	139
Slika 6:	Projekcija podatkov o vinih, pridelanih po različnih postopkih, v ravnini določeni s prvima dvema glavnima komponentama - vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja	140
Slika 7:	Projekcija spremenljivk, določenih s prvima dvema glavnima komponentama v ravnini - vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	141
Slika 8:	Projekcija spremenljivk v ravnini, določenih s tretjo in četrto glavno komponento - vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	142
Slika 9:	Projekcija podatkov o vinih, pridelanih po različnih postopkih, v ravnini določeni s prvima dvema glavnima komponentama - vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije	143
Slika 10:	Projekcija spremenljivk, določenih s prvima dvema glavnima komponentama v ravnini - vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole	144
Slika 11:	Projekcija spremenljivk v ravnini, določenih s tretjo in četrto glavno komponento - vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole	145
Slika 12:	Projekcija podatkov o vinih, pridelanih po različnih postopkih, v ravnini določeni s prvima dvema glavnima komponentama - vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole	146

KAZALO PRILOG

Priloga A1:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2008
Priloga A2:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2008
Priloga A3:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2008
Priloga B1:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt
Priloga B2:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt
Priloga B3:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt
Priloga C1:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja
Priloga C2:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja
Priloga C3:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja
Priloga D1:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije
Priloga D2:	Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije
Priloga E1:	Povprečne vrednosti in standardni odmiki odvisnih spremenljivk uporabljenih v PCA - vinifikacije 2008
Priloga E2:	Korelacijski koeficienti med spremenljivkami, uporabljenimi v PCA - vinifikacije 2008
Priloga E3:	Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti - vinifikacije 2008
Priloga F1:	Povprečne vrednosti in standardni odmiki odvisnih spremenljivk uporabljenih v PCA - vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja
Priloga F2:	Korelacijski koeficienti med spremenljivkami, uporabljenimi v PCA – vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja
Priloga F3:	Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti - vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja
Priloga G1:	Povprečne vrednosti in standardni odmiki odvisnih spremenljivk uporabljenih v PCA - vinifikacije iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

- Priloga G2: Korelacijski koeficienti med spremenljivkami, uporabljenimi v PCA - vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije
- Priloga G3: Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti - vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije
- Priloga H1: Povprečne vrednosti in standardni odmiki odvisnih spremenljivk uporabljenih v PCA - vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole
- Priloga H2: Korelacijski koeficienti med spremenljivkami, uporabljenimi v PCA- vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole
- Priloga H3: Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti - vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole
-

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

okrajšava, simbol	pomen
AS	aromatične spojine
FAB-MS/MS	obstreljevanje s hitrimi atomi in tandemska masna spektrometrija
FID	plamensko ionizacijski detektor
FTIR	Fourierjeva transformacijska infrardeča spektroskopija
GC-FID	plinska kromatografija s plamensko ionizacijskim detektorjem
GC-MS	plinska kromatografija z masnospektrometričnim detektorjem
GRP	oksidirana oblika kaftarne kisline
HCK	hidroksicimetne kisline
HS-SPME	mikroekstrakcija na trdno fazo iz plinske faze vzorca
LLE	ekstrakcija tekoče-tekoče
LOD	meja zaznave
LOQ	meja določitve
MS	masnospektrometrični detektor
OAV	aktivna vonjalna vrednost
PCA	metoda glavnih komponent
R^2	kvadrat korelacijskega koeficienta
RSD	relativni standardni odmik
SPE	ekstrakcija na trdno fazo
SPME	mikroekstrakcija na trdno fazo
s_r	standardni odmik ponovljivosti
s_R	standardni odmik obnovljivost
U_r	merilna negotovost ponovljivosti
U_R	merilna negotovost obnovljivosti

1 UVOD

1.1 UTEMELJITEV PREDLAGANE RAZISKAVE

Vpliv aromatičnih spojin (AS) na vonj in aromo vina je odvisen tako od koncentracije kot od vrste spojin samih. Koncentracije posameznih aromatičnih spojin v vinu dosega do nekaj sto mg/L do samo nekaj ng/L, če seveda ne upoštevamo etanola. Najpogosteje aromatične spojine v vinu delimo glede na izvor oz. čas nastanka na primarne ali sortne, sekundarne ali fermentacijske in terciarne ali zorične (Fregoni in Iacono, 1986; Boidron in sod., 1989).

Raziskave aromatičnih spojin vina so bile v preteklosti največkrat vezane prav na bela vina z enostavnim in intenzivnim vonjem, ki je odvisen od primarnih ali sortnih AS. Že pred desetletji so določili povezavo sortnega vonja muškatinih sort s terpeni in sorto sauvignon z metoksipirazini in hlapnimi tioli (Bayonove in sod., 1975; Ribéreau-Gayon in sod., 1975; Marais, 1983, Darriet in sod., 1993).

Kar 90 % svetovne pridelave vina pa predstavljajo nearomatične sorte (Jurado in sod., 2001). Kot nearomatične sorte lahko uvrščamo vse, pri katerih primarne ali sortne AS senzorično ne prevladajo nad sekundarnimi in terciarnimi. Samo v zadnjem desetletju so tudi nearomatične sorte postale predmet raziskav z namenom določitve njihovih značilnih AS, ki pa so pogosto omejene na eno ali dve sorti in en postopek pridelave (Reynolds in sod., 1993; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Fernandez Gonzales in sod., 2004; Kovacevic Ganić in sod., 2005; Radeka, 2005; Rocha in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Cabrita in sod., 2006; Rocha in sod., 2007; Sanchez Palomo in sod., 2007; Lukić in sod., 2008; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

Pri pridelavi belih vin lahko predvsem s postopki pred alkoholno fermentacijo odločilno prispevamo k izrazitejši aromatičnosti posameznih sort (Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Najbolj znan je prav postopek maceracije belega grozdja, ki se uporablja že desetletja (Arnold in Nobel, 1979; Versini in sod., 1981; Ramey in sod., 1986; Marais, 1987; Marais in Rapp, 1988; Gerbi in sod., 1991; Tamborra, 1992; Reynolds in sod., 1993; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Radeka, 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

Maceracija belega grozdja je postopek, v katerem dopustimo stik tekočega in trdnega dela zdrozane grozdne jagode v kontroliranih razmerah pred samim stiskanjem, z namenom ekstrakcije aromatičnih spojin, bolj polnega telesa in boljšega potenciala za zorenje in staranje vina. V času maceracije sproščeni encimi iz jagodnih celic pospešijo ekstrakcijo spojin, vezanih v kožicah, mesu in pečkih. Vpliv maceracije na vino je odvisen od izbrane sorte in razmer med maceracijo, predvsem temperature in časa trajanja postopka (Singleton in sod., 1975; Ramey in sod., 1986; Marais in Rapp, 1988; Sanchez Palomo in sod., 2006). Ciljno želimo večjo ekstrakcijo AS ob minimalnem povečanju fenolnih spojin, kar še posebno velja za daljše maceracije pri pridelavi vina iz manj aromatičnih sort grozdja (Gerbi in sod., 1991; Tamborra, 1992; Radeka, 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007).

V grozdni jagodi se tako proste AS kot njihovi glikozidni prekursorji nahajajo v kožici in mesu (Günata s sod., 1985a; Wilson in sod., 1986). Maceracija poveča poleg vsebnosti primarnih prostih AS tudi vsebnost njihovih vezanih glikozidnih oblik v moštu (Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Sanchez Palomo in sod., 2006; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Te vezane glikozidne oblike so enake v vseh moštih in vinih, le da jih je v

nearomatičnih sortah manj (Cabrita in sod., 2006). Vendar večja vsebnost vezanih glikozidnih oblik v moštu ne pomeni nujno tudi več odgovarjajočih primarnih prostih AS v vinu (Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). V tem smislu je določitev vezanih glikozidnih oblik kot samo teoretično možnih aktivnih AS, manj pomembna. Le izjemoma z dovoljenimi enološkimi postopki iz njih lahko sprostimo še več primarnih prostih AS, na primer z dodatkom eksogenih β -glukozidaz v vina po alkoholni fermentaciji (Cabaroglu in sod., 2003; Cabrita in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2005, 2006). Z zavedanjem o relativno majhni vsebnosti primarnih komponent v nearomatičnih sortah, so za ta vina izredno pomembne prav sekundarne fermentacijske AS. Sekundarne fermentacijske AS se ne nahajajo v glikozidnih vezanih oblikah. Kot posledica maceracije se korenito spremeni sestava mošta in posledično pogoji za alkoholno fermentacijo samo. Ta sprememba se odraža v spremenjeni končni vsebnosti značilnih sekundarnih fermentacijskih spojin, kot so višji alkoholi in estri, pa tudi na vsebnosti potencialno negativnih AS, kot so hlapni fenoli (Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

1.2 NAMEN DELA

Osnova poskusa je bila določitev vsebnosti prostih AS v vinih sort zelen, rebula in malvazija (*Vitis vinifera* L.) iz vinorodne dežele Primorska. Za vina teh slovenskih sort še ne razpolagamo s podatki o tako širokem naboru senzorično pomembnih aromatičnih spojin. Primerljivi so le redki podatki za sorto malvazija in zelen (Kovačević Ganić in sod., 2005; Radeka, 2005; Vrščaj Vodošek, 2007; Lukić in sod., 2008; Čuš in Baša Česnik, 2009).

Glavni namen raziskave je bila določitev razlik v AS v vinih zelen, rebula in malvazija, ki jih pridelamo z različnimi postopki maceracije. Za nekatere uporabljene postopke maceracije, kot so dodatek jagod v mošt, zamrzovanje grozdja ali drozge ter maceracijo drozge med alkoholno fermentacijo, v literaturi nismo zasledili nobene objave, ki se nanaša na AS v tako pridelanih vinih. V raziskavi bomo določili AS, ki presegajo senzorični prag zaznave in dejansko vplivajo na vonj posameznih vin. Tako bomo lahko s kemijsko analizo in senzorično oceno določili sprejemljive postopke pridelave vina za posamezno sorto. Rezultati raziskave imajo torej izrazito aplikativno vrednost. Z izsledki raziskav lahko izboljšamo kakovost vina z uporabo primernejše tehnologije pridelave in to brez nakupa dodatne opreme v vinarski kleti.

Rezultati raziskave so tudi pomembni zaradi uvajanja analitskih metod za določevanje najširšega spektra AS vina v Sloveniji do sedaj.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Z ozirom na proučevanje različnih tehnik maceracije in pomanjkanje informacij o vsebnosti AS v vinih sort zelen, rebula in malvazija lahko postavimo sledeče delovne hipoteze:

- v vinih sort zelen, rebula in malvazija so za oblikovanje vonja odločilne predvsem primarne in sekundarne AS v različnih razmerjih;
- s postopki maceracije lahko v okviru iste sorte občutno spremenimo razmerja tako med primarnimi kot med sekundarnimi AS;
- s postopki maceracije lahko pridelamo vina, ki se razlikujejo v okviru iste sorte tudi glede vsebnosti fenolnih spojin in osnovnih kemijskih parametrov vina;
- vsi postopki maceracije niso primerni za vse tri sorte, obravnavane v poskusih;
- na osnovi končnih rezultatov vsebnosti AS in fenolnih spojin je možno določiti primernost posameznega postopka pridelave za uporabo v vinarstvu.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OSNOVNA DELITEV AROMATIČNIH SPOJIN V VINU

V vinu so določili že več sto aromatičnih spojin (AS). Vpliv teh spojin na vonj in aromo vina je odvisen tako od koncentracije kot od vrste spojin samih. Koncentracije posameznih AS v vinu dosegajo od nekaj sto mg/L do samo nekaj ng/L, če seveda ne upoštevamo etanola. Kompleksnost AS v vinu je posledica različnih mehanizmov, ki so odgovorni za njihov nastanek (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Ti mehanizmi so:

- presnova grozdja, ki je odvisna od sorte, klime, tal in ampelotehničnih postopko;
- biokemijske reakcije (oksidacija, hidroliza) med maceracijo in stiskanjem pred alkoholno fermentacijo;
- presnova mikroorganizmov med alkoholno in jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo;
- kemijske in encimske reakcije po zaključku fermentacije med zorenjem in staranjem vina.

Enostavnejša delitev AS v vinu glede na izvor oz. čas nastanka je sledeča (Fregoni in Iacono, 1986; Boidron in sod., 1989):

- primarne ali sortne AS, ki izhajajo iz grozdja. Njihova vsebnost v vinu je odvisna od tehnoloških postopkov pred alkoholno fermentacijo. Primarno so to terpeni in alkoholi ter aldehidi s šestimi ogljikovimi atomi. Po Jacksonu (2000) in Ribéreau-Gayonu in sod. (2006a) mednje prištevamo tudi C₁₃ norizoprenoide, metoksipirazine in hlapne tirole;
- sekundarne ali fermentacijske AS, ki so posledica presnove mikroorganizmov predvsem v času alkoholne fermentacije in jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. Najbolj pogosti predstavniki teh spojin so estri višjih alkoholov in maščobnih kislin, višji alkoholi in hlapni fenoli;
- terciarne AS, ki se oblikujejo v času zorenja in staranja vina kot posledica biokemijskih reakcij hidrolize, esterifikacije in oksidacije že omenjenih spojin.

Moderna svetovno prepoznavna bela vina lahko razdelimo v štiri kategorije: nevtralna bela vina, vina sorte chardonnay, vina sorte sauvignon in aromatična bela vina (Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Raziskave AS vina so bile v preteklosti največkrat vezana prav na bela vina z enostavnim in intenzivnim vonjem, ki je odvisen od primarnih ali sortnih AS. Že pred desetletji so določili povezavo sortnega vonja muškatnih sort s terpeni (Ribéreau-Gayon in sod., 1975; Marais, 1983). Tipične AS sorte sauvignon, metoksipirazini in hlapni tioli, so bile določene pozneje, predvsem zaradi njihovih majhnih koncentracij v grozdju in vinu (Bayonove in sod., 1975; Augustyn in sod., 1982; Darriet in sod., 1993). Omenjene AS, značilne za sorto sauvignon, v nadaljevanju dela niso obravnavane.

2.1.1 Aromatična in nearomatična bela vina

Delitev belih sort vina na aromatična in nearomatična ni točno opredeljena. V literaturi se kot aromatična bela vina pojmujejo tista, pri katerih je vonj vezan na posamezne primarne AS. Če izvzamemo sorto sauvignon, so te spojine prav terpeni. Tako Mateo in Jiménez, (2000) delita bela sorte vina na osnovi vsebnosti prostih terpenov določenih z različnimi analitskimi metodami na:

- muškatne aromatične sorte z vsebnostjo prostih terpenov celo do 6 mg/L: dišeči traminec, rumeni muškat, muškat ottonel, muscat de frontignan, muscat of alexandria;
- nemuškatne aromatične sorte z vsebnostjo skupnih terpenov od 1 do 4 mg/L: kerner, traminec, rizvanec, schurebe, zeleni silvanec;
- nearomatične sorte brez opaznega terpenskega vpliva: chenin blanc, chardonnay, verdelho, sivi pinot, sauvignon.

Kar 90 % svetovne pridelave vina predstavljajo nearomatične sorte (Jurado in sod., 2001). Kot nearomatične sorte lahko uvrščamo vse, pri katerih primarne ali sortne AS senzorično ne prevladajo nad sekundarnimi in terciarnimi. Samo v zadnjem desetletju so tudi nearomatične sorte postale predmet obsežnejših raziskav z namenom določitve njihovih tipičnih AS (Reynolds in sod., 1993; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Fernandez Gonzales in sod., 2004; Kovačević Ganić in sod., 2005; Radeka, 2005; Rocha in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Cabrita in sod., 2006; Rocha in sod., 2007; Sanchez Palomo in sod., 2007; Lukic in sod., 2008; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

Med glavne skupine AS, ki vplivajo na vonj in aromo nearomatičnih sort belih vin, prištevamo C₆ alkohole in aldehide, hlapne fenole, višje alkohole, estre višjih alkoholov in maščobnih kislin, terpene, C₁₃ norizoprenoide in še nekatere posamezne aldehide, laktone in ketone.

2.1.1.1 C₆ alkoholi in aldehidi

Tako imenovane C₆ alkohole in aldehide, predvsem 1-heksanol, 1-heksanal, *cis*-3-heksen-1-ol in *trans*-2-heksen-1-ol, povezujemo z izrazitimi zelenimi, travnatimi, rastlinskimi vonji vina, pridelanega iz nezrelega grozdja (Roufet in sod., 1986). Vendar so te spojine skoraj vedno prisotne v vinu in lahko pozitivno vplivajo na vonj predvsem nearomatičnih sort. Najpogosteje določena sta 1-heksanol s pragom senzorične zaznave 1300 µg/L in *cis*-3-heksen-1-ol s pragom senzorične zaznave 400 µg/L (Guth, 1997; Moyano in sod., 2002). Prekomerno se C₆ alkoholi in aldehidi sproščajo s pomočjo oksidacijskih encimov med drozganjem iz zelenih delov grozdja in tudi listov, če jih nismo odstranili (Rapp in sod., 1976). Najprej encimi acilhidrolaze iz membranskih lipidov sprostijo nenasičene C₁₈ maščobne kisline, predvsem linolno in linolensko. Nato lipooksigenaze katalizirajo vezavo kisika na te maščobne kisline in tako se preferenčno na C₁₃ ogljikovem atomu tvorijo peroksidi. Ti peroksidi se cepijo v C₆ aldehide, del pa se jih še reducira z dehidrogenazami v odgovarjajoče C₆ alkohole. Oboji so obstojni in se ohranijo po alkoholni fermentaciji v vinu (Crouzet, 1986; Roufet in sod., 1986). Koncentracija tako nastalih C₆ alkoholov in aldehydov je odvisna od vsebnosti trdnih delcev v moštu, na katerih se nahajajo omenjeni lipidi in encimi. Tvorbo prekomernih količin C₆ alkoholov in aldehydov se med pridelavo vina omeji z bistrenjem mošta takoj po stiskanju (Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Že pred pecljanjem in drozganjem grozdja se v ta namen odstrani liste in nezrelo grozdje. Zaradi omejevanja vpliva C₆ alkoholov in aldehydov se tudi pri pridelavi vina iz premalo zrelega grozdja priporoča stiskanje celega grozdja brez predhodnega drozganja (Ribéreau-Gayon in sod., 2006).

2.1.1.2 Hlapni fenoli

Vina vsebujejo hlapne fenole v koncentracijah od nekaj desetih mikrograma do več sto mikrogramov na liter (Chatonnet in Boidron, 1988; Clarke in Bakker, 2004). Najbolj znani predstavniki hlapnih fenolov so 4-vinilfenol, 4-vinilgvajakol, 4-etilfenol in 4-etilgvajakol. Bela vina vsebujejo predvsem vinilfenole, rdeča pa etilfenole (Chatonnet in sod., 1992a, 1993).

Na splošno etil- in vinil-fenole povezujemo predvsem z negativnim senzoričnimi vplivom (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). 4-vinilfenol z vonjem po zdravilih, kemikalijah ali vodenih barvicah, in 4-etilfenol z vonjem po hlevu, konjih ali mokrem usnju, sta najbolj moteča. 4-vinilgvajakol (2-metoksi-4-vinilfenol) in 4-etilgvajakol sta z vonjem po nageljnovih žbicah, popru, dimu in začimbah bolj sprejemljiva, vendar se vedno pojavljata skupaj z 4-vinilfenolom in 4-etilfenolom. V večini belih vinih se pojavljata predvsem 4-vinilfenol in 4-vinilgvajakol. V razmerju ena proti ena in pri vsebnostih nad 725 µg/L naj bi opazno negativno vplivala na vonj in aromo belih vin (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). Statistično je v skoraj tretjini naključno izbranih belih vin ta vpliv tudi dokazan (Chatonnet in sod., 1993). V literaturi je 4-vinilgvajakol omenjen tudi kot potencialno pozitivna AS z vonjem po popru ali nageljnovih žbicah s senzoričnim pragom zaznave 440 µg/L (Versini, 1985; Marais in Rapp, 1988; Rocha in sod., 2005).

4-vinilfenol in 4-vinilgvajakol v belih vinih nastajata predvsem zaradi encimske dekarboksilacije prostih hidroksicimetnih kislin pod vplivom kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* v času alkoholne fermentacije (Clarke in Bakker, 2004). Temu pojavu se do nedavnega odkritja ustreznih genskih zapisov s klasično selekcijo kvasovk niso mogli izogniti, saj so sevi kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* z nizko aktivnostjo cinamat dekarboksilaze izjemno redki (Grando in sod., 1993). Ker je encim kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* cinamat dekarboksilaza zelo specifičen, lahko kot substrat za tvorbo hlapnih fenolov uporabi le dve prosti hidroksicimetni kislini, *p*-kumarno in ferulno (Chatonnet in sod., 1993). Vsebnost teh dveh kislin v moštu je torej odločilna za tvorbo hlapnih fenolov v belem vinu, nanjo pa lahko vplivamo s postopki predelave grozdja. Poškodbe grozdja med drozganjem, maceracija bele drozge, stiskanje z visokimi tlaki in le grobo predbistrenje mošta poveča vsebnost hidroksicimetnih kislin v vinu (Boulton in sod., 1998; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Tudi dodatek eksogenih encimskih preparatov v drozgo, predvsem pektolitičnih encimov, z namenom obsežnejše in hitrejšje ekstrakcije mošta, se lahko odrazi v večji končni vsebnosti prostih hidroksicimetnih kislin in negativnem vplivu hlapnih fenolov (Dugelay in sod., 1993; Chatonnet in sod., 1992). Encimski preparati iz plesni vrste *Aspergillus niger* vsebujejo cinamoesteraze, ki hidrolizirajo tartratne estre hidroksicimetnih kislin, sproščajo *p*-kumarno in ferulno kislino v času stika z encimskimi preparati. Tako nastaja substrat za tvorbo 4-vinilfenola in 4-vinilgvajakola (Lao in sod., 1997; Dugelay in sod., 1993; Chatonnet in sod., 1992; Günata, 1994). V rdečih vinih so hlapni fenoli, predvsem etilfenoli, še bolj problematični predvsem zaradi posebnosti tehnološkega postopka, stika z leseno posodo in nezaželene aktivnosti kvasovk *Dekkera/Brettanomyces* ter nepotrjeno tudi nekaterih mlečnokislinskih bakterij (Chatonnet in sod., 1992a; Dugelay in sod., 1993; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

2.1.1.3 Višji alkoholi

Alkohole z več kot dvema ogljikovima atomoma imenujemo višji alkoholi. So kvantitativno največja skupina AS v vinu, če ne upoštevamo etanola in očetne kisline (Nykanen, 1986).

Sestavljajo jih alifatski alkoholi s tipičnimi predstavniki 1-propanol, 2-metilpropanol (izobutil alkohol), 2-metilbutanol (amil alkohol), 3-metilbutanol (izoamil alkohol) ter aromatični alkoholi, kot je na primer 2-feniletanol. Največ jih nastane med alkoholno fermentacijo, posamezni pa so prisotni tudi že v grozdju, na primer benzil alkohol in 2-feniletanol (Ramey in sod., 1986; Cabaroglu in sod., 1997; Tamborra in sod., 2004; Cabrita in sod., 2006). 3-oktanol (1-oktan-3-ol) naj bi izhajal iz grozdja, okuženega s plesnijo *Botrytis*, *Aspergillus* ali *Penicillium*.

Med alkoholno fermentacijo poteka njihova sinteza vzporedno s sintezo etanola. Lahko nastajajo iz ustreznih aminokislin po tako imenovani »Ehrlichovi poti« ali pa iz ogljikovih hidratov. V prvi varianti so izhodiščne spojine aminokislina, ki se v encimskih reakcijah transaminirajo, dekarboksilirajo in reducirajo do ustreznega alkohola. Do 35 % višjih alkoholov pa lahko nastane iz ogljikovih hidratov, četudi so aminokislina prisotne v presežku (Guymon in sod., 1961; Weeb in Ingraham, 1963; Ayrapaa, 1971; Nykanen, 1986; Hazelwood in sod., 2008).

Na tvorbo višjih alkoholov odločilno vplivajo tehnološki postopki pridelave vina, kot so temperatura alkoholne fermentacije, izbira vrste in seva kvasovk, količina kisika med alkoholno fermentacijo, pH mošta, bistrost mošta in vsebnost kvasovkam dostopnih dušikovih spojin v moštu (Weeb in Ingraham, 1963; Rankine, 1967).

V vinu se tako med alkoholno fermentacijo tvorijo predvsem 3-metilbutanol, 2-metilbutanol, 2-metilpropanol in 1-propanol. 3-metilbutanol kvantitativno predstavlja več kot 50 % vseh višjih alkoholov (Boulton in sod., 1998). Skupna vsebnost višjih alkoholov v belih vinih redko presega 300 mg/L (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. Večje vsebnosti višjih alkoholov tudi senzorično niso zaželene zaradi njihovega vonja po kemikalijah ali topilu. So pa višji alkoholi izredno pomembni pri tvorbi estrov (Boulton in sod., 1998; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Kot že omenjeno, se benzil alkohol in 2-feniletanol nahajata v manjših količinah že v grozdju. Oba povezujemo s pozitivnim vplivom na senzorično vina, še posebno v sortah z malo terpenov (Selli in sod., 2003; Tamborra in sod., 2004; Rocha in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006). 2-feniletanol z značilnim vonjem po vrtnicah se v večjih količinah tvori predvsem med alkoholno fermentacijo pod vplivom kvasovk (Ramey in sod., 1986; Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2006). Benzil alkohol povezujemo s sladkimi, cvetličnimi vonji. Med maceracijo ali ob dodatku eksogenih encimov se njegova vsebnost poveča, saj se deloma nahaja v vezani glikozidni obliki (Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006).

2.1.1.4 Estri

Estri so izrednega pomena kot AS vina. Zaradi velikega števila prisotnih kislin in alkoholov jih v vinu najdemo več kot 160, vendar se jih velika večina nahaja v za zaznavo premajhnih koncentracijah ali pa so manj hlapni (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Na splošno so estri tipični predstavniki fermentacijskih AS in v nearomatičnih sortah so najpogosteje odločilni za vonj in aromo vina (Etievant, 1993; Ferreira in sod., 1995). Pomemben je tudi njihov sinergistični učinek, saj v skupini izkazujejo večji senzorični vpliv kot posamezni (Etievant, 1993).

Estri nastajajo v reakcijah med karboksilno skupino organskih kislin in hidroksilno skupino alkoholov (alifatski estri) ali fenolov (fenolni estri). Kvantitativno in senzorično so pomembnejši prvi, saj je fenolnih estrov izrazito manj z izjemo vin iz vrste *Vitis labrusca* (Nykanen, 1986; Rapp in Versini, 1996).

Med alifatskimi so senzorično najpomembnejši estri, ki nastanejo v reakcijah med etanolom in nasičenimi maščobnimi kislinami s predstavniki etil heksanoat (etil kaproat), etil oktanoat (etil kaprilat) in etil dekanat (etil kaprat) s prijetnim sadno milnatim vonjem (Etievant, 1993; Ferreira in sod., 1995; Boulton in sod., 1998). Estri s še daljšimi C₁₆ in C₁₈ verigami dišijo po milu, masti in slanini ter s senzoričnega pogleda več niso tako atraktivni (Jackson, 2000). Njihova vsebnost se povečuje z zorenjem in staranjem vina (Clarke in Bakker, 2004).

Enako pomembni kot estri maščobnih kislin so estri, ki nastanejo v reakcijah med očetno kislino in etanolom ali višjimi alkoholi, torej predvsem etil acetat, izoamil acetat, izobutil acetat, 2-feniletil acetat in heksil acetat (Etievant, 1993; Ferreira in sod., 1995; Boulton in sod., 1998; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Prav slednje najpogosteje povezujemo s tipičnim prijetnim, a neobstoječim sadno cvetličnim vonjem belih mladih vin po banani in jabolku. Posledično jih večkrat imenujejo kar sadni estri. Njihov pojav ni odvisen od sorte vina (Singleton in sod., 1975; Houtman in sod., 1980). Skupaj z omenjenimi estri maščobnih kislin izkazujejo tudi pozitiven sinergističen senzorični učinek na vonj vina (Ferreira in sod., 1998a). Sadni estri med zorenjem hidrolizirajo nazaj v ustrezne alkohole in očetno kislino. Hidrolizo vzpodbuja višja temperatura in nižji pH. Estri z daljšimi verigami so bolj stabilni in se celo tvorijo med procesom zorenja (Ramey in Ough, 1980). Izoamil acetat in 2-feniletil acetat pospešeno razpadata ob dodatkih eksogenih encimov (Tamborra in sod., 2004).

Za nastanek estrov je odločilna prav alkoholna fermentacija. S primerno tehnologijo in izpeljavo alkoholne fermentacije lahko vplivamo na tvorbo večjih koncentracij sadnih estrov v mladih vinih. Manjše koncentracije žveplovega dioksida, bistrenje mošta, dovolj virov dušika in odsotnost kisika med fermentacijo pozitivno vplivajo na tvorbo in akumulacijo estrov (Nykanen, 1986; Boulton in sod., 1998; Jackson, 2000). Na splošno nižje temperature alkoholne fermentacije komaj nad 10 °C pospešujejo tvorbo sadnih estrov, predvsem izoamil acetata, izobutil acetata in heksil acetata. Temperature višje kot 15 °C pa omogočajo tvorbo več estrov z daljšimi verigami, kot sta etil oktanoat in etil dekanat (Killian in Ough, 1979). Nekateri sevi kvasovk lahko tvorijo večje količine estrov, vendar istočasno tudi senzorično manj zaželeno (Soles in sod., 1982). V literaturi je omenjena tudi sposobnost kvasovk za direktno pretvorbo 1-heksanola v sadni ester heksil acetat (Boulton in sod., 1998).

Etil acetat, ester očetne kisline in etanola, je v vinu vedno prisoten v koncentracijah med 50 in 100 mg/L. V koncentracijah nad 150 mg/L deluje negativno na kakovost vina s svojim vonjem po lepilu, kisu (Ough in Amerine, 1980). Večje koncentracije so vedno povezane z nezaželeno aktivnostjo očetnokislinskih bakterij *Acetobacter* in *Gluconobacter* na grozdju, v drozgi, moštu ali vinu. Omenjene bakterije direktno tvorijo etil acetat in očetno kislino. Slednja se še neencimsko veže na etanol in posledično se tvori še več etil acetata (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Estri kvantitativno najbolj zastopanih kislin v vinu, torej vinske, jabolčne in mlečne, nimajo vpliva na vonj in aromo vina. Med njimi etil laktat doseže največje koncentracije po jabolčno-mlečnokislinski fermentaciji (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a; Selli in sod., 2006). Njegov prag senzorične zaznave je celo 100 mg/L (Moyano in sod., 2009).

2.1.1.5 Terpeni

Terpeni so značilni predstavniki primarnih ali sortnih AS. V vinu jih proučujejo že desetletja, saj so odločilni za tipičen aromatski profil grozdja in vina v skupini muškato (Ribéreau-Gayon in sod., 1975; Marais, 1983). Terpeni so pomembne aromatične spojine zaradi nižjega praga senzorične zaznave in še dovolj velikih vsebnosti tudi v nearomatičnih sortah vina (Vilanova in Sieiro, 2006). Čeprav so njihove koncentracije manjše kot v muškato sortah, se obsežne raziskave terpenov izvajajo tudi v nearomatičnih sortah grozdja in vina, predvsem z namenom proučevanja vpliva maceracije ali dodatka eksogenih encimov na vonj vina (Reynold in sod., 1993; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Peinado in sod., 2004; Rocha in sod., 2005; Cabrita in sod., 2006; Vilanova in Sieiro, 2006; Rocha in sod., 2007; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

Terpeni so kemijske spojine, ki se sintetizirajo v rastlinah, in imajo vsaj 4000 različnih predstavnikov. Skupna jim je značilna izoprenska enota iz petih ogljikovih atomov 2-metil-1,3-butadien. V grozdju so identificirali približno 40 različnih terpenov, med najbolj aromatične pa uvrščamo monoterpene. Monoterpeni so AS sestavljene iz desetih ogljikovih atomov C_{10} oz. dveh izoprenskih enot. Monoterpeni lahko vsebujejo različne funkcionalne skupine (Jackson, 2000). V postopku pridelave grozdja in vina se kot najbolj pomembne aromatične predstavnike omenja monoterpene v obliki alkoholov oziroma monoterpenske alkohole. Glavni predstavniki so linalool, geraniol, nerol, citronelol in α -terpineol (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Njihovi pragovi senzorične zaznave so zelo nizki, za linalool 15 $\mu\text{g/L}$, za α -terpineol 250 $\mu\text{g/L}$, za citronelol 18 $\mu\text{g/L}$, za nerol 400 $\mu\text{g/L}$ in za geraniol 30 $\mu\text{g/L}$ ter jih povezujemo z vonjem po cvetlicah in citrusih (Guth, 1997; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Kot najbolj aromatična pa se omenjata linalool in citronelol, znan je tudi sinergističen učinek terpenov na senzorično zaznavo vina (Gerbi in sod., 1991; Tamborra, 1992; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006).

Količina monoterpenov v grozdju je odvisna od sorte, zdravstvenega stanja grozdja, stopnje zrelosti, tal, klimatskih pogojev in ampelotehničnih postopkov kot so vršičkanje, delno odstranjevanje listov in izsuševanje (Wilson in sod., 1984; Koblet in sod., 1994; Di Stefano in sod., 1995). Plesen *Botrytis cinerea* zmanjša vsebnost monoterpenov zaradi razgradnje glavnih aromatičnih monoterpenskih alkoholov (Boidron in sod., 1989). Potrjen je tudi vpliv postopkov med pridelavo in nego vina in to predvsem maceracije, ekstrakcije, hidrolize, uporabe bentonita, ne-*Saccharomyces* kvasovk in pektolitičnih encimov (Aryan

in sod., 1987; Gerbi in sod., 1991; Tamborra, 1992; Bayonove in sod., 1993; D'Agostino in sod., 1999; Selli in sod., 2003; Radeka, 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006).

Terpeni so tipične primarne AS, ki so v moštu in vinu prisotne kot proste ali vezane glikozidne oblike (Günata in sod., 1985). Podrobnosti o možnih oblikah so napisane v nadaljevanju v poglavju 2.2 Oblike AS v vinu. Z zorenjem in staranjem vina se razmerja in oblike terpenov spreminjajo. Sicer se lahko v tem času sprosti tudi nekaj dodatnih prostih monoterpenov, predvsem pa so za staranje značilne njihove izgube zaradi oksidacije in transformacij (Marais, 1983; Wilson in sod., 1984). Večino monoterpenov v obliki alkoholov zamenjajo monoterpenski oksidi, ki imajo prag zaznave približno desetkrat višji. Dodatno se pojavijo transformacije kot na primer linalool v α -terpineol, pretvorba terpenov v C_{13} norizoprenoide na primer v β -ionon ali vitispiran ter ciklizacija terpenov v laktone, kot je 2-vinil-2-metiltetrahidrofuran-5-on (Marais, 1983; Wilson in sod., 1984, Boulton in sod., 1998).

2.1.1.6 C_{13} norizoprenoidi

Z oksidativno razgradnjo karotenoidov oziroma terpenov s štiridesetimi ogljikovimi atomi nastanejo derivati z devet, deset, enajst ali trinajst ogljikovimi atomi. Slednje imenujemo C_{13} norizoprenoidi in ti izkazujejo pomembne aromatične lastnosti (Enzel, 1985).

Uvrščamo jih med primarne AS, saj izhajajo iz grozdja (Schreirer in sod., 1976; Simpson in sod., 1977; Simpson, 1978; Sefton in sod., 1989). Po obliki molekule jih delimo na megastigmane ali oksidirane C_{13} norizoprenoide in nemegastigmane (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Najbolj znana predstavnika megastigmanov sta β -damascenon in β -ionon.

β -damascenon s cvetličnim, tropskim vonjem ali vonjem po kuhanih jabolkih in pragom senzorične zaznave 60 ng/L so najprej določili v moštu sort renski rizling, scheurebe in rumeni muškati (Schreirer in sod., 1976; Etievant in sod., 1983). Vplival naj bi na vonj v sortah chardonnay in renski rizling (Simpson in Miller, 1984; Strauss in sod., 1987). Verjetno je v vsaj minimalnih količinah zastopan v vseh sortah (Sefton in sod., 1993; Clarke in Bakker, 2004). Njegova vsebnost splošno niha, več ga je v rdečih sortah kot belih, največ pa ga je v vinih iz sušenega grozdja oziroma »vins doux naturel« in žganih pijačah tipa brandy (Clarke in Bakker, 2004; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). β -ionon z vonjem po vijolicah in pragom zaznave 120 μ g/L so določili v grozdju muškato in nearomatičnih sort (Schreirer in sod., 1976; Etievant in sod., 1983). Novejša literatura kot prag zaznave podaja manjšo koncentracijo 5 μ g/L (Moyano in sod., 2002; Peinado in sod., 2004a). Kvantitativno ga je v belih sortah manj kot v rdečih. V slednjih naj bi bil njegov senzorični vpliv izrazitejši (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Med nemegastigmanske oblike uvrščamo norizoprenoid TDN. Noriziprenoid TDN ali 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalen z vonjem po kerozinu in pragom zaznave 20 μ g/L daje tipično noto staranim vinom sorte renski rizling (Simpson, 1978). Njegova koncentracija se povečuje med staranjem vina v steklenici, v mladih vinih in grozdju pa so njegove vsebnosti minimalne.

Podobno kot terpeni so tudi C_{13} norizoprenoidi večinoma prisotni v grozdju v glikozidni obliki. Lahko se sprostijo pod vplivom eksogenih encimskih prepatov in redko zaradi encimskih kompleksov grozdja ali kvasovk (Günata in sod., 1989; Skouroumounis in Winterhalter, 1994). Zaradi kislega medija vina, lahko iz nekaterih malo aromatičnih C_{13}

norizoprenoidov s transformacijami nastane β -damascenon ali iz nemegastigmanskih oblik norizoprenoid TDN (Skouroumounis in sod., 2000).

2.1.1.7 Aldehidi, laktoni in ketoni

V vinu se skupaj z že omenjenimi C_6 aldehidi nahaja 25 aldehydov, vendar kvantitativno predstavlja acetaldehid 90 % vseh (Jackson, 2000; Clarke in Bakker, 2004). To sekundarno aromatično spojino tvorijo kvasovke predvsem na začetku alkoholne fermentacije in je v vinu vedno prisotna. Na koncu alkoholne fermentacije se del akumuliranega acetaldehida reducira v etanol (Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Acetaldehid je prva spojina, ki se veže na dodani žveplov dioksid. Med zorenjem vina njegova koncentracija narašča zaradi kemijske oksidacije etanola ali zaradi aktivnosti oksidativnih kvasovk in bakterij, če vino ni dovolj zaščiteno pred oksidacijo. Pri tej nezaželeni oksidaciji sta odločilna dostop kisika in višja temperatura kleti (Ribéreau-Gayon in sod., 1976). Acetaldehid z alkoholi v vinu tvori acetale (Clarke in Bakker, 2004). Njegov prag senzorične zaznave je 10 mg/L, pri vsebnostih nad 100 mg/L pa izkazuje negativen vpliv na celokupni vonj vina (Jackson, 2000; Moyano in sod., 2002). Tudi v procesu polnjenja vina v steklenice brez zaščite inertnih plinov se lahko pod vplivom kisika etanol oksidira v acetaldehid, kar sicer prehodno, a negativno vpliva na vonj pravkar stekleničenih vin (Ribéreau-Gayon in sod., 1976; Boulton in sod., 1998; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Kot posledica delovanja kvasovk ali oksidacije v grozdju prisotnega benzil alkohola se v vinu pojavlja tudi benzaldehid (Chatonnet in sod., 1990; Jackson, 2000). V grozdju rdečih sort grozdja so določili večje vsebnosti benzaldehida kot v belih (Cabrita in sod., 2006). Benzaldehid z vonjem po češnjah, marelicah naj bi skupaj z etil cinamatom odločilno oblikoval tipičen vonj rdečih vin, pridelanih s karbonsko maceracijo (Versini in sod., 1983; Ducruet, 1984). Prag senzorične zaznave je postavljen na 2 mg/L (Peinado in sod., 2004a). Ta prag je višji od pričakovanega glede na vsebnosti te spojine v rdečih vinih, pridelanih s karbonsko maceracijo (Versini in sod., 1983, 1984; Ducruet, 1984). Benzaldehid sicer pozitivno vpliva na vonj vina, a se redko nahaja v belih vinih v zaznavnih koncentracijah, kar pa ne velja za posebna vina tipa sherry. Ostali fenolni aldehidi, kot sta vanilin in cinamaldehyd, nastanejo pri razgradnji lignina ob stiku vina z leseno posodo. Fenolni aldehidi se tudi splošno pogosteje pojavljajo v rdečih vinih pridelanih s karbonsko maceracijo (Dourtoglou in sod., 1994).

Laktoni nastajajo z interno esterifikacijo med karboksilno in hidroksilno skupino v isti molekuli. Tako nastanejo ciklični estri ali laktoni. Večina laktonov v vinu so γ -laktoni, ki nastanejo s povezavo hidroksilne skupine na četrtem C-atomu. Laktoni lahko nastanejo med alkoholno fermentacijo ali pa izvirajo iz grozdja in lesene posode (Jackson, 2000; Clarke in Bakker, 2004). Med alkoholno fermentacijo iz prekursorja γ -hidroksibutanojske kisline nastaja najbolj poznan γ -butirolakton, ki je kvantitativno najbolj zastopan lakton in prisoten v vseh vinih. Kot spojino ga povezujemo z vonjem po maslu, usnju in karamelu (Muller in sod., 1973; Peinado in sod., 2004a; Rocha in sod., 2005; Selli in sod., 2006). Prag senzorične zaznave γ -butirolaktona je izredno visok, 20 mg/L ali celo 100 mg/L. V vinu prisotne koncentracije so občutno manjše in tako naj bi bil vpliv γ -butirolaktona na vonj minimalen (Peinado in sod., 2004a; Moyano in sod., 2002; Chavez in sod., 2007). Nasprotno po sklepanju Rocha in sod. (2004, 2005) prag senzorične zaznave γ -butirolaktona še ni določen in predvideva se, naj bi koncentracije nad 4-5 mg/L že lahko vplivale na vonj vina. Sotolon ali 4,5-dimetil-3-hidroksi-2-furanon se pojavlja vinu kot

posledica okužbe grozdja s plesnijo *Botrytis cinerea*. V koncentracijah nad 5 µg/L ima pomembno senzorično vlogo pri oblikovanju vonja in arome vin posebnih kakovosti, predvsem v vinih tipa jagodni izbor, suhi jagodni izbor in ledeno vino (Masuda in sod., 1984). Iz lesene posode izhajajo tudi drugi laktoni, predvsem *trans*- in *cis*- izomere 3-metil-γ-oktalonina, ki jih pogovorno imenujemo tudi whisky laktoni (Chatonnet in sod., 1990; Clarke in Bakker, 2004).

Poleg že omenjenih β-damascenona in β-ionona, ki sta tudi ketona in izhajata iz grozdja, se v vinu največkrat omenja diacetil ali 2,3-butandioen. S svojim vonjem po maslu ali mleku lahko negativno vpliva na vonj vina le v koncentracijah nad 5 mg/L. V takšnih koncentracijah se pojavlja le kot posledica nezaželenega delovanja mlečnokislinskih bakterij *Lactobacillus* in *Pediococcus* v procesu jabolčno-mlečnokislinske fermentacije (Rankine in sod., 1969).

2.2 OBLIKE AROMATIČNIH SPOJIN V VINU

Predvsem primarne AS so prisotne kot proste ali vezane oblike (Günata in sod., 1985a). Kot proste so hlapne in lahko direktno vplivajo na vonj vina. Večina primarnih AS se nahaja vezanih na sladkorno komponento v obliki glikozidnih prekurzorjev in so zato nehlapne (Cabrita in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006). Med temi oblikami prevladujejo monoglikozidni in disaharidni glukozi (Günata in sod., 1985a; Williams in sod., 1989):

- 6-*O*-(α-L-arabinofuranozil)-β-D-glukopiranozidi,
- 6-*O*-(α-L-ramnopiranozil)-β-D-glukopiranozidi,
- 6-*O*-(β-D-apiofuranosil)-β-D-glukopiranozidi in
- β-D-glukopiranozidi.

Ker so glikozidi bolj topni v vodi kot aglikoni sami, se predpostavlja, da so vektorji pri transportu in akumulaciji monoterpenov v rastlinah (Willson in sod., 1984, 1986). Ti glikozidni prekurzorji se med dozorevanjem grozdja akumulirajo v grozdni jagodi (Günata in sod., 1985). V vinih diglikozidne oblike prevladujejo nad monoglikozidi (Williams in sod., 1980; Williams in sod., 1982; Günata, 1985).

Hidroliza glikozidov pod vplivom kislin ali encimov sprosti v mošt ali vino dodatne množine nekaterih terpenskih alkoholov, druge linearne ali ciklične alkohole, kot so 1-heksanol, 2-feniletanol in benzil alkohol, pa tudi C₁₃ norizoprenoide in hlapne fenole (Bayonove in sod., 1975; Günata in sod., 1988; Williams in sod., 1989). Tako aromatične kot nearomatične sorte vsebujejo iste glikozidne prekurzorje, le da jih slednje vsebujejo manj (Cabrita in sod., 2006). Vsebnost prostih in glikozidnih oblik je sortno pogojena in zato predmet številnih raziskav v moštu in vinu (Günata in sod., 1985; Cabaroglu in sod., 1997; Agosin in sod., 2000; Selli in sod., 2003; Kovačević Ganić in sod., 2005; Rocha in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Arevalo Villena in sod., 2006; Cabrita in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006; Vilanova in sod., 2006; Arevalo Villena in sod., 2007; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

V grozdni jagodi se tako proste AS kot glikozidni prekurzorji nahajajo v kožici in mesu (Günata in sod., 1985; Wilson in sod., 1986). Z namenom večje ekstrakcije potencialnih AS se zato že desetletja uporablja v postopku pridelave belih vin tudi maceracija bele drozge pred alkoholno fermentacijo (Arnold in Nobel, 1979; Versini in sod., 1981; Ramey in sod., 1986; Marais, 1987; Marais in Rapp, 1988; Gerbi in sod., 1991; Tamborra, 1992; Reynolds in sod., 1993; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Radeka, 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Nekoliko pozneje kot z maceracijo so s

poskusi z dodatkom eksogenih encimskih preparatov predvsem v vino po alkoholni fermentaciji pospešili sproščanje AS iz glikozidnih prekurzorjev (Aryan in sod., 1987; Bayonove in sod., 1993; D'Agostino in sod., 1999; Tamborra in sod., 2004; Radeka, 2005; Rocha in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Tamborra in sod., 2006; Arevalo Villena in sod., 2007).

2.3 HIDROLIZA VEZANIH GLIKOZIDNIH AROMATIČNIH SPOJIN

Hidroliza vezanih glikozidnih oblik je posledica vpliva kislin (Williams in sod., 1981) in encimov (Williams in sod., 1981; Günata in sod., 1985a; Mateo in Jiménez 2000). Hidroliza vezanih glikozidnih oblik s kislinami ali encimi sprosti proste oblike AS, predvsem monoterpene, C₁₃ norizoprenoide in benzenske komponente (Günata in sod., 1988; Williams in sod., 1983).

Kislinska, torej kemijska hidroliza vezanih glikozidnih oblik je odvisna od pH medija (Williams in sod., 1981). V tem smislu so bili proučevani predvsem monoterpene. Tako so dokazali, da pri pH 3 nastane največ linaloola, nerola in geraniola (Williams in sod., 1981; Williams in sod., 1982). Poleg povečanja vsebnosti prostih aromatičnih oblik so možne posledice kislinske hidrolize tudi dodatne molekularne prerazporeditve in transformacije nastalih spojin. Kislinska hidroliza dejansko povzroča spremembe, ki potekajo med zorenjem in staranjem vina zaradi kislega pH vina (Mateo in Jiménez, 2000). Spremembe zaradi kislinske hidrolize med predelavo grozdja na vsebnost prostih AS so na splošno počasnejše kot tiste med alkoholno fermentacijo (Ugliano in sod., 2006; Pogorzelski in Wilkowska, 2007).

Encimska, torej biokemijska hidroliza, poteka v dveh stopnjah. V prvi stopnji encimi α -L-ramnozidaza, α -L-arabinozidaza ali β -D-apiozidaza odcepijo terminalni sladkor. Tako se sprostijo ramnoza, arabinoza ali apioza in ustrezni β -D-glukozidi. V drugi stopnji encim β -glukozidaza odcepi še hlapno komponento (Günata in sod., 1988; Mateo in Jiménez, 2000).

Sproščanje prostih hlapnih oblik zaradi delovanja encimov se v postopku pridelave vina dogaja predvsem v času maceracije in alkoholne fermentacije (Versini in sod., 1987; Tamborra 1992; Delcroix in sod., 1994; D'Agostino in sod., 1999). Encimi glikozidaze, ki v teh reakcijah sodelujejo, izhajajo iz grozdja, kvasovk ali komercialnih encimskih preparatov (eksogenih β -glukozidaz).

2.3.1 Glikozidaze grozdja

Tako aromatične kot nearomatične sorte grozdja imajo prisotne β -glukozidaze. Največja β -glukozidazna aktivnost je lokalizirana prav v jagodnih kožicah, srednja v mesu in je najmanjša v soku (Aryan in sod., 1987). Na splošno aktivnost β -glukozidaz narašča z dozorevanjem grozdja in je največja v času tehnološke zrelosti (Biron in sod., 1988).

β -glukozidaze grozdja omejuje njihova stabilnost in slabša aktivnost pri pH mošta in vina, saj je optimalni pH 5 (Lecas in sod., 1991). Aktivnost β -glukozidaz dodatno omejuje večja vsebnost glukoze v moštu (Bayonove in sod., 1993). β -glukozidaze grozdja tudi niso sposobne hidrolizirati vezi med sladkorji in terciarno alkoholno skupino in s tem sprostivše linaloola in α -terpineola iz glikozidne oblike. Lahko pa hidrolizirajo monoglikozide

terpenov s primarno alkoholno skupino, torej geraniol, nerol in citronelol (Aryan in sod., 1987; Günata in sod., 1990). Proučevane so bile tudi možnosti večjega izkoristka encimov grozdja v smislu izboljšanja vonja vina z modifikacijo klasičnega postopka predelave grozdja (Garcia Moruno in sod., 2000).

V primeru prisotne plesni *Botrytis cinerea* je aktivnost β -glukozidaz izrazito manjša kot pri zdravem grozdu. Vzrok je najverjetneje v tvorbi glukonske kisline s strani plesni *Botrytis cinerea*, ki skupaj s svojim laktonom (glukonolakton) inhibitorno deluje na β -glukozidaze (Günata in sod., 1989).

2.3.2 Glikozidaze kvasovk

Kvasovke posedujejo v periplazmatskem prostoru bogat encimski kompleks. Še pred desetletji kvasovkam niso pripisovali posebnega vpliva na sproščanje prostih AS (Günata in sod., 1986). Med alkoholno fermentacijo je aktivnost β -glukozidaz omejena predvsem zaradi pH, ki je daleč od optimalnega pH 5. Pri pH 3,5 je aktivnost β -glukozidaz do desetkrat nižja. Posledično naj bi se sprostilo premalo prostih AS in vezane glikozidne oblike naj bi se med alkoholno fermentacijo le malo spreminjale (Günata in sod., 1986; Darriet in sod., 1988).

Nasprotno so Delcroix in sod. (1994), v svoji raziskavi dokazali aktivnost β -glukozidaz, α -arabinozidaz in α -ramnozidaz pri treh različnih sevih kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*. Ti encimi dosežejo maksimalno aktivnost v eksponencialni fazi rasti. Največjo encimsko aktivnost so pri vseh treh sevih kvasovk izkazovale prav β -glukozidaze. Tudi aromatski profil terpenov in hlapnih fenolov tako pridelanih vin je bil analitsko in senzorično zelo podoben.

Vpliv nastalega etanola med alkoholno fermentacijo in dodanega žveplovega dioksida do 50 mg/L na aktivnost β -glukozidaz kvasovk je majhen. Prav tako je v moštu vpliv inhibicije encimov zaradi večje koncentracije glukoze manjši, saj se β -glukozidaze nahajajo v periplazmatskem prostoru (Darriet in sod., 1988; Delcroix in sod., 1994).

Še pozneje so dokazali, da lahko različni sevi kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* s svojim encimskim kompleksom v vinu ali umetnem mediju sprostijo terpene, C13 norizoprenoide ter celo derivate benzena (Fernandez Gonzales in sod., 2004; Moio in sod., 2004; Ugliano in sod., 2006). Za razliko od β -glukozidaz iz grozdja imajo ti encimi iz kvasovk sposobnost hidrolize vseh glikozidov terpenov, tako tistih, ki imajo kot aglikon primarni alkohol geraniol, nerol ali citronelol, kot tistih s terciarnim alkoholom, torej linalool ali α -terpineol (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Vpliv kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* je še posebno kompleksen, saj so poleg sproščanja prostih AS iz glikozidov sposobne tudi nadaljnjih transformacij nastalih aglikonov. Tako lahko tvorijo citronelol iz geraniola in nerola (Dugelay in sod., 1992). Podobno lahko spremenijo geraniol v geranil acetat, citronelil acetat in citronelol, nerol v neril acetat, geraniol v linalool in ciklizacijo nerola v α -terpineol pri pH mošta (Di Stefano in sod., 1995).

S potrjenim vplivom kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* na vsebnost AS v vinu so dokazali celo sposobnost *de novo* sinteze terpenov s strani kvasovk. Tako so dokazali sposobnost kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*, da sintetizirajo linalool in citronelol tudi v mediju brez prisotnih glikozidov in to v količinah, pomembnih za senzorično zaznavo (Carrau in sod., 2005). Sinteza terpenov je v pozitivni korelaciji z razpoložljivim kisikom,

nenasičenimi maščobnimi kislinami in dušikom za hrano kvasovk med alkoholno fermentacijo.

Tudi ne-*Saccharomyces* kvasovke izkazujejo sposobnost hidrolize z lastnimi glikozidazami (Zoecklein in sod., 1997). Kot posebno zanimiva se že dolgo preučuje kvasovka *Torulasporea delbrueckii* (Cabrera in sod., 1988). Podobno so dokazali sposobnost hidrolize glikozidov in transformacije aglikonov terpenov, C13 norizoprenoidov, benzenskih derivatov in hlapnih fenolov pri kvasovkah *Metschnikowia pulcherrima*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Pichia kluyveri* in *Hanseniaspora uvarum*. Kot najbolj uspešna se je izkazala prav slednja (Fernandez Gonzales in sod., 2003).

Herrero in sod. (2008) so z metaboličnim inženiringom v kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* vsadili gen *Clarkia breweri* za večjo sintezo linaloola. Z uporabo te rekombinantne kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* za alkoholno fermentacijo se je povečala tvorba linaloola nad prag senzorične zaznave.

2.3.3 Eksogene glikozidaze

V postopku pridelave vina se uporabljajo encimske mešanice pektinaz, celulaz, glukoizidaz in glukanaz z namenom doseganja večjega izplena mošta, boljše obarvanosti vin, izboljšanja aromatičnih lastnosti in preprečevanja motnosti zaradi prisotnosti glukanov v vinih posebnih kakovosti (Boulton in sod., 1998; Jackson, 2000). Encimske mešanice oziroma komercialne encimske preparate za enološko uporabo praviloma pridobivajo iz plesni *Aspergillus niger* (Boulton in sod., 1998; Mateo in Jiménez, 2000).

Uporabljajo se z namenom povečanja in izboljšanja aromatskega potenciala v ciljnih aromatičnih sortah, kot so različni muškati, renski rizling, dišeči traminec in podobne. Kot najbolj primerne se priporoča β -D-glukopiranozidaze, α -L-arabinofuranozidaze, α -L-ramnopiranozidaze in β -D-apiofuranozidaze (Cordonnier in sod., 1989). Z uporabo takšne mešanice encimov so dosegli povečanje koncentracij posameznih terpenov, C13 norizoprenoidov in hlapnih fenolov celo do 2000 % v aromatičnih in nearomatičnih sortah vin (Günata in sod., 1990; Bayonove in sod., 1993).

Aktivnost teh encimov je skoraj popolna pri pH 3-4 in narašča v temperaturnem območju 10-20 °C. Nasprotno pa inhibitorno delujeta koncentracija prostega žveplovega dioksida nad 20 mg/L in prisotnost glukoze. Ta omeji uporabo β -glukoizidaz iz *Aspergillus niger* predvsem za suha vina oz. na dodatke po zaključeni alkoholni fermentaciji (Günata in sod., 1990; Boulton in sod., 1998; Pogorzelski in Wilkowska, 2007).

Študije so potrdile uspešnost dodatka eksogenih encimov pri ciljnih sortah vina:

- Aryan in sod. (1987) so na sorti muscat of alexandria dokazali izrazito večjo sposobnost cepljenja terpenskih glikozidov s pomočjo komercialnih eksogenih encimov v primerjavi z grozdju lastnimi encimi;
- z dodatkom eksogenih encimov so pri sortah muškat ottonel, dišeči traminec, renski rizling, syrah, sauvignon in moscato di fortignan dosegli izredno zmanjšanje vsebnosti razpoložljivih glikozidnih oblik in posledično do 2000 % večjo vsebnost posameznih prostih AS. Na splošno so bile tudi senzorične spremembe vin opisane kot pozitivne (Bayonove in sod., 1993);
- z dodatkom komercialnih eksogenih encimov so v sorti muscat of alexandria povečali vsebnosti prostih terpenov, posameznih celo do 600 % (D'Agostino in sod., 1999);

- s primerjavo delovanja dveh komercialnih encimskih preparatov so v zvrsti vina iz sort chardonnay, verdea in aleatico določili hitro povečanje prostih terpenov, eden od obeh preparatov pa je zmanjšal vsebnost izoamil acetata (Tamborra in sod., 2004);
- z dodatkom komercialnih eksogenih encimov so v sorti maria gomes dosegli 9 % povečanje prostih AS predvsem na račun povečanja vsebnosti terpenov, hlapnih fenolov, aromatičnih alkoholov ter celo estrov s pozitivnim senzoričnim vplivom, primerjalno pri sorti bical pa so bile spremembe pri encimsko tretiranih vinih minimalne (Rocha in sod., 2005);
- z dodatkom komercialnih eksogenih encimov so v sortah airen, macabeo, albillo in chardonnay določili pozitivne analitske in senzorične spremembe tako primarnih kot sekundarnih AS, ki so se med seboj opazno razlikovale glede na sorto (Sanchez Palomo in sod., 2005);
- z dodatkom komercialnih eksogenih encimov so v sorti malvasia del chianti povečali vsebnost terpenov, benzaldehida in celo nekaterih sekundarnih AS (Tamborra in sod., 2006);
- sorte renski rizling, rumeni muškati in airen so po alkoholni fermentaciji tretirali s komercialnim encimskim preparatom in encimskim preparatom iz kvasovke *Debaryomyces pseudopolymorphus*. Analitsko in senzorično so dokazali podobno uspešnost obeh preparatov pri cepljenju glikozidno vezanih AS. Določili so spremembe tako na vsebnosti terpenov kot tudi nekaterih estrov in aromatičnih alkoholov (Arevalo Villena in sod., 2007).

Dodatek encimskih preparatov pektinaz in celulaz med maceracijo, torej pred alkoholno fermentacijo, je primarno namenjen večjemu izplenu mošta. Posledično se, kot je opisano v nadaljevanju, v mošt že zaradi fizikalnih sprememb lahko ekstrahira tudi več glikozidnih vezanih oblik in prostih AS (Versini in sod., 1981; Tamborra in sod., 2006). Vendar večja vsebnost vezanih glikozidnih oblik v moštu ali vinu še ne pomeni tudi več prostih oblik v vinu (Moio in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2007).

Dodatek komercialnih encimov pa ima lahko tudi negativni vpliv. Že Singleton in sod. (1985) poročajo o oksidaciji in spremembi barve belih sort (porjavitvi) zaradi prisotnih encimov polifenoloksidaz ob dodatku komercialnih encimskih preparatov v mošt. Čistost encimskih preparatov je odločilna. V preparatih prisotne esteraze, oksidaze in hidrolaze kvarno vplivajo na senzorične zaznave in povzročajo porjavitve vina. Cinamoesteraze sprostitjo hidroksicimetne kisline, predvsem *p*-kumarno in ferulno kislino. Te lahko kvasovke *Saccharomyces cerevisiae* s svojimi encimi cinamat dekarboksilazami spremenijo v nezaželeno hlapno vinilfenole, kot sta 4-vinilfenol in 4-vinilgvajakol (Chatonnet in sod., 1992; Dugelay in sod., 1993; Günata, 1994; Lao in sod., 1997). Zato je priporočljiva kontrola vsakega novega encimskega preparata na tvorbo nezaželenih hlapnih fenolov (Arevalo Villena in sod., 2007).

2.4 MACERACIJA BELEGA GROZDJA

Pri pridelavi belih vin lahko predvsem s postopki pred alkoholno fermentacijo odločilno prispevamo k izrazitejši aromatici posameznih sort (Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Najbolj znan je prav postopek maceracije belega grozdja.

Maceracija belega grozdja je postopek, v katerem dopustimo stik tekočega in trdnega dela zdrozgane grozdne jagode v kontroliranih razmerah pred samim stiskanjem, z namenom ekstrakcije AS, bolj polnega telesa in boljšega potenciala za zorenje ali staranje vina. V času maceracije encimi iz jagodnih celic pospešijo sproščanje spojin, vezanih v kožicah, mesu in pečkah (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006).

Maceracija se v postopku pridelave belih vin ne izvaja redno in se celo striktno odsvetuje v primeru poškodovanega in različno zrelega grozdja. Odsvetuje se tudi maceracija brez kontrole temperature in časa trajanja postopka. V takšnih primerih lahko vodi do napak in bolezni vina, kot so vonj po zelenem iz nezrelega grozdja, trpkost in grenkoba fenolnih spojin iz trdnih delov grozdja, vonj po plesni zaradi gnilega grozdja in hitre oksidacije mošta (Ong in Nagel, 1978; Ribéreau-Gayon in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006).

V primeru zdravega in zrelega belega grozdja se maceracija pogosto uporablja. Primerna sorta, velika vsebnost sladkorja v grozdju, bogata aromatska struktura in relativno nizek pH so osnovne zahteve zanjo. Ob izpolnjenih omenjenih zahtevah maceracija pozitivno vpliva na senzorično kakovost nekaterih sort, kot so to sauvignon, chardonnay, semillon in različne muškatne sorte (Dubourdiu in sod., 1986).

Tehnološki postopek maceracije belega grozdja je enostaven in poceni. Grozdju se odstrani peclje, jagode zdrozga in prestavi v maceracijsko posodo, ki je lahko tudi pnevmatska stiskalnica. Priporočljiva je zaščita pred oksidacijo z inertnimi plini. Delno inhibicijo oksidacijskih encimov dosežemo tudi z uporabo »hladne maceracije«, vendar moramo drozgo ohladiti na želeno temperaturo hitro, maksimalno v treh urah, saj postopek poteka brez dodatka žveplovega dioksida (Gerbi in sod., 1991; Tamborra, 1992; De Rosa, 1993). Če maceracija poteka v anaerobnih razmerah, se dodatek žveplovega dioksida odsvetuje (Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Drugi avtorji dopuščajo možnost dodatka žvepla v primeru rahlo gnilega oz. poškodovanega grozdja do maksimalno 50 mg/L z namenom zaviranja rasti nezaželenih mikroorganizmov in pospešitve izločanja spojin iz celic (Jackson, 2000). Po koncu maceracije odstranimo samotok in stisnemo preostalo drozgo.

Maceracija povzroči zmanjšanje vsebnosti kislin (tvorba soli s kalijem iz kožic) in dvig pH v odvisnosti od sorte in lege vinograda, povečanje vsebnosti suspendiranih delcev, fenolnih spojin, aminokislin in polisaharidov (Dubourdiu in sod., 1986). Maceracija direktno in indirektno izboljša sposobnost mošta za alkoholno fermentacijo in posledično rast kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*, predvsem zaradi več prisotnih suspendiranih delcev ter obsežnejše ekstrakcije nasičenih dolgoveržnih maščobnih kislin, kot so palmitinska, oleinska, linolenska in linolna (Ollivier in sod., 1987).

2.4.1 Aromatične spojine belih vin pridelanih z maceracijo

Maceracija belega grozdja ima že kot osnovni namen povečanje vsebnosti predvsem primarnih sortnih AS, tako v prosti kot vezani glikozidni obliki. Ker maceracija tudi spremeni sestavo mošta in s tem direktno vpliva na kvasovke, pa tudi posledično na tvorbo sekundarnih in terciarnih AS (Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

Že Arnold in Nobel (1979) sta ugotovila, da maceracija opazno izboljša vonj sorte chardonnay brez moteče grenkobe in trpkosti fenolnih spojin. Zanimivejše raziskave na področju AS in maceracije pri pridelavi belih vin so:

- poskus na sorti renski rizling z maceracijo drozge pri 15 °C za 22 ali 44 h je v primerjavi s kontrolo pokazal, da tako dobimo v vinu celo do 45 % večje vsebnosti skupnih terpenov pri krajši maceraciji. Daljša 44 h maceracija ni dodatno povečala vsebnosti terpenov. Pozitiven senzorični vpliv maceracije na vino je bil potrjen, kot najboljše so bila ocenjena vina pridelana z 22 h maceracijo (Versini in sod., 1981);
- poskus na sorti chardonnay z enodnevno maceracijo drozge pri štirih različnih temperaturah maceracije od 9 °C do 30 °C je pokazal, da se z naraščanjem temperature v moštu povečuje vsebnost benzil alkohola in 2-feniletanola, zmanjša pa vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov. V vinih pridelanih s temperaturo maceracije 9 °C so določili več estrov, manj višjih alkoholov pa v vinih pridelanih z višjo temperaturo maceracije 15 °C (Ramey in sod., 1986);
- poskus na sorti dišeči traminec z maceracijo drozge pri 10 °C in 18 °C za 4 ali 15 h je v primerjavi s kontrolo pokazal, da tako dobimo predvsem v moštu in v manjšem obsegu tudi v vinu večje vsebnosti terpenov linaloola, geraniola, citronelola v primerjavi s postopkom brez maceracije. Pozitiven senzorični vpliv večjih koncentracij terpenov se je odrazil predvsem v krajši 4 h maceraciji, daljša maceracija je bila ocenjena slabše predvsem zaradi, po mnenju avtorja, vzporedne nezaželene ekstrakcije fenolnih spojin (Marais, 1987);
- poskus na sorti dišeči traminec z maceracijo drozge pri 0 °C in 20 °C za 4 ali 15 h je v primerjavi s kontrolo pokazal naraščanje vsebnosti terpenov z dolžino postopka in naraščanjem temperature. Senzorično so bila najboljše ocenjena vina, macerirana pri nižji temperaturi, zaradi manjše vsebnosti fenolnih spojin (Marais in Rapp, 1988);
- poskus na sorti rumeni muškati z maceracijo drozge pri 3 °C za 18 h je v primerjavi s kontrolo pokazal, da tako dobimo celo za 30 % večjo vsebnost skupnih terpenov v moštu in pozneje v vinu. Ta razlika se je pri nadaljnjih postopkih pridelave vina (pretoki, čiščenje, stabilizacija in stekleničenje) občutno zmanjšala in senzorično ni prepričala vseh pokuševalcev (Gerbi in sod., 1991);
- poskus na sortah moscato bianco in moscatello selvatico z maceracijo drozge za 10 in 20 h je v primerjavi s kontrolo pokazal naraščanje vseh glavnih terpenov v vezani in prosti obliki sorazmerno s trajanjem postopka tako v moštu kot v vinu. Večje vsebnosti 1-heksanola, benzil alkohola in 2-feniletanola v moštu so bile potrjene pri najdaljši 20 h maceraciji. Senzorično so bila po enem letu najboljše ocenjena vina z najdaljšo maceracijo, po dveh letih pa vino kontrola, pridelano brez maceracije (Tamborra, 1992);
- poskus z različno dolgimi hladnimi maceracijami drozge pri 2 °C sort rizvanec, kerner, optima in siegerrebe je pokazal večjo vsebnost prostih in vezanih terpenov v moštih po maceraciji. Senzorično so pokuševalci lahko razlike med kontrolo brez maceracije in maceriranimi vini določili le pri sorti siegerrebe (Reynolds in sod., 1993);
- poskus na nearomatični sorti emir z maceracijo drozge pri 16 °C za 6 h je v primerjavi s kontrolo brez maceracije pokazal, da tako v vinu dobimo več prostih in vezanih C₆ alkoholov in aldehydov, terpenov, hlapnih fenolov in C₁₃ norizoprenoidov. Večja je tudi koncentracija estrov. Vina z maceracijo so se sicer senzorično razlikovala od kontrole, vendar ni podatka o tem, ali so bila tudi bolje ocenjena (Cabaroglu in sod., 1997);

- poskus na sorti muscat of bornova in nearomatični sorti narice z maceracijo pri 18 °C za 12 h je v primerjavi s kontrolo pokazal, da v moštu po maceraciji dobimo več prostih in vezanih AS, predvsem terpenov, 1-heksanola, benzil alkohola in 2-feniletanola (Selli in sod., 2003);
- poskus na sortah airen in macabeo z maceracijo drozge pri 10 °C za 24 h je pokazal večjo vsebnost višjih alkoholov, estrov in prostih terpenov v maceriranem vinu sorte airen. V sorti macabeo je bila vsebnost estrov večja v kontrolnem vinu. Za sorto airen je bil potrjen pozitiven senzorični vpliv maceracije (Peinado in sod., 2004a);
- poskus na sorti malvazija z maceracijami drozge pri 7 °C in 20 °C in dolžino 10, 20 in 30 h, je pokazal največjo vsebnost prostih in skupnih terpenov v moštu in vinu, pridelanem z maceracijo pri 7 °C in dolžino 30 h. Senzorično so bila najbolje ocenjena vina, pridelana s hladno maceracijo pri 7 °C (Radeka, 2005);
- poskus na sorti muscat à petits grains z maceracijo drozge pri 18 °C za 15 ali 23 h je v primerjavi z kontrolo pokazal, da tako v vinu dobimo manj višjih alkoholov in estrov, zato pa več prostega 1-heksanola, linaloola in benzil alkohola, v vezani obliki pa tudi α -terpineola, nerola in citronelola. Senzoričen vpliv maceracije je bil pozitiven tako v smislu izrazitejše sortne arome kot bolj polnega telesa in nižje kislosti (Sanchez Palomo in sod., 2006);
- poskus na sorti muscat of bornova z maceracijo pri 15 °C za 6 ali 12 h je v primerjavi s kontrolo pokazal, da macerirana vina vsebujejo več estrov, hlapnih fenolov in prostih terpenov. Pozitiven senzoričen vpliv na aromo vina je bil potrjen le za 6-urno maceracijo (Selli in sod., 2006);
- poskus na nearomatični sorti albillo je pokazal, da z maceracijo drozge pri 18 °C za 15 ali 23 h dobimo v vinu v primerjavi s kontrolo manj višjih alkoholov, zato pa več estrov, vanilina, benzil alkohola, C₆ alkoholov in aldehydov, terpenov in C₁₃ norizoprenoidov, tako v prostih kot v vezanih oblikah. Ugotovili so, da samo povečanje vezanih glikozidnih oblik v vinu še ne pomeni nujno tudi več prostih aromatičnih oblik. Potrjen je bil pozitiven senzorični vpliv maceracije na aromo vina zaradi večje svežine in sadnosti (Sanchez Palomo in sod., 2007);
- poskus s sorto listan blanco je pokazal, da z maceracijami pri 10 °C za 4, 8 in 12 h obogatimo mošt z vezanimi in prostimi terpeni, hlapnimi fenoli in derivati benzena, ki se pa v vinu ne odrazijo dovolj. V vinu se je povečala vsebnost predvsem hlapnih fenolov in C₁₃ norizoprenoidov v primerjavi s kontrolo brez maceracije, vendar tudi brez pomembnega vpliva na sensoriko (Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

Iz zgornjih primerov je razvidno, da je vpliv maceracije na vino odvisen od izbrane sorte in razmer med maceracijo, predvsem temperature in časa trajanja postopka (Sanchez Palomo in sod., 2006). Ciljno pa vedno želimo večjo ekstrakcijo AS ob minimalnem povečanju fenolnih spojin:

- krajša maceracija pri nižjih temperaturah zmanjša vsebnost fenolnih spojin v moštu in posledično grenkobo ter trpkost v vinu (Ramey in sod., 1986; Marais in Rapp, 1988);
- z daljšo maceracijo pri višji temperaturi pridobimo vina s temnejšo barvo in bolj polnim okusom (Ramey in sod., 1986);

- na splošno se priporoča do 20 h maceracija pri temperaturah 10-15 °C (Singleton in sod., 1975; Versini in sod., 1981; Marais, 1987, Ribéreau-Gayon in sod., 2006, Selli in sod., 2006);
- za muškatne sorte se priporoča tako imenovana »hladna maceracija« pri še nižji temperaturi 5-8 °C, ki še dodatno zaustavi aktivnost encimov in mikroorganizmov, ter daljšim časom postopka od 10 do 20 h (Marais in Rapp, 1988; Gerbi in sod., 1991; Reynolds in sod., 1993);
- daljša maceracija se uporablja tudi za manj aromatične sorte grozdja (Gerbi in sod., 1991; De Rosa, 1993; Tamborra, 1992; Radeka, 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007).

Predvsem v smislu večjega izplena mošta se v pridelavi belih vin lahko dodaja eksogene pektolitične encime v drozgo med maceracijo. Posledično se zaradi hitrejše ekstrakcije, sprememb v sestavi mošta in sprostitve nekaterih spojin iz vezanih glikozidnih oblik spremenijo tudi vsebnosti AS. Dodatek eksogenih encimov v drozgo sorte renski rizling je povečal vsebnost skupnih terpenov v moštu do 75 % in vinu do 25 %, v primerjavi s kontrolo brez maceracije in dodatka encimov. Senzorično je bilo vino z dodatkom encimov ocenjeno podobno kot vino z enako dolgo maceracijo, a brez dodatka eksogenih encimov (Versini in sod., 1981). Dodatek encimov v drozgo je v poskusu s sorto malvazija del chianti minimalno povečal vsebnost estrov. Pozitiven senzorični vpliv dodatka encimov v drozgo je bil potrjen s strani pokuševalcev (Tamborra in sod., 2006). Kot že prej omenjeno, se v smislu izboljšanja aromatičnih lastnosti vina eksogene β -glukozidaze dodaja pogosteje po zaključku alkoholne fermentacije.

2.5 POSEBNE TEHNIKE MACERACIJE

Za razliko od klasične maceracije poznamo pri pridelavi belih vin še nekaj posebnih tehnik, pri katerih se aromatične lastnosti vina lahko spremenijo. Ker tudi pri njihovi uporabi kot pri klasični maceraciji poteka podaljšan stik tekočega in trdnega dela grozdne jagode v kontroliranih razmerah pred stiskanjem ali celo med alkoholno fermentacijo, jih bomo v nadaljevanju obravnavali kot posebne tehnike maceracije.

2.5.1 Karbonska maceracija v atmosferi ogljikovega dioksida

Maceracija v atmosferi ogljikovega dioksida ali na kratko karbonska maceracija je primarno postopek pridelave rdečih vin, namenjenih hitri konzumaciji in je tipična za pokrajino Beaujolais v južni Franciji. Predvsem je zanimiva za rdeča vina v smislu poudarjanja specifičnega sadnega vonja ob manjši vsebnosti fenolnih spojin.

2.5.1.1 Karbonska maceracija v pridelavi rdečih vin

Postopek pridelave rdečih vin s karbonsko maceracijo tipično poteka v dveh stopnjah (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006):

- v prvi stopnji se fermentacijsko posodo napolni s celim grozdom in ustvari anaerobno atmosfero z ogljikovim dioksidom tehničnega izvora. Vzdržuje se temperaturo med 20-30 °C približno 7-14 dni. Zaradi anaerobne presnove

(fermentacije) celih jagod in deloma alkoholne fermentacije na dnu iztečenega mošta pod vplivom kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* se posoda dopolnjuje in nasiti z ogljikovim dioksidom. Jagode se hitro mehčajo, razkrajajo in izlužene spojine se raztapljajo v soku;

- v drugi stopnji se fermentacijsko posodo izprazni in drozgo stisne. Združita se samotok in prešanec ter nadaljuje z alkoholno fermentacijo pod vplivom kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*. Alkoholni fermentaciji redno sledi jabolčno-mlečnokislinska fermentacija.

Glavna posebnost tega postopka je anaerobna presnova v nestisnjeni, torej celi grozdni jagodi, ki se nahaja v atmosferi ogljikovega dioksida. Ta presnova in z njim povezani fizikalni in kemijski procesi se dogajajo samo v prvi stopnji karbonske maceracije izključno pod vplivom grozdju lastnih encimov in ne pod vplivom encimov kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* (Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Intenzivnost presnove je odvisna od sorte, zrelosti grozdja, temperature ter dolžine maceracije (Flanzy in sod., 1987). Intenzivnost je tudi manjša, če se jagoda nahaja v moštu, kot če se ta nahaja v atmosferi ogljikovega dioksida. Encimski kompleks grozdne jagode omogoča anaerobno presnovo in posledično tvorbo etanola le v omejenih koncentracijah.

Glavne spremembe grozdne jagode v času prve stopnje karbonske maceracije so (Ducruet, 1984; Flanzy in sod., 1987, Versini in Tomasi, 1983; Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006):

- nastanek do največ 2 vol.% etanola, ki se hitreje tvori pri višji temperaturi postopka;
- vzporedna tvorba drugih spojin, kot so glicerol, acetaldehid, očetna kislina, jantarna, fumarna in šikimska kislina;
- zmanjšanje skupnih kislin jagode predvsem na račun razgradnje od 15-60 % jabolčne kisline, odvisno od sorte, zrelosti grozdja in temperature;
- povečanje koncentracije metanola zaradi cepljenja celičnih sten;
- zmanjšanje koncentracije askorbinske kisline;
- mehčanje in pokanje celičnih sten ter posledičen stik trdnih delov jagode s sokom, kar pomeni maceracijo in ekstrakcijo fenolnih pa tudi dušikovih spojin, kot so amoniak in proste aminokisliline v soku;
- večanje koncentracije fenolnih spojin predvsem zaradi ekstrakcije antocianov (hitro obarvanje soka), tanini se izločajo počasneje.

Tako so vina, ki nastanejo po končani drugi stopnji karbonske maceracije, senzorično drugačna od klasično pridelanih vin. Na splošno vsebujejo manj alkohola, več očetne kisline in manj spojin, ki izhajajo iz trdnih delov grozdne jagode (Flanzy in sod., 1987). Senzorično so vina pitna, gladka in sadno aromatična, vendar včasih grenka in prazna brez sortnih značilnosti (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Rdeča vina pridelana s karbonsko maceracijo niso namenjena dolgemu zorenju ali staranju in se porabijo hitro, v roku desetih mesecev po trgatvi.

2.5.1.2 Aromatične spojine rdečih vin pridelanih s karbonsko maceracijo

Postopek karbonske maceracije je odločilen za pridelavo rdečih vin s specifičnim sadnim vonjem, ki je bistveno drugačen od tradicionalno pridelanih rdečih vin. Natančen nastanek in izvor tega vonja ostaja neznan. Predpostavlja se, da je za njen razvoj nujno sodelovanje

tako anaerobne presnove jagode kot presnova kvasovk in celo mlečnokislinskih bakterij (Peynaud in Guimberteau, 1962; Flanzly in sod., 1987).

Nekateri avtorji postopku karbonske maceracije pripisujejo nastanek vin z poenotenim vonjem ne glede na sorto (Ribéreau-Gayon in sod., 1976). Posebno za nevtralne rdeče sorte, kot na primer gamay je znano, da ta postopek doda izrazito sadnost. Sortno značilnim rdečim sortam, kot sta na primer merlot in cabernet sauvignon, pa postopek karbonske maceracije maskira primarni vonj, ki bi nastal med tradicionalno pridelavo rdečih vin (Flanzly in sod., 1987; Jackson, 2000).

Ducruet (1984) ter Versini in Tomasi (1983) predpostavljajo, da služijo nekatere nastale kisline, predvsem jantarna in šikimska, kot prekurzorji za nastanek AS. V primerjavi postopkov pridelave so za sorto merlot določili večje koncentracije benzaldehida, etil kaprata, vinilbenzena in 1-oktanol v vinih, pridelanih s karbonsko maceracijo. Značilno manjše pa so bile koncentracije heksil acetata, etil 3-metilbutanoata, etil heksanoata in etil heptanoata (Ducruet, 1984). Podobna primerjava s sorto teroldego je pokazala predvsem večje koncentracije etil cinamata, 2-feniletil acetata, 2-feniletanola in manjše 4-etilfenola (Versini in Tomasi, 1983). V poskusu s sorto monastrell so v vinih, pridelanih s karbonsko maceracijo, določili več prostih terpenov, benzil alkohola, eti laktata, 2-feniletil acetata ter manj C₆ alkoholov in aldehydov (Salinas in sod., 1998).

Predvsem vsebnost etil cinamata, s svojim vonjem po jagodah, malinah in benzaldehida, z vonjem po češnjah in marelicah, naj bi odločilno oblikoval tipični vonj vin, pridelanih s karbonsko maceracijo (Versini in Tomasi, 1983; Ducruet, 1984). Podana je bila tudi možnost sinergističnega učinka etil cinamata in estrov s sadnim vonjem (Versini in Tomasi, 1983; Versini in sod., 1984). Prisotnost etil cinamata je potrjena pri drugih avtorjih, vendar je njegova koncentracija precej majhna (Salinas in sod., 1998). Čeprav kvasovke in pozneje tudi mlečnokislinske bakterije opazno spremenijo vsebnosti hlapnih fenolov, so jih v poskusu s sorto teroldego določili manj v vinih, pridelanih s karbonsko maceracijo. Tako ne morejo vplivati na tipičen vonj takšnih vin (Versini in Tomasi, 1983, Salinas in sod., 1998). Ker v postopku karbonske maceracije ni pecljanja in drozganja, je možnost encimske oksidacije linolne in linolenske kisline manjša kot pri tradicionalni pridelavi rdečih vin. Zato je vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov v takšnih vinih majhna (Versini in Tomasi, 1983; Salinas in sod., 1998). Dinamika tvorbe posameznih AS med samim postopkom karbonske maceracije je bila tudi določena na sorti teroldego (Versini in sod., 1984). Salinas in sod. (1998) potrjujejo na splošno večjo vsebnost vezanih terpenov in C₁₃ norizoprenoidov, ki pa ne prispevajo k aromatičnosti vina.

2.5.1.3 Karbonska maceracija v pridelavi belih vin

Karbonska maceracija se lahko uporabi tudi pri pridelavi rose in belih vin. Še posebno pri slednjih je izjemno redka in podatki iz literature so skopi.

Benard in sod. (1971) poročajo, da uporaba postopka karbonske maceracije lahko prekrije ali poudari primarni vonj belih sort. V primerjalnem poskusu s sortama greco di todì in trebbiano so z omenjenim postopkom pridelali vina z manj skupnih kislin in višjim pH, večjo vsebnostjo fenolov in skupnega ekstrakta. Predvsem pri sorti greco di todì so s karbonsko maceracijo pridelali vina z manjšo vsebnostjo višjih alkoholov in več estri. Slednje vino je bilo tudi senzorično boljše ocenjeno kot primerljivo, pridelano po klasičnem postopku (Montedoro in sod., 1974). Pri poskusu z belima sortama carlos in serling iz *Vitis rotundifolia* so s karbonsko maceracijo pridelali vina z manj alkohola,

nižjimi pH, a več skupnimi kislinami in fenoli ter neprimerno barvo. Vina so bila senzorično ocenjena precej slabše kot primerjalna vina po klasični tehnologiji (Carroll, 1986). Pri poskusu s sorto rumeni muškati so potrdili večjo vsebnost višjih alkoholov (3-metilbutanol, 2-feniletanol), skoraj dvakrat več prostih in vezanih terpenov ter polovico manjšo vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov v soku po karbonski maceraciji v primerjavi s tradicionalno pridelavo. Senzorični vpliv tako sproščenih AS ni bil potrjen (Bitteur in sod., 1992, 1996).

Z uporabo grozdja belih sort se prva stopnja karbonske maceracije lahko poljubno skrajša, odvisno od zahtev vinarja in želje po poudarjanju sortnosti posamezne sorte. Druga stopnja poteka brez jagodnih kožic, jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo se lahko prepreči s hitrejšim pretokom in dodatkom žveplovega dioksida (Benard in sod., 1971; Jackson, 2000).

Kot alternativni postopek topli karbonski maceraciji belega grozdja se predlaga tridnevno hladno maceracijo pri 5 °C. Tako pridelana vina vsebujejo manj fenolnih spojin in več sadnih estrov (Montedoro in sod., 1974).

2.5.2 Dodatek celih grozdnih jagod v mošt in delna karbonska maceracija belih vin

Ob pregledu slovenske literature velja omeniti tudi postopek dodatka grozdnih jagod v mošt med alkoholno fermentacijo. Postopek v znanstveni literaturi še ni obravnavan ali proučevan, omenjen je le v strokovni literaturi (Bavčar, 2009). Te vinifikacije ne moremo definirati kot pravo karbonsko maceracijo, saj za razliko od ustaljenega postopka anaerobna presnova celih grozdnih jagod poteka direktno v moštu in ne v atmosferi ogljikovega dioksida.

Pogoj za uspešen proces anaerobne presnove je odsotnost kisika. Ta proces lahko poteka tako v plinski atmosferi ogljikovega dioksida kot v tekočini (moštu). Proces anaerobne presnove je manj intenziven v tekočini zaradi večje izmenjave spojin med jagodo in zunanjo tekočino preko jagodne kožice. Difuzija sladkorjev, fenolnih spojin in jabolčne kisline preko kožice v zunanjo tekočino tako znižuje koncentracijo substratov v jagodi sami. Če pa cele jagode damo v tekočino, ki vsebuje še etanol, le-ta prehaja v jagode in zavira anaerobno presnovo (Flanzy in sod., 1987). Predvsem pa pri dodatku grozdnih jagod v mošt karbonska maceracija poteka le v nekaj odstotkih (3-12 %) jagod in nikoli v celokupnem grozdju. Manj intenzivna anaerobna presnova jagod torej poteka istočasno z alkoholno fermentacijo mošta pod vplivom kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*. Grozdne jagode se odstrani šele pri prvem pretoku in se jih dodatno ne stiska (Bavčar, 2009).

Zanimivo bi bilo tudi proučevati postopek delne karbonske maceracije belih vin. Ta postopek se bolj približa klasični karbonski maceraciji. V tem primeru bi polovico vseh grozdnih jagod potopili v sveže stisnjen mošt, v katerem se je začela alkoholna fermentacija. Upoštevajoč zgornja priporočila bi to delno karbonsko maceracijo s stiskanjem jagod zaključili po treh do štirih dneh (Benard in sod., 1971; Jackson, 2000). Prav tako ta postopek v svetovni literaturi še ni obravnavan ali proučevan.

2.5.3 Zamrzovanje ali supraekstrakcija grozdja

Tehnika predelave grozdja podobna klasični maceraciji je tako imenovana »supraekstrakcija« (Sapis in sod., 1995; Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Pri tej tehniki grozdje v majhnih posodah prehodno zamrzujemo za 20 h na temperaturi - 2 °C do - 3 °C, nato pa odtajano grozdje stiskamo brez predhodnega pecljanja. Ta tehnika zamrzovanja in odtajanja daje rezultate podobne maceraciji, saj tako povzročene poškodbe jagodnih kožic v sok sprostijo več AS in njihovih prekurzorjev. Ekstrakcija flavonoidov je manjša kot pri klasični maceraciji ali celo direktnemu stiskanju grozdja brez predhodnega zamrzovanja (Ollivier, 1987, cit. po Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Zaradi uporabe zamrzovalnih naprav je ta metoda seveda neprimerno dražja od klasične maceracije.

Postopka pa ne smemo zamenjevati s tako imenovano »krioselekcijo«, pri kateri stiskamo še zamrznjeno grozdje z namenom pridobiti največjo možno vsebnost sladkorja v moštu (Chauvet in sod., 1986; Sapis in sod., 1995).

2.5.4 Maceracija drozge med alkoholno fermentacijo ali maceracija »na tropu«

Maceracija med alkoholno fermentacijo je postopek, ki se redno uporablja pri pridelavi rdečih vin. Glavni namen je obsežna ekstrakcija fenolnih spojin z namenom zagotovitve primerne barve in okusa rdečih vin. Alkoholna fermentacija v rdeči drozgi pospeši izločanje fenolnih spojin iz trdnih delov jagode zaradi višje temperature in nastajajočega etanola.

V pridelavi belih vin se ta postopek ne uporablja primarno prav zaradi preobsežne ekstrakcije fenolnih spojin iz kožic in pečk. Vina pridelana s 24, 48 in 120 h maceracijo drozge med alkoholno fermentacijo so bila senzorično slabše ocenjena kot vina pridelana po hitrem postopku iz bistrega mošta (Singleton in sod., 1975). Maceracija grozdne drozge med alkoholno fermentacijo se redno uporablja le pri pripravi osnove za destilacijo nekaterih žganih pijač, kot je na primer bagaceira (Silva in Malcata, 1999). Druga sicer redka uporaba tega postopka je vezana na pridelavo vin z manjšo vsebnostjo žveplovega dioksida ali pridelavo vin v amforah (Bavčar, 2009). V obeh primerih maceracija drozge poteka vsaj do konca alkoholne fermentacije. Za pridelavo vina iz nekaterih manj aromatičnih sort, kot sta na primer rebula in malvazija, pa se pridelovalci v zadnjih letih že poslužujejo omenjenega postopka, vendar maceracijo prekinejo s stiskanjem po treh do štirih dneh. Glavni namen takšnega postopka je večja ekstrakcija AS ob omejeni vsebnosti fenolnih spojin. Tudi ta postopek v svetovni literaturi še ni proučevan s stališča sprememb AS v tako pridelanih vinih.

2.6 FENOLNE SPOJINE V BELIH VINIH

Fenolne spojine v vino prehajajo predvsem iz grozdja. V vinu so izredno pomembne, saj vplivajo na barvo, vonj in okus vina, delujejo kot antioksidanti in konzervansi, izkazujejo protimikrobno aktivnost in so osnova za zorenje ter staranje vina (Jackson, 2000).

V grobem polifenole vina delimo na flavonoide, kot so antocianini, flavonoli, flavan-3-oli, in neflavonoide, kot so hidroksicimetne kisline (HCK), hidroksibenzojeve kisline in stilbeni. Flavonoidi so značilni za rdeča vina, saj predstavljajo več kot 85 % vseh fenolov,

neflavonoidi pa za bela vina, kjer predstavljajo več kot 80 % vseh fenolov (Singleton in sod., 1978; Lee in Jaworski, 1987; Jackson, 2000). Prav HCK so kvantitativno najpomembnejše fenolne spojine belih vin (Singleton in sod., 1978). Predstavljajo tudi najpomembnejše neflavonoidne spojine rdečih vin (Marcheix in sod., 1990).

2.6.1 Hidroksicimetne kisline

Skupna vsebnost fenolov v belem vinu je odvisna od sorte, letnika, lege vinograda, ampelotehničnih postopkov ter načina vinifikacije in dosega povprečno okrog 200 mg/L, katerih glavni vir je grozdni sok (Singleton in sod., 1987). HCK so najpomembnejši fenoli, ki se nahajajo v grozdnem soku, deloma pa tudi v kožici grozdne jagode in v ostalih delih vinske trte (Boursiquot in sod., 1986). Vsebnost HCK v belih vinih je odvisna od istih parametrov kot skupna vsebnost fenolov (Singleton in sod., 1987). Profil posameznih HCK je bolj odvisen od sorte, kot od letnika, zrelosti ter lege, zaradi česar lahko služi kot kemotaksonomski kriterij (Boursiquot in sod., 1986). Vina, pridelana iz različnih sort, kažejo zelo specifičen profil posameznih HCK. Na osnovi tega profila vršimo celo klasifikacijo vinske sorte (Mattivi in Nicolini, 1997). HCK dokazano izkazujejo antioksidativne lastnosti (Mullen in sod., 2007).

Ribéreau-Gayon (1965) je prvi poročal, da se HCK v grozdju in vinu nahajajo zaestrene z vinsko kislino. Glavne HCK v grozdju in vinu so estri: kavne kisline z vinsko kislino, imenovani kaftarna kislina, *p*-kumarne kisline z vinsko kislino, imenovani kutarna kislina in ferulne kisline z vinsko kislino, imenovani fertarna kislina. Proste HCK kavna, *p*-kumarna in ferulna kislina so v grozdju redko prisotne. V vinu se pojavijo kot posledica hidrolize med alkoholno fermentacijo zaradi delovanja hidrolitičnih encimov grozdja ali kvasovk, lahko pa tudi zaradi kislinske hidrolize, ki je odvisna od pH vina.

Prisotna dvojna vez v stranski verigi je odgovorna za obstoj *cis*- in *trans*-izomernih oblik HCK. Naravne spojine se nahajajo predvsem v *trans* obliki (Ribéreau-Gayon, 1972). Pretvorba obeh oblik se zgodi *in situ* ali zelo hitro pod vplivom UV svetlobe (Kahnt, 1967). V vsakem primeru *trans* oblika ostaja prevladujoča.

Koncentracije HCK se precej razlikujejo v grozdju *Vitis vinifera*. Kaftarna kislina je prevladujoča HCK v grozdju, s povprečnimi vrednostmi okrog 170 mg/kg, medtem ko so vrednosti kutarne kisline v grozdju v povprečju 20 mg/kg in fertarne kisline v povprečju 5 mg/kg (Ong in Nagel, 1978; Singleton in sod., 1986). Ti relativni deleži posameznih HCK se ohranijo tudi v vinu. Mattivi in Nicolini (1997) poročata o vsebnostih 20 do 120 mg/L HCK v rdečih vinih. Vrhovšek (1998) pa poroča o približno polovico manjših koncentracijah HCK v belih vinih. Oksidirani derivati kaftarne in kutarne kisline so odgovorni za zaželeno zlato rumeno obarvanje belih vin (Jackson, 2000).

V vinih pa so HCK tudi vpletene v nastanek napak in bolezni vina. Podvržene so encimski oksidaciji, kar povzroča porjavenje vina in je še bolj opazno pri belih sortah. Glede na vsebnost kaftarne in *p*-kumarne kisline v moštu se lahko preveri stopnjo zaščite mošta pred kisikom med predelavo grozdja, oceni stopnjo ekstrakcije fenolnih spojin iz kožic in celo napove stopnjo porjavenja med zorenjem in staranjem vina (Vrhovšek in sod., 2004). Porjavenje belih vin je v procesih po stiskanju grozdja intenzivnejše zaradi sposobnosti lastne neencimske oksidacije polifenolov. Ta poteka hitreje v vinih z višjim pH, ki je značilen za vina iz toplejših pridelovalnih območij (Singleton, 1987). HCK so tudi prekursorji za nastanek hlapnih fenolov v vinu, predvsem pod vplivom eksogenih

hidrolitičnih encimov in kvasovk *Dekkera/Brettanomyces* (Chatonnet in sod., 1992a, 1993; Dugelay in sod., 1993).

2.6.2 Ostale fenolne spojine v belih vinih

Med neflavonoidnimi fenoli lahko v vinu najdemo derivate hidroksibenzojeve kisline, med njimi predvsem galno in elagovo kislino. Prisotnost elagove kisline je posledica razpada elagotanolov (hidrolizabilnih taninov) in je značilna za vina, pridelana v daljšem kontaktu z lesom (Jackson, 2000).

Ker večina flavonoidov počasneje prehaja iz trdnih delov grozdja v mošt, jih v belih vinih pri običajnih postopkih pridelave vina najdemo zelo malo. Določili so predvsem flavanole: katehin, epikatehin in polimere katehin-galate (Lee in Jaworski, 1987). Predpostavlja se, da sta za rumeno obarvanje mladih belih vin odgovorni ekstrakcija in delna oksidacija flavanolov, kot sta kvercetin in kamferol (Jackson, 2000).

Tipična posledica maceracije bele drozge je tudi povečana vsebnost flavonoidov, flavanolov in flavanolov, zaradi daljšega stika soka s kožicami in pečkami. Količina ekstrahiranih flavonoidov je odvisna od sorte grozdja (Somers in Pocock, 1991). Predolga ekstrakcija ali maceracija pri previsoki temperaturi z namenom obsežnejše ekstrakcije AS, lahko zaradi prekomerne vsebnosti flavonoidov povzroči nezaželene senzorične spremembe vina, kot sta grenkoba in trpkost (Ramey in sod., 1986; Tamborra, 1992).

2.7 METODE DOLOČEVANJA AROMATIČNIH SPOJIN VINA

2.7.1 Kvalitativno in kvantitativno določanje aromatičnih spojin

Kvalitativno in kvantitativno določanje hlapnih AS vina je povezano s plinsko kromatografijo. Plinska kromatografija je primerna za ločbo in kvantitativno določitev spojin, ki imajo ustrezni tlak (hlapnost) in so termično stabilne vsaj do temperature 300 °C ali 350 °C. Plinska kromatografija temelji na porazdelitvi komponent med stacionarno fazo, ki se nahaja v koloni, in mobilno plinsko fazo. Želena separacijo spojin se doseže z izbiro polarnosti stacionarne faze in s spreminjanjem temperature kolone. Danes se največkrat uporabljajo kapilarne kolone. Raztopino s hlapnimi komponentami se injicira skozi septo v ogrevani del injektorja, kjer se v trenutku upari. Analite v plinski fazi nosilni plin vodi po koloni, kjer se ločijo. Ločeni analiti potujejo skozi detektor, ki jih zazna, odziv detektorja pa se meri preko računalnika (Skoog in sod., 1998).

Redkeje se uporabljajo druge tehnike, kot na primer Fourierjeva transformacijska infrardeča spektroskopija ali tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) z obstreljevanjem s hitrimi atomi in tandemsko masna spektrometrija (FAB MS/MS) (Marinos in sod., 1994; Schneider in sod., 2004). Druge tehnike dočevanja, kot na primer kolorimetrično določanje terpenov, se uporabljajo redko (Reynold in sod., 1993).

Za določanje AS vina s plinsko kromatografijo uporabljamo predvsem dve vrsti detektorjev, plamensko ionizacijski detektor (FID) in masnospektrometrični (MS). FID je osnovan na merjenju toka, ki izvira iz ionov in elektronov, nastalih pri gorenju organskih spojin v čistem plamenu vodik/zrak. Če pride v detektor organska spojina iz kolone, tok močno naraste in je sorazmeren množini analita. Ker je detektor univerzalen, vendar ne

daje podatkov o strukturi spojin, se spojine določa in kvantificira z njihovimi standardnimi raztopinami na osnovi retencijskih časov (Skoog in sod., 1998). S plinsko kromatografijo s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID) se lahko določa AS, ki se v vinu nahajajo v koncentracijah od deset do nekaj sto miligramov na liter, kot na primer acetaldehid, etil acetat, diacetal, metanol, 2-feniletanol in druge višje alkohole (Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2006; Arevalo Villena in sod., 2007; Sanchez Palomo in sod., 2007; Lukić in sod., 2008; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Izjemoma se z GC-FID določa tudi spojine, ki se v vinu nahajajo v mikrogramih na liter, na primer terpene (Radeka, 2005; Villanova in Sieiro, 2006; Lukić in sod., 2008).

Plinska kromatografija z masnospektrometričnim detektorjem (GC-MS) je trenutno največkrat uporabljena metoda določanja AS v vinu (Cabarroglu in sod., 1997; Agosin in sod., 2000; Fernandez-Gonzalez in sod., 2003; Moio in sod., 2004; Tamborra in sod., 2004; Carrau in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Cabrita in sod., 2006; Villanova in Sieiro, 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Masnospektrometrična analiza poteka v vakuumu. Najprej pride do ionizacije analitov, lahko s kemijsko ionizacijo ali pogosteje z elektroni. Pri ionizaciji z elektroni je skozi ionski izvir usmerjen tok elektronov, ki jih emitira tokovno greta kovinska nit oziroma katoda. Običajno se uporabljajo elektroni z energijo 70 eV, ker pri manjši energiji dobimo premajhen izkoristek ionizacije. Nasprotno pri elektronih z večjo energijo lahko pride do preveč obsežne fragmentacije analitov. Nevtralne molekule, ki jih uvajamo v ionski izvir, se v stiku z elektroni ionizirajo. Za ločbo ionov, ki nastanejo po obstreljevanju molekul z elektroni, se v kombinaciji z GC-MS največ uporablja kvadrupolni masni analizator. Ta je sestavljen iz štirih cilindričnih palic, ki služijo kot elektrode, na katere je priključena napetost. Ioni prihajajo iz izvira pospešeni z določenim potencialom in vstopajo v prostor med palicami. S spreminjanjem napetosti na palicah spreminjamo pas ionov z ustreznim razmerjem med maso in nabojem m/z , ki preidejo skozi analizator na detektor. Ostali trčijo ob elektrode in se nevtralizirajo. Kot detektor uporabljamo elektronsko pomnoževalko (Skoog in sod., 1998).

Končni rezultat je kromatogram polnega ionskega toka (angl. total ion chromatogram) in masni spektri analiziranih spojin, ki jih rekonstruira računalnik. V kromatogramu je na ordinatni osi vsota intenzitete ionskih tokov pri vseh m/z , na abscisni osi pa retencijski čas. Ploščino vrha izračunamo s pomočjo integratorjev in ustrezne programske opreme, iz ploščine posameznega vrha spojine pa izračunamo koncentracijo spojine s pomočjo umeritvene premice. Računalnik rekonstruira tudi masni spekter določene spojine, kjer je intenziteta ionskih tokov funkcija razmerja m/z . S primerjavo masnega spektra spojine in masnih spektrov iz knjižnice spektrov lahko identificiramo posamezne spojine. Tako je s plinsko kromatografijo z masnospektrometričnim detektorjem možna identifikacija posameznih spojin v vzorcih kot tudi njihova določitev v času, ki je odvisen od trajanja separacije na kromatografski koloni (Skoog in sod., 1998).

2.7.2 Ekstrakcijske tehnike za aromatične spojine iz vina

Vonj vina je kompleksen zaradi številnih AS in njihovih različnih kemijskih lastnosti, kot so polarnost, hlapnost, topnost in pH. Zato je priprava vzorca, predvsem ekstrakcija in možna koncentracija, izredno pomemben dejavnik pri določevanju vsebnosti AS (Cabredo in sod., 2004).

Za določanje nekaterih AS se lahko vino injicira direktno v plinski kromatograf brez uporabe ekstrakcijskih tehnik. Na takšen način se določa AS, ki se v vinu nahajajo v koncentracijah od deset do nekaj sto miligramov na liter, kot na primer acetaldehid, etil acetat, diacetal, metanol, višji alkoholi in 2-feniletanol (Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2006; Arevalo Villena in sod., 2007; Sanchez Palomo in sod., 2007; Lukić in sod., 2008; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Predvsem zaradi preprečevanja akumulacije nehlapnih kislin v injektorskem vložku (linerju), so Peinado in sod. (2004) uvedli poseben postopek predpriprave z redčenjem, odstranjevanjem kislin s kalcijevim karbonatom in centrifugiranjem vzorca pred injiciranjem.

Ker se ostale AS ponavadi nahajajo v koncentracijah merljivih v mikrogramih na liter, je pred injiciranjem nujna uporaba različnih ekstrakcijskih tehnik. Njihov namen je tako koncentriranje kot ločba analitov od matrice vzorca. Največkrat se uporablja sledeče ekstrakcijske tehnike:

- ekstrakcija tekoče-tekoče (LLE),
- ekstrakcija na trdno fazo (SPE),
- mikroekstrakcija na trdno fazo (SPME).

2.7.2.1 Ekstrakcija tekoče-tekoče (LLE)

LLE je postopek priprave vzorca, ki temelji na različni topnosti analitov v dveh topilih. Za učinkovito LLE je pomembna predvsem izbira primerne topila. Hlapne proste AS vina izkazujejo visoko topnost v organskih topilih. Kot najbolj primerno topilo se priporoča uporaba diklorometana, ki mu sledi pentan (Günata in sod., 1985a; Cabredo Pinillos in sod., 2004). Oba sta pripravna tudi zaradi nizkega vrelišča in zato lažjega koncentriranja vzorca pred določanjem s plinsko kromatografijo. Navkljub veliki porabi topil, počasnosti metode in relativni zahtevnosti izvedbe, ostaja LLE referenčna tehnika za ekstrakcijo hlapnih spojin vina (Oretega Heras in sod., 2002).

Postopek za vino temelji na večkratni zaporedni ekstrakciji vzorca vina z organskim topilom med intenzivnim mešanjem. Pred ekstrakcijo se vzorcu vina doda interni standard z dobro topnostjo v organskem topilu, kot na primer 4-nonanol ali 3-oktanol. Izgube AS se omejuje z ohlajanjem in uporabo inertnih plinov, ločitev obeh faz pa se pospeši z uporabo centrifuge. Na koncu se frakcije organskega topila združi (Schneider in sod., 1998; Selli in sod., 2003; Selli in sod., 2006). Možna je tudi uporaba posebnih ekstraktorjev za kontinuirano 24 h LLE pri 50 °C (Rocha in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Rocha in sod., 2007).

Pred določanjem se iz organskega topila odstrani še prisotna vodna faza s pretokom preko brezvodnega natrijevega sulfata. Za določanje AS se topilo tudi redno koncentrira s pomočjo Vigreuxove kolone in/ali toka čistega dušika. Na takšen način se skoncentrira analite v topilu za petdeset do stokrat (Schneider in sod., 1998; Selli in sod., 2003; Rocha in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Selli in sod., 2006; Rocha in sod., 2007).

V smislu hitrejše izvedbe analize in manjše porabe topil, se lahko za določanje prostih AS uporablja tudi mikroekstrakcija z 1,1,2-triklorotrifluoroetanom (freon 113) kot topilom (Ferreira in sod., 1998).

2.7.2.2 Ekstrakcija na trdno fazo (SPE)

Ekstrakcija na trdno fazo SPE je postopek priprave vzorca, s katerim ločimo analite iz tekočega vzorca z vezavo na trdno polnilo. Izbira ustreznega polnila in dimenzije kolon so odvisne od lastnosti in koncentracije analitov v vzorcu. Glavne prednosti ekstrakcije na trdno fazo SPE v primerjavi z ekstrakcijo tekoče-tekoče (LLE) so: hitrejša izvedba ekstrakcije, enostavnejša izvedba postopka, minimalna poraba topil, možnost delne avtomatizacije postopka in velika izbira različnih polnil. Slabost te ekstrakcije pa je uporaba relativno majhnega volumna vzorca za ekstrakcijo v primerjavi z LLE (Cabredo Pinillos in sod., 2004).

Specifika uporabe SPE je možnost določitve in kvantifikacije tako prostih kot vezanih glikozidnih oblik AS. Po postopku z uporabo dveh različnih topil, ki so ga prvi predlagali Günata in sod., (1985a), najprej z uporabo prvega topila speremo iz trdnega polnila samo proste AS, nato pa še vezane glikozidne oblike. Tako s prvim spiranjem določimo samo proste oblike AS v vinu ali moštu (Tamborra in sod., 2004; Carrau in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Lukić in sod., 2008). Z uporabo drugega topila in encimsko hidrolizo glikozidov s tržnimi encimskimi preparati lahko na osnovi dodatno sproščenih prostih AS določimo tudi vsebnost še vezanih glikozidnih oblik v moštu ali vinu (Cabaroglu in sod., 1997; Agosin in sod., 2000; Fernandez-Gonzalez in sod. 2003; Moio in sod., 2004; Cabrita in sod., 2006; Villanova in Sieiro 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

Za AS iz vina ali mošta poteka postopek ekstrakcije na trdno fazo na ekstrakcijskih kolonah s komercialnimi imeni Amberlite XAD-2, Sep Pack C 18, Bond Elut ali Isolute ENV+. To so kolonice polnjene z nepolarnim polnilom, kot je oktadecilsilikagel ali stirendivinil benzen. Sorpcija temelji na nepolarnih interakcijah, zato nepolarnost molekul odloča o učinkovitosti ekstrakcije. Splošno je za polarne spojine izkoristek slab. Celoten postopek ekstrakcije in koncentracije AS za vina ali mošte poteka v več korakih (Cabaroglu in sod., 1997; Agosin in sod., 2000; Fernandez-Gonzalez in sod., 2003; Moio in sod., 2004; Tamborra in sod., 2004; Carrau in sod., 2005; Radeka, 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Cabrita in sod., 2006; Villanova in Sieiro, 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006; Lukić in sod., 2008; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008):

- kondicioniranje kolon: Topilo za kondicioniranje kolon naj bi se po polarnosti, ionski moči in vrednosti pH ujemalo z lastnostmi izbranih komponent v vzorcu. S kondicioniranjem kolonice se odstrani nečistoče iz kolone, doseže boljše vezavo analita in s tem večje izkoristke. Zato se kolono se naprej omoči z organskim topilom, ki je ponavadi metanol, nato se spere še z vodo;
- nanašanje vzorca: Pred nanašanjem vzorcu dodamo interni standard, kot so na primer 4-nonanol, 3-oktanol, 1-heptanol ali 2-etil-1-heksanol. Vzorec nato razredčimo dva do štirikrat in prečrpavamo skozi kondicionirano kolono s hitrostjo od 0,5 do 1 ml/min, da se analiti uspešno vežejo na polnilo. Po nanosu vzorca kolonico ponovno speremo z vodo;
- eluiranje prostih AS: Proste AS, zadržane na polnilu, eluiramo s primernim topilom. Največkrat se v ta namen uporablja diklorometan (Fernandez-Gonzalez in sod., 2003; Moio in sod., 2004; Tamborra in sod., 2004; Carrau in sod., 2005; Cabrita in sod., 2006; Lukić in sod., 2008) ali zmes pentana in diklorometana v

razmerju 2:1 ali samo pentan (Cabaroğlu in sod., 1997; Agosin in sod., 2000; Radeka, 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006; Villanova in Sieiro, 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Pred določanjem se tako zbranemu topilu odstrani eventualno še prisotna voda s pretokom preko brezvodnega natrijevega sulfata. Za določanje AS se topilo tudi redno koncentrira s pomočjo Vigreuxove kolone in toka čistega dušika. Na takšen način se skoncentrira analite v topilu za petdeset do sto krat;

- eluiranje glikozidnih vezanih AS: Za eluiranje vezanih glikozidnih AS se uporablja metanol (Fernandez Gonzalez in sod 2003; Moio in sod., 2004; Radeka, 2005; Cabrita in sod., 2006; Villanova in Sieiro, 2006), etil acetat (Agosin in sod., 2000; Sanchez Palomo in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008) ali zmes etil acetata in metanola v razmerju 9:1 (Cabaroğlu in sod., 1997). Tako zbrano topilo se koncentrira do suhega v vakuumu in raztopi v citrat fosfatnem pufri s pH 5. Vzorcju se doda še komercialne encimske preparate s poudarjeno glikozidno aktivnostjo, čemur sledi inkubacija za 18-24 ur na 40-50 °C. Za določitev tako sproščenih prostih AS se ponovi ekstrakcija na trdni fazi po zgoraj opisanem postopku.

2.7.2.3 Mikroekstrakcija na trdno fazo (SPME)

Mikroekstrakcija na trdno fazo (SPME) je relativno nova tehnika ekstrakcije in predkoncentriranja hlapnih komponent, ki omogoča določanje analitov brez predhodne priprave vzorca in uporabe topil. Njena uporaba je enostavna, hitra in dokaj ekonomična ob visoki občutljivosti (Prosen in Zupančič Kralj, 1999).

Ekstrakcijo se izvaja s pomočjo posebnega mikroekstrakcijskega vlakna z nanosom stacionarne faze. Vlakno pritrjeno v zaščitno iglo s pomočjo posebnega bata lahko poljubno spuščamo in dvigamo v iglo. Tekoč, trdni ali plinast vzorec v vijali se zapre z ustreznim pokrovčkom s septumom. Vzorec se pred ekstrakcijo ustrezno dolgo termostatira, nato pa se z zaščitno iglo prebode septum ter spusti vlakno, da poteče ekstrakcija oz. sorpcija analitov na stacionarno fazo vlakna. Po končani ekstrakciji se igla dvigne in prenese v injektor plinskega kromatografa, kjer se analiti termično desorbirajo z vlakna. Celoten postopek se lahko izvaja ročno ali pa je popolnoma avtomatiziran.

Ekstrakcija lahko poteka direktno v stiku z vzorcem, ko je vlakno potopljeno v vzorec, ali pa samo iz plinske faze (angl. headspace) nad vzorcem. Mikroekstrakcija na trdno fazo iz plinske faze vzorca (HS-SPME) je ravnotežna metoda, ki temelji na porazdelitvi organskih komponent med plinsko in stacionarno fazo na vlaknu. Učinkovitost ekstrakcije je odvisna od časa ekstrakcije, temperature ekstrakcije, pH vzorca, polarnosti in hlapnosti posameznih komponent v vzorcju. Izkoristki ekstrakcije so le nekaj odstotkov, saj ne analiziramo celotne množine analita v vzorcju. Porazdelitveni koeficient podamo kot razmerje med koncentracijo analita v stacionarni fazi in koncentracijo analita v vzorcju. Za kvantitativno ovrednotenje je potrebno zagotoviti enake ekstrakcijske pogoje pri vsaki analizi, uporabiti kalibracijo s standardnimi raztopinami, izdelati umeritvene premice in določiti optimalne pogoje ekstrakcije (Prosen in Zupančič Kralj, 1999).

Uporaba SPME v kombinaciji s plinsko kromatografijo z masnospektrometričnim detektorjem (GC-MS) omogoča določitev različnih prostih AS v vinu in grozdju. Tako so določili terpene, višje alkohole, hlapne fenole, estre, aromatične alkohole, C₁₃ norizoprenoide, C₆ alkohole in aldehide, hlapne žveplove spojine in celo pirazine

(Mestres in sod., 1998; Whiton in Zoecklein, 2000; Rodriguez Bencomo in sod., 2002; Marti in sod., 2003; Silva Ferreira in Guedes de Pinho, 2003; Chapman in sod., 2004; Howard in sod., 2005; Pena in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005a; Tat in sod., 2005; Prosen in sod., 2007; Čuš in Baša Česnik, 2009).

Določitev optimalnih pogojev ekstrakcije za uporabo SPME je obvezen postopek pred uspešnim merjenjem. Prav zahtevna optimizacija metode omeji skupno določanje z istim vlaknom in pod enakimi pogoji ekstrakcije na spojine, ki so si predvsem po polarosti podobne. Glavni pogoji, ki se jih preverja pred uporabo na realnih vzorcih vin, so:

- izbira vlakna: Vlakna vsebujejo različne stacionarne faze, ki omogočajo glede na izbrano polarnost analizo širokega spektra AS. Debelina nanosa stacionarne faze je od 7 do 100 μm . Za določanje hlapnih spojin so bolj primerni tanjši nanosi, ki omogočajo uspešnejšo adsorpcijo in desorpcijo. Debelejši kot je nanos, dalj časa je potrebno za vzpostavitev ravnotežje med analitom v vzorcu in na vlaknu. V primeru večje debeline nanosa se adsorbira tudi večja množina analita in posledično je boljša meja zaznavnosti metode. Obsežen izbor komercialnih vlaken, kot so polidimetilsilokan (PDMS), poliakrilat (PA), carbowax®/divinilbenzen (CW/DVB), polidimetilsilokan/divinilbenzen (PDMS/DVB), karboksen/polidimetilsilokan (CAR/PDMS) in divinilbenzen/karboksen/polidimetilsilokan (DVB/CAR/PDMS), omogoča optimizacijo za vsako skupino AS. Zaradi različne polarnosti in hlapnosti praktično ne obstaja univerzalno vlakno za vse AS vina (Mestres in sod., 1998; Rodriguez Bencomo in sod., 2002; Silva Ferreira in Guedes de Pinho, 2003; Chapman in sod., 2004; Howard in sod., 2005; Pena in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005a; Tat in sod., 2005);
- tehnika vzorčenja direktno iz vzorca ali iz plinske faze nad vzorcem: Z vzorčenjem v plinski fazi nad vzorcem se onemogoči kontaminacija vlakna in tako izrazito podaljša uporabo istega vlakna, pa tudi ravnotežje med spojinami se prej vzpostavi v plinski fazi nad vzorcem. Istočasno se zmanjša število spojin vina, ki tekmujejo za prosta mesta na stacionarni fazi število. Večina raziskav AS vina poteka v plinski fazi nad vzorcem zaradi boljšega odziva v primerjavi z vzorčenjem direktno v vzorcu (Mestres in sod., 1998; Whiton in Zoecklein, 2000; Rodriguez Bencomo in sod., 2002; Marti in sod., 2003; Silva Ferreira in Guedes de Pinho, 2003; Chapman in sod., 2004; Howard in sod., 2005). Boljšo odzivnost so z direktnim vzorčenjem v vzorcu prikazali le v enem članku (Pena in sod., 2005);
- časovni interval oz. trajanje ekstrakcije in temperatura ekstrakcije: Pri HS SPME se mora pri ekstrakciji vzpostaviti ravnotežje med koncentracijo analita v tekočini, v plinski fazi nad vzorcem in stacionarni fazi na vlaknu. Količina analita adsorbiranega na vlakno je odvisna od debeline nanosa in porazdelitvenega koeficienta analita. Optimalni čas postopka se določi z določanjem potrebnega časa ekstrakcije za analit z največjim porazdelitvenim koeficientom. Porazdelitveni koeficient posameznega analita splošno narašča z molekulsko maso in temperaturo vrelišča. Optimalen, torej dovolj dolg čas sorpcije je nujen za zagotavljanje kvantitativne ekstrakcije z dobro ponovljivostjo, še daljši kontakt pa opazno ne poveča več vsebnosti analitov. Večjo hlapnost analitov, hitrejšo ekstrakcijo in vzpostavitev ravnotežja omogoča tudi višja temperatura vzorca med ekstrakcijo. Pri določanju AS vina z vzorčenjem v plinski fazi nad vzorcem se tako uporablja čas 30-90 min in temperatura 30-40 °C (Mestres in sod., 1998; Whiton in Zoecklein,

- 2000; Rodriguez Bencomo in sod., 2002; Marti in sod., 2003; Silva Ferreira in Guedes de Pinho, 2003; Howard in sod., 2005; Pena in sod., 2005);
- vpliv volumna vzorca in volumen vial: Poleg temperature in dolžine ekstrakcije se optimizira metoda za vzorčenje v plinski fazi nad vzorcem tudi z dovolj velikim volumnom vzorca in njegovim razmerjem z volumnom celotne vial. Manjši volumen plinske faze nad vzorcem zahteva krajši čas ekstrakcije, a je ponovljivost rezultatov slabša. Za določanje AS vina se tako uporablja volumne vzorcev od 4-25 ml v vialah od 10-50 ml (Mestres in sod., 1998; Whiton in Zoecklein, 2000; Rodriguez Bencomo in sod., 2002; Marti in sod., 2003; Silva Ferreira in Guedes de Pinho, 2003; Chapman in sod., 2004; Howard in sod., 2005);
 - mešanje in dodatek soli v vzorec med ekstrakcijo: Tako mešanje kot dodatek soli pospešita prehajanje AS v plinsko fazo in se redno uporabljata. Mešanje ali stresanje poleg homogenizacije vzorca tudi pospešujeta topljenje dodane soli. Kot dodatek soli se največkrat uporabljata natrijev klorid v dodatku od 0,23-0,5 g na mililiter vzorca ali natrijev sulfat v dodatku od 0,1-0,32 g na mililiter vzorca (Mestres in sod., 1998; Whiton in Zoecklein, 2000; Rodriguez Bencomo in sod., 2002; Marti in sod., 2003; Silva Ferreira in Guedes de Pinho, 2003; Chapman in sod., 2004; Howard in sod., 2005);
 - vpliv sestave in redčenje vzorca: V vzorcih vina so proučevali vpliv koncentracije etanola in reducirajočih sladkorjev na hlapnost AS. Etanol se tako kot drugi alkoholi veže na aktivna mesta stacionarne faze in tako zmanjšuje prosta mesta za druge spojine. Z naraščanjem vsebnosti etanola se manjša koncentracija ostalih AS vključno z internimi standardi, ki se vežejo na vlakno (Mestres in sod., 1998; Whiton in Zoecklein, 2000; Rodriguez Bencomo in sod., 2002; Silva Ferreira in Guedes de Pinho, 2003). Reducirajoči sladkorji v vinih lahko v primeru direktnega injiciranja zaradi karamelizacije pri visokih temperaturah onesnažijo injektor in kolono. Vzorčenje v plinski fazi, torej HS-SPME postopek eliminira ta problem, prav tako pa večja vsebnost sladkorjev v vzorcu nima vpliva na potek ekstrakcije (Rodriguez Bencomo in sod., 2002);
 - pogoji desorpcije po injiciranju: Optimizacija časa in temperature termične desorpcije je nujna zaradi vpliva na občutljivost in točnost metode. Čas desorpcije je splošno odvisen od vrelišča analitov, debeline nanosa stacionarne faze in temperature injektorja. Krajši čas desorpcije se uporabljajo pri vzorčenju v plinski fazi nad vzorcem (Mestres in sod., 1998; Rodriguez Bencomo in sod., 2002). Daljši časi desorpcije se uporabljajo ob vzorčenju direktno v vinu (Pena in sod., 2005).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 AROMATIČNE SPOJINE V VINU

Za določanje aromatičnih spojin (AS) vina smo uporabljali plinsko kromatografijo z dvema različnima detektorjema in sicer plinsko kromatografijo z masnospektrometričnim detektorjem GC-MS in plinsko kromatografijo s plamensko ionizacijskim detektorjem GC-FID. Pri prvi kromatografiji smo izvedli dve pripravi vzorca, ekstrakcijo tekoče-tekoče (LLE) in mikroekstrakcijo na trdno fazo (SPME). Končni rezultati vseh AS so bili statistično obdelani z multivariantno analizo variance s programom Statgraphic Centurion XVI.

3.1.1 Plinska kromatografija z masnospektrometričnim detektorjem in ekstrakcijo tekoče-tekoče (LLE-GC-MS)

Z uporabo te metode smo določali vse AS podane v $\mu\text{g/L}$ z izjemo terpenov. Metoda določanja temelji na predhodni ekstrakciji AS iz vina s pomočjo diklorometana kot najbolj primernega organskega topila (Cabredo Pinillos in sod., 2004). V pričujočem delu smo za pripravo vzorca uporabili metodo diskontinuirane ekstrakcije, ki ji sledi koncentriranje vzorca za faktor 100 (Moio in sod., 1995; Schneider in sod., 1998; Selli in sod., 2006). 4-nonanol je bil uporabljen kot interni standard zaradi dobre topnosti v diklorometanu in večjega izkoristka pri LLE (Cabredo Pinillos in sod., 2004; Selli in sod., 2006). Za kvalitativno in kvantitativno ovrednotenje smo uporabili MS detektor.

Pri delu smo kot topila uporabljali diklorometan (Sigma Aldrich) in absolutni etanol (Merck) HPLC čistoče in vodo iz Milli-Q čistilnega sistema. Uporabljeni standardi AS (Merck, Sigma Aldrich, Fluka, SAFC) so bili najvišje možne čistoče, torej minimalno 97 % z izjemo 4-vinilfenola (SAFC), ki je bil nabavljen kot 10 % raztopina.

3.1.1.1 Ekstrakcija tekoče-tekoče (LLE)

100 mL vina smo prenesli v 250 mL erlenmajerico in ohladili na 0 °C v kopeli pod dušikom. 23 μg 4-nonanola smo dodali kot interni standard z uporabo 0,05 mL Hamiltonove siringe. Priprava internega standarda je opisana v 3.1.1.3. Validacija metode. Dodali smo 40 mL diklorometana in erlenmajerico stresali 20 min pri 350 rpm. Mešanico smo 10 min centrifugirali pri 5 °C in 8500 g ter odstranili organsko fazo. Vodno fazo smo ekstrahirali še dvakrat po enakem postopku. Tako dobljene organske faze smo združili in osušili z brezvodnim natrijevim sulfatom (Sigma Aldrich). Organsko fazo smo pred GC-MS določanjem koncentrirali do končnega volumna 1 mL z uporabo Vigreuxove kolone in dušika.

3.1.1.2 Pogoji za kromatografijo LLE-GC-MS

Za določanje AS smo uporabili pogoje iz preglednice 1.

Preglednica 1: Pogoji za kromatografijo LLE-GC-MS

Table 1: Chromatographic conditions of LLE-GC-MS

aparatura	Hewlett Packard 6890
detektor	Hewlett Packard 5973
liner	Agilent 5062-3587
temperatura injektorja	200 °C
tip injiciranja	pulsed splitless
predkolona	Agilent, FS deactivated, 2 m x 0,25 mm
kolona	Varian, CP-WAX 57CB, 50 m x 0,25 mm x ID, debelina nanosa 0,20 µm
temperaturni gradient	40 °C; 12 min 5 °C/min; od 40 °C do 200 °C 200 °C; 20 min
temperatura ionskega izvora	230 °C
temperatura vmesnika	200 °C
temperatura analizatorja	150 °C
nosilni plin	helij 6,0; enakomeren pretok 1,0 mL/min
volumen injiciranja	1 µL
detekcija in izbrani ioni (qualifiers)	Selective Ion Monitoring (T, Q1, Q2, Q3): 1-heksanol (56 , 43, 55, 69) 2-feniletil acetat (104 , 43, 91) 4-etilgvajakol (137 , 152) 4-nonanol (55 , 73, 83, 101) 4-vinilgvajakol (150 , 135, 107, 77) 4-vinilfenol (120 , 91) benzaldehyd (77 , 105, 106) benzil alkohol (79 , 108, 107) <i>cis</i> -3-heksen-1-ol (67 , 41, 82) dietil sukcinat (101 , 129) etil butirat (71 , 43, 88) etil cinamat (131 , 103, 176) etil heksanoat (88 , 99) etil kaprat (88 , 101, 155) etil kaprilat (88 , 101, 57) etil laktat (45 , 75) etil lavrat (88 , 101) etil palmitat (88 , 101) heksil acetat (43 , 56) izoamil acetat (70 , 43, 55) <i>trans</i> -2-heksen-1-ol (55 , 69, 83) β-ionon (177 , 43) γ-butirolakton (42 , 56, 86)

3.1.1.3 Validacija metode LLE-GC-MS

Ker se metoda po nam znanih podatkih do sedaj v Sloveniji ni uporabljala, smo izvedli validacijo in tako določili linearnost metode, meje zaznave (LOD), meje določitve (LOQ), natančnost metode s ponovljivostjo in obnovljivostjo, točnost metode in merilno negotovost ponovljivosti in obnovljivosti.

Linearnost metode, meje zaznave in meje določitve

V ta namen smo pripravili 50 mL raztopine posameznih AS z izjemo 4-nonanola s koncentracijami od 1,8 do 2,5 g/L v čistem diklorometanu. Iz posameznih raztopin smo pripravili skupno raztopino (angl. stock mix solution) v 200 mL merilni bučki. Vse raztopine, ki smo jih uporabili za določanje linearnosti metode so bile pripravljene iz te raztopine z ustreznim redčenjem.

Interni standard 4-nonanol za gornje raztopine smo pripravili v 100 mL merilni bučki v koncentraciji 1,2 g/L v čistem diklorometanu. Dodajali smo ga v 10 mL izbrane raztopine s pomočjo 0,05 mL Hamiltonove siringe ter dobro premešali.

Linearnost smo preverili z uporabo te skupne raztopine AS v diklorometanu (angl. stock mix solution) in to tako, da smo za določitev posamezne umeritvene krivulje uporabili tri do osem različnih koncentracij in pri vsaki najmanj pet ponovitev. Linearnost in območje smo določili z linearno regresijo z uporabo F-testa. Ugotovili smo, da je linearni model ustrezen in linearen v podanem območju. Meje zaznave (LOD) posameznih AS in meje določitve (LOQ) smo izračunali iz umeritvenih krivulj in so skupaj z območjem in kvadratom korelacijskega koeficienta (R^2) predstavljeni v preglednici 2. Preverili smo tudi linearnost v širšem območju in jo podali v preglednici 3.

Zaradi koncentriranja ekstraktov modelnih raztopin vina in vzorcev s faktorjem 100 (iz 100 mL vina pred ekstrakcijo do 1 mL vzorca za GC-MS analizo) so realna območja linearnosti, LOD in LOQ do stokrat manjša.

Preglednica 2: Območja linearnosti, kvadrati korelacijskih koeficientov (R^2), meje zaznav (LOD) in meje določitev (LOQ) metode LLE-GC-MSTable 2: Linearity ranges, coefficients of correlation (R^2), limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) of the LLE-GC-MS method

aromatična spojina	območje (mg/L)	R^2	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
1-heksanol	0,19 - 3,35	0,999	0,067	0,224
2-feniletil acetat	0,0168 - 3,35	0,999	0,030	0,099
4-etilgvajakol	0,0058 - 3,35	0,996	0,051	0,171
4-vinilgvajakol	0,05 - 3,35	0,998	0,062	0,208
4-vinilfenol	0,05 - 3,35	0,998	0,061	0,203
benzaldehyd	0,0111-1,67	0,993	0,041	0,136
benzil alkohol	0,0116 - 1,67	0,994	0,038	0,126
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol	1,16 - 10,13	0,996	0,352	1,167
dietil sukcinat	0,022 - 3,35	0,996	0,066	0,218
etil butirat	0,0167 - 1,67	0,999	0,016	0,052
etil cinamat	0,05 - 3,35	0,998	0,056	0,186
etil heksanoat	0,0092 - 3,35	0,996	0,053	0,176
etil kaprat	0,05 - 1,67	0,995	0,056	0,186
etil kaprilat	0,1 - 9,51	0,992	0,444	1,480
etil laktat	0,0099 - 1,67	0,991	0,044	0,148
etil lavrat	0,01 - 3,35	0,996	0,065	0,216
etil palmitat	0,0139 - 1,67	0,995	0,034	0,115
heksil acetat	0,0092 - 1,67	0,990	0,048	0,159
izoamil acetat	0,05 - 3,35	0,998	0,059	0,196
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol	0,05 - 3,35	0,982	0,179	0,597
β -ionon	0,009 - 3,35	0,995	0,074	0,248
γ -butirolakton	0,024 - 3,35	0,997	0,055	0,183

Preglednica 3: Linearnost metode LLE-GC-MS v širšem koncentracijskem območju

Table 3: Linearity of LLE-GC-MS method in wider concentration range

aromatična spojina	območje (mg/L)	R^2
1-heksanol	0,19 - 19,4	0,988
2-feniletil acetat	0,0168 - 33,53	0,995
4-etilgvajakol	0,0058 - 11,5	0,987
4-vinilgvajakol	0,05 - 9,36	0,978
4-vinilfenol	0,05 - 9,08	0,977
benzaldehyd	0,0111-22,18	0,994
benzil alkohol	0,0116 - 23,14	0,994
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol	1,67 - 10,13	0,996
dietil sukcinat	0,022 - 21,62	0,993
etil butirat	0,0167 - 33,45	0,999
etil cinamat	0,05 - 10,72	0,983
etil heksanoat	0,0092 - 18,45	0,989
etil kaprat	0,05 - 9,55	0,977
etil kaprilat	0,1 - 9,51	0,992
etil laktat	0,0099 - 10,79	0,986
etil lavrat	0,01 - 10,08	0,978
etil palmitat	0,0139 - 27,7	0,973
heksil acetat	0,0092 - 18,31	0,989
izoamil acetat	0,05 - 10,79	0,983
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol	0,05 - 3,35	0,982
β -ionon	0,009 - 9,32	0,980
γ -butirolakotn	0,024 - 24,06	0,994

Točnost metode

Za preverjanje točnosti in natančnosti metode smo potrebovali modelno raztopino vina. Zato smo pripravili skupno raztopino (stock mix solution) v absolutnem etanolu in koncentracijami posameznih AS od 0,8-1,2 g/L. To skupno raztopino smo redčili v modelno raztopino z 12 vol.% etanola v vodi tako, da so bile koncentracije večine AS podobne tistim v realnih vzorcih vina. Tako smo pripravili 3000 mL raztopine z vsebnostjo posameznih AS od 0,04-0,07 mg/L. Z vinsko kislino smo pH modelne raztopine vina uravnali na pH 3,2. Modelno raztopino vina smo končno razdelili v dvajset 125 mL merilnih bučk in jo shranili do analize v temi pri 7 °C. Interni standard za modelne raztopine vina in realne vzorce vina smo pripravili v 100 mL merilni bučki z raztapljanjem 0,046 g 4-nonanola v absolutnem etanolu. V modelne raztopine vina smo ga dodajali med LLE, ki je potekala po načinu, opisanem za realne vzorce vina. Vsebnost AS v tako pripravljenih vzorcih smo preračunali glede na vsebnost internega standarda in njegovo znano dodano količino v vzorec pred ekstrakcijo.

Točnost metode smo preverili z določitvijo izkoristkov posameznih AS. V obdobju desetih dni smo vsak dan izvedli dve ekstrakciji modelnih raztopin vina in določili vsebnost AS v ekstraktu. Izračunana povprečja izkoristkov in njihovi relativni standardni odmiki (RSD) so podani v preglednici 4.

Preglednica 4: Izkoristki aromatičnih spojin iz modelne raztopine vina

Table 4: Recoveries of aromatic compounds from model wine solution

aromatična spojina	koncentracija (mg/L)	izkoristek (%)	RSD (%)
1-heksanol	0,0596	98,3	4,9
2-feniletil acetat	0,0614	91,9	2,5
4-etilgvajakol	0,0543	92,3	4,2
4-vinilgvajakol	0,0692	95,0	8,9
4-vinilfenol	0,0414	98,2	2,6
benzaldehyd	0,0713	95,0	3,0
benzil alkohol	0,0672	94,2	4,6
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol	0,0566	84,0	3,0
dietil sukcinat	0,0498	91,3	2,7
etil butirac	0,0599	77,5	3,8
etil cinamat	0,0697	95,1	2,9
etil heksanoat	0,0588	76,7	3,4
etil kaprac	0,0500	81,9	15,2
etil kaprilac	0,0573	71,1	7,4
etil laktac	0,0709	79,4	3,5
etil lavrac	0,0624	67,8	8,9
etil palmitac	0,0524	27,9	9,5
heksil acetac	0,0593	80,6	4,0
izoamil acetac	0,0604	78,0	3,8
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol	0,0548	102,4	8,2
β -ionon	0,0564	89,2	2,6
γ -butirolakton	0,0609	88,1	3,1
4-nonanol (interni standard)	0,2300	87,1	2,8

Natančnost metode

Natančnost metode, torej ponovljivost in obnovljivost, smo določili tako, kot smo določili izkoristke s pomočjo modelnih raztopin vina. V času desetih dni smo pripravljali po dva ekstrakta modelne raztopine vina dnevno in določili vsebnost AS. Nato smo izračunali povprečje meritev, standardni odmik ponovljivosti (s_r) in standardni odmik obnovljivosti (s_R) za posamezne AS in jih podali v preglednici 5.

Preglednica 5: Standardni odmik ponovljivost (s_r) in obnovljivosti (s_R) metode LLE-GC-MSTable 5: Standard deviation of repeatability (s_r) and reproducibility (s_R) of the LLE-GC-MS method

aromatična spojina	koncentracija (mg/L)	povprečje (mg/L)	s_r (mg/L)	s_R (mg/L)
1-heksanol	0,0596	0,0583	0,0011	0,0029
2-feniletil acetat	0,0614	0,0563	0,0012	0,0014
4-etilgvajakol	0,0543	0,0501	0,0020	0,0024
4-vinilgvajakol	0,0692	0,0659	0,0055	0,0056
4-vinilfenol	0,0414	0,0406	0,0009	0,0010
benzaldehyd	0,0713	0,0676	0,0013	0,0021
benzil alkohol	0,0672	0,0632	0,0014	0,0028
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol	0,0566	0,0475	0,0010	0,0014
dietil sukcinat	0,0498	0,0455	0,0012	0,0012
etil butirat	0,0599	0,0463	0,0010	0,0018
etil cinamat	0,0697	0,0662	0,0014	0,0019
etil heksanoat	0,0588	0,0449	0,0010	0,0016
etil kaprat	0,0500	0,0404	0,0010	0,0064
etil kaprilat	0,0573	0,0405	0,0009	0,0031
etil laktat	0,0709	0,0562	0,0015	0,0020
etil lavrat	0,0624	0,0419	0,0008	0,0039
etil palmitat	0,0524	0,0147	0,0012	0,0014
heksil acetat	0,0593	0,0476	0,0011	0,0019
izoamil acetat	0,0604	0,0470	0,0012	0,0017
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol	0,0548	0,0559	0,0044	0,0050
β -ionon	0,0564	0,0503	0,0010	0,0013
γ -butirolakton	0,0609	0,0536	0,0012	0,0016

Merilna negotovost metode

Merilno negotovost ponovljivosti in obnovljivosti (U_r , U_R) smo izračunali z množenjem standardnega odmika ponovljivosti in obnovljivosti (s_r , s_R) s Studentovim faktorjem t za 9 prostostnih stopenj pri 95 % stopnji zaupanja, $t_{95;9}=2,262$. Rezultati so podani v preglednici 6.

Preglednica 6: Merilna negotovost ponovljivosti (U_r) in obnovljivosti (U_R) metode LLE-GC-MS

Table 6: Uncertainty of repeatability (U_r) and reproducibility (U_R) of the LLE-GC-MS method

aromatična spojina	koncentracija (mg/L)	U_r (mg/L)	U_R (mg/L)
1-heksanol	0,0596	0,0025	0,0066
2-feniletilacetat	0,0614	0,0026	0,0031
4-etilgvajakol	0,0543	0,0046	0,0055
4-vinilgvajakol	0,0692	0,0124	0,0127
4-vinilfenol	0,0414	0,0021	0,0023
benzaldehyd	0,0713	0,0029	0,0047
benzil alkohol	0,0672	0,0031	0,0064
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol	0,0566	0,0022	0,0032
dietil sukcinat	0,0498	0,0026	0,0027
etil butirat	0,0599	0,0022	0,0040
etil cinamat	0,0697	0,0031	0,0042
etil heksanoat	0,0588	0,0023	0,0036
etil kaprat	0,0500	0,0023	0,0144
etil kaprilat	0,0573	0,0021	0,0071
etil laktat	0,0709	0,0034	0,0044
etil lavrat	0,0624	0,0017	0,0088
etil palmitat	0,0524	0,0027	0,0031
heksil acetat	0,0593	0,0025	0,0044
izoamilacetat	0,0604	0,0028	0,0040
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol	0,0548	0,0100	0,0113
β -ionon	0,0564	0,0022	0,0029
γ -butirolakton	0,0609	0,0028	0,0036

Z ozirom na rezultate validacije smo potrdili primernost metode za določanje zgoraj predlaganih AS z izjemo etil palmitata. Ta AS zaradi slabega izkoristka 27,9 % (preglednica 4) ni primerna za določanje s predlagano metodo. Zaradi njegove realno majhne vsebnosti v preiskovanih vinih in visokega senzoričnega praga zaznave, smo rezultate njegove določitve prikazali v rezultatih, a jih nismo komentirali. 4-nonanol se je izkazal kot primeren interni standard za določevanje omenjenih aromatičnih spojin (preglednica 4).

3.1.2 Plinska kromatografija z masnospektrometričnim detektorjem in mikroekstrakcijo na trdno fazo iz plinske faze vzorca (HS-SPME-GC-MS)

Z uporabo te metode smo določali monoterpeneske alkohole linalool, α -terpineol, citronelol, nerol in geraniol v vinu. Metoda določanja temelji na ekstrakciji terpenov iz vina s pomočjo HS-SPME. Ta tehnika ekstrakcije se v kombinaciji z GC-MS uporablja za določanje širokega nabora AS vina (Mestres in sod., 1998; Whiton in Zoecklein, 2000; Rodriguez Bencomo in sod., 2002; Silva Ferreira in Guedes de Pinho, 2003; Marti in sod., 2003; Chapman in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2005a; Howard in sod., 2005; Prosen in sod., 2007; Čuš in Baša Česnik, 2009).

Metoda HS-SPME-GC-MS, opisana v nadaljevanju, je bila predhodno razvita, optimizirana in validirana na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

3.1.2.1 Mikroekstrakcija na trdni fazi iz plinske faze vzorca (HS-SPME)

Pri delu smo uporabljali standarde terpenov (Sigma Aldrich) in metanol (Sigma Aldrich) ter vodo iz Milli-Q čistilnega sistema. Raztopine posameznih terpenov smo pripravili tako, da smo jih zatehtali v 100 mL merilno bučko in raztopili v metanolu. Standardne raztopine posameznih terpenov s koncentracijo 1 mg/L smo pridobili z nadaljnjim redčenjem v etanolu. Raztopine terpenov s koncentracijo 10 μ g/L smo pridobili tako, da smo 50 μ l standardne raztopine posameznih terpenov prenesli v 20 mL SPME vialo in raztopili v 50 mL vode.

1 mL vzorca vina smo najprej razredčili z vodo (1:4) v 20 mL SPME viali. Dodali smo 1,7 g NaCl (100 %), zaradi boljšega izkoristka metode.

Z optimizacijo metode smo določili, da je najbolj primerno vlakno polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB), čas sorpcije 60 min in temperatura sorpcije 40 °C.

3.1.2.2 Pogoji ekstrakcije in kromatografije HS-SPME-GC-MS

Pogoji ekstrakcije HS-SPME in kromatografije GC-MS so podani v preglednicah 7 in 8.

Preglednica 7: Pogoji uporabe enote SPME

Table 7: Conditions for SPME unit

aparatura	Gerstel MPS 2-SPME
inkubator	stresanje (stresalnik)
čas inkubacije	5 min
hitrost stresanja	250 rpm
čas absorpcije	60 min
temperatura absorpcije	40 °C
čas desorpcije	300 s

Preglednica 8: Pogoji za kromatografijo HS-SPME-GC-MS

Table 8: Chromatographic conditions of HS-SPME-GC-MS

aparatura	Agilent 7890A-5975C
liner	Agilent 18740-80200
temperatura injektorja	250 °C
tip injiciranja	splitless
predkolona	Agilent, FS deactivated, 2 m x 0,25 mm
kolona	INNOWAX, 30 m x 0,25 mm, debelina nanosa 0,25 µm
temperaturni gradient	50 °C; 5 min 5 °C/min; od 50 °C do 110 °C 2 °C/min; od 110 °C do 150 °C 1 °C/min; od 150 °C do 190 °C 20 °C/min; od 190 °C do 250 °C 250 °C; 15 min
temperatura ionskega izvora	230 °C
temperatura vmesnika	260 °C
temperatura analizatorja	150 °C
nosilni plin	helij 6,0; stalni pretok 1,2 mL/min
detekcija izbrani ioni (qualifiers)	Selective Ion Monitoring (T, Q1, Q2, Q3): linalool (71, 80, 93) α-terpineol (59, 93, 121, 136) citronelol (69, 81, 95) nerol (69, 84, 93) geraniol (69, 93, 123)

3.1.2.3 Validacija metode HS-SPME-GC-MS

Linearnost

Validacija je bila predhodno izvedena na Kmetijskem inštitutu Slovenije (Čuš in Baša Česnik, 2009). Linearnost smo preverili z raztopinami terpenov v koncentracijah 0,1 µg/L, 0,5 µg/L, 1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 25 µg/L, 50 µg/L in 100 µg/L in štirimi ponovitvami za vsako koncentracijo.

Linearnost in območje smo določili z linearno regresijo z uporabo F-testa. Ugotovili smo, da je linearni model ustrezen in linearen v podanem območju. Meje zaznave (LOD) posameznih AS in meje določitve (LOQ) smo izračunali iz umeritvenih krivulj in so predstavljeni v preglednici 9.

Preglednica 9: Območja linearnosti, kvadrati korelacijskih koeficientov (R^2), meje zaznav (LOD) in meje določitve (LOQ) metode HS-SPME-GC-MS

Table 9: Linearity ranges, coefficients of correlation (R^2), limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) of the HS-SPME-GC-MS method

terpen	območje (µg/L)	R^2	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
linalool	0,1 - 25	0,996	0,4	1,5
α -terpineol	0,1 - 25	0,996	0,5	1,5
citronellol	0,5 - 50	0,989	1,6	5,2
nerol	5 - 50	0,983	3,0	10,1
geraniol	0,5 - 50	0,985	1,8	6,1

Natančnost metode

Natančnost metode, torej ponovljivost in obnovljivost, smo določili z realnim vzorcem vina. V času desetih dni smo paralelnima vzorcema vina določali vsebnost terpenov. Geraniol v vzorcu vina ni bil prisoten. Nato smo izračunali standardni odmik ponovljivosti (s_r) in standardni odmik obnovljivosti (s_R) za posamezne terpene ter jih podali v preglednici 10.

Preglednica 10: Standardni odmik ponovljivost (s_r) in obnovljivosti (s_R) metode HS-SPME-GC-MS

Table 10: Standard deviation of repeatability (s_r) and reproducibility (s_R) of the HS-SPME-GC-MS method

terpen	povprečje (mg/L)	s_r (mg/L)	s_R (mg/L)
linalool	0,0353	0,0010	0,0022
α -terpineol	0,102	0,010	0,013
citronellol	0,185	0,009	0,013
nerol	0,192	0,012	0,015

Merilna negotovost metode

Merilno negotovost ponovljivosti in obnovljivosti (U_r , U_R) smo izračunali z množenjem standardnega odmika ponovljivosti in obnovljivosti (s_r , s_R) s Studentovim faktorjem t za 9 prostostnih stopenj pri 95 % stopnji zaupanja, $t_{95;9}=2,262$. Rezultati so podani v preglednici 11.

Preglednica 11: Merilna negotovost ponovljivosti (U_r) in obnovljivosti (U_R) metode HS-SPME-GC-MS

Table 11: Uncertainty of repeatability (U_r) and reproducibility (U_R) of the HS-SPME-GC-MS method

terpen	povprečje (mg/L)	U_r (mg/L)	U_R (mg/L)
linalool	0,0353	0,0023	0,0050
α -terpineol	0,102	0,023	0,029
citronellol	0,185	0,020	0,030
nerol	0,192	0,028	0,035

3.1.3 Plinska kromatografija s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID)

Z uporabo te metode smo določali acetaldehid, etil acetat, metanol in višje alkohole, torej spojine, ki jih v nadaljevanju podajamo v mg/L. Metoda temelji na določanju z GC-FID sistemom brez predhodne priprave vzorca iz vina (Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2006; Arevalo Villena in sod., 2007; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Izbrane spojine smo identificirali s pomočjo retencijskih časov v primerjavi s standardi. Za kvalitativno in kvantitativno ovrednotenje smo uporabili FID detektor. Kot interni standard smo uporabili 4-metil-2-pentanol.

Pri delu smo kot topila uporabljali absolutni etanol (Merck) HPLC čistoče in vodo iz Milli-Q čistilnega sistema. Uporabljeni standardi AS (Merck, Sigma Aldrich, Carlo Erba) so bili najvišje možne čistosti, torej minimalno 98 %.

Standarde smo pripravili tako, da smo v prvo 100 mL merilno bučko zatehtali 0,6 g acetaldehida, v drugo 1,5 g metanola in v tretjo od 0,4-0,7 g višjih alkoholov in etil acetata. Vse tri merilne bučke smo dopolnili z absolutnim etanolom. Skupno raztopino smo pripravili tako, da smo iz vseh treh bučk prenesli po 1 mL v skupno 100 mL merilno bučko in jo dopolnili z raztopino 12 vol.% absolutnega etanola v vodi. Vsebnosti AS v tej skupni raztopini so bile koncentracijsko podobne tistim v vinu in je služila kot standard za kvantitativno umerjanje aparature. Interni standard smo pripravili tako, da smo raztopili 2,78 g 4-metil 2-pentanol v 100 mL absolutnega etanola.

Tako vzorce kot umeritvene standarde smo pripravili tako, da smo v bučki 5 mL vzorca ali skupni raztopini standardov dodali 0,05 mL internega standarda s Hamiltonovo siringo. Bučko smo premešali in prelili vzorec ali umeritveni standard v 2 mL stekleno vialo za analizo.

3.1.3.1 Pogoji kromatografije GC-FID

Za določanje AS s smo uporabili pogoje iz preglednice 12.

Preglednica 12: Pogoji za kromatografijo GC-FID

Table 12: Chromatographic conditions of GC-FID

aparatura	Hewlett Packard 6890 HP 6890
detektor	FID
liner	Agilent 5183-4647
temperatura injektorja	200 °C
tip injiciranja	split (50:1)
predkolona	-
kolona	Varian, CP-WAX 57CB, 50 m x 0,25 mm ID, debelina nanosa 0,20 µm
temperaturni gradient	40 °C; 10 min 5 °C/min; od 40 °C do 200 °C, 200 °C; 20 min
temperatura detektorja	300 °C
nosilni plin	dušik 5,0; enakomeren pretok 1,0 mL/min
volumen injiciranja	1,0 µL

3.1.3.2 Validacija metode

Linearnost

Validacija je bila izvedena na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Linearnost smo preverili tako, da smo najprej v 100 mL merilne bučke zatehtali od 0,7 do 1,1 g posamezne AS in metanola ter jih dopolnili z absolutnim etanolom. Iz posameznih modelnih raztopin smo pripravili skupno raztopino (stock mix solution) v 200 mL merilni bučki, ki smo jo dopolnili z 12 vol.% etanolom v vodi. Vse raztopine, ki smo jih uporabili za validacijo metode, so bile pripravljene iz te raztopine z ustreznim redčenjem. Za določitev posamezne umeritvene krivulje smo uporabili pet do sedem različnih koncentracij in pri vsaki najmanj štiri ponovitve. Linearnost in območje smo določili z linearno regresijo z uporabo F-testa. Ugotovili smo, da je linearni model ustrezen in linearen v podanem območju. Meje zaznave (LOD) posameznih AS in meje določitve (LOQ) smo izračunali iz umeritvenih krivulj in so predstavljene v preglednici 13.

Preglednica 13: Območja linearnosti, kvadrati korelacijskih koeficientov (R^2), meje zaznav (LOD) in meje določitev (LOQ) metode GC-FIDTable 13: Linearity ranges, coefficients of correlation (R^2), limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) of the GC-FID method

aromatična spojina	območje (mg/L)	R^2	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
acetaldehid	0,4 – 287,3	0,999	0,70	2,32
etil acetat	0,4 – 288,9	0,987	0,37	1,22
2-butanol	0,2 – 161,6	0,987	0,10	0,32
1-propanol	0,3 – 170,3	0,999	0,10	0,35
2-metilpropanol	0,4 – 381,8	0,999	0,13	0,42
2-propenil alkohol	0,1 – 77,2	0,999	0,10	0,17
1-butanol	0,05 – 201,0	0,999	0,07	0,24
2-metilbutanol	0,05 – 214,3	0,999	0,06	0,20
3-metilbutanol	0,7 – 542,4	0,999	0,41	1,38
2-feniletanol	0,2 – 165,8	0,987	0,16	0,50
metanol	0,1 – 412,7	0,999	0,28	0,92

Natančnost metode

Natančnost metode, torej ponovljivost in obnovljivost, smo določili tako, da smo iz raztopin posameznih AS v absolutnem etanolu z redčenjem pripravili modelno raztopino vina v 200 mL merilni bučki, ki smo jo dopolnili z raztopino 12 vol.% absolutnega etanola. V času desetih dni smo paralelnima vzorcema modelne raztopine določali vsebnosti AS in metanola. Nato smo izračunali standardni odmik ponovljivosti (s_r) in standardni odmik obnovljivosti (s_R) za posamezne spojine ter jih podali v preglednici 14.

Preglednica 14: Standardni odmik ponovljivosti (s_r) in obnovljivosti (s_R) metode GC-FIDTable 14: Standard deviation of repeatability (s_r) and reproducibility (s_R) of the GC-FID method

aromatična spojina	povprečje (mg/L)	s_r (mg/L)	s_R (mg/L)
acetaldehid	11,4	0,74	1,41
etil acetat	117,8	1,65	5,94
2-butanol	200,1	4,89	9,79
1-propanol	69,9	1,47	3,38
2-metilpropanol	54,1	1,25	2,72
2-propenil alkohol	16,5	0,77	0,79
1-butanol	14,7	0,28	0,77
2-metilbutanol	35,6	0,70	1,87
3-metilbutanol	167,9	3,78	7,81
2-feniletanol	64,9	1,50	3,26
metanol	101,5	3,54	6,86

Merilna negotovost metode

Merilno negotovost ponovljivosti in obnovljivosti (U_r , U_R) smo izračunali z množenjem standardnega odmika ponovljivosti in obnovljivosti (s_r , s_R) s Studentovim faktorjem t za 9 prostostnih stopenj pri 95 % stopnji zaupanja, $t_{95;9}=2,262$. Rezultati so podani v preglednici 15.

Preglednica 15: Merilna negotovost ponovljivosti (U_r) in obnovljivosti (U_R) metode GC-FID

Table 15: Uncertainty of repeatability (U_r) and reproducibility (U_R) of the GC-FID method

aromatična spojina	povprečje (mg/L)	U_r (mg/L)	U_R (mg/L)
acetaldehid	11,4	1,67	3,19
etil acetat	117,8	5,89	13,43
2-butanol	200,1	11,08	22,15
1-propanol	69,9	3,33	7,65
2-metilpropanol	54,1	2,82	6,16
2-propenil alkohol	16,5	0,61	1,81
1-butanol	14,7	0,63	1,74
2-metilbutanol	35,6	1,58	4,24
3-metilbutanol	167,9	8,45	17,68
2-feniletanol	64,9	3,38	7,39
metanol	101,5	8,01	15,48

3.2 FENOLNE SPOJINE V VINU

3.2.1 Skupni fenoli vina

PRINCIP: Skupne fenole določamo z redukcijo kislin (Folin-Ciocalteu reagent, Folin in Denis, 1912) ob oksidaciji fenolov v alkalnem mediju (Di Stefano in Guidoni, 1989; Rigo in sod., 2000). Nastale modre pigmente ovrednotimo z merjenjem absorbance s spektrofotometrom pri 700 nm.

APARATURE IN PRIBOR:

- UV-Vis spektrofotometer Agilent 8453: Agilent Technologies,
- kvarčne kivete z 10 mm optično potjo,
- SEP PAK kolone C₁₈ Waters, Miliford,
- 0,45 µm Minisart RC filter, Sartorius,
- merilne bučke in pipete.

REAGENTI IN MATERIALI:

- Folin-Ciocalteu reagent (Merck),
- 0,5 M raztopina žveplove(VI) kisline H₂SO₄,
- 5 mM raztopina žveplove(VI) kisline H₂SO₄,
- 10 % (m/v) raztopina natrijevega karbonata Na₂CO₃.

PRIPRAVA VZORCEV ZA ANALIZO:

IZVEDBA ANALIZE:

- vino smo redčili z 0,5 M žveplovo(VI) kislino (običajno 2-4 krat), faktor redčenja smo priredili tako, da je meritev absorbance prišla med 0,3 in 0,6 AU (absorbančnih enot). Vino redčimo zaradi boljšega izkoristka vezave na SEP PAK kolono C₁₈;
- SEP PAK kolono C₁₈ smo aktivirali z 2 mL metanola in sprali z 5 mL 5 mM raztopine žveplove(VI) kisline;
- na kolono smo nanegli 2 mL vina. Kolono smo nato sprali z 2 mL 5 mM raztopine žveplove(VI) kisline. Fenolne spojine smo eluirali v 20 mL merilno bučko z 2 mL metanola in 5 mL destilirane vode;

- dodali smo 1 mL reagenta Folin-Ciocalteu ter po 3-4 minutah še 4 mL 10 % vodne raztopine natrijevega karbonata. Takoj, ko smo dodali natrijev karbonat, smo merilno bučko dopolnili do meniskusa z destilirano vodo, da se vzorec ne zmotni;
- po 90 min smo vzorec in slepi vzorec filtrirali skozi 0,45 µm filter in nato izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu pri 700 nm v kiveti z 10 mm optično potjo;
- Slepi vzorec je bil pripravljen enako kot vzorec vina, le da je namesto vina uporabljena destilirana voda.

IZRAČUNI IN PODOJANJE REZULTATOV:

$$\text{Skupni fenoli (mg/L galne kisline)} = 196,8 \cdot A \cdot R \quad (1)$$

V zgornjem izračunu pomenijo: 196,8-faktor metode (mg/L), A -izmerjena absorbanca pri 700 nm, R -razredčitev vzorca.

Končni rezultati skupnih fenolov so bili statistično obdelani z multivariantno analizo variance s programom Statgraphics Centurion XVI.

3.2.2 Hidroksicimetne kisline v vinu

PRINCIP: Za določanje vsebnosti hidroksicimetnih kislin HCK v vinu smo uporabili metodo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti HPLC z detektorjem z nizom diod DAD. Metoda je bila razvita na Kmetijskem inštitutu Slovenije (Vanzo in sod., 2007a)

APARATURE IN PRIBOR:

- Agilent 1100 HPLC z DAD detektorjem, Agilent Technologies,
- Agilent NSD ChemStation,
- kolona ODS Hypersil C18 2,1 x 250 mm, 5 µm, Agilent Technologies,
- predkolona ODS Hypersil guard 2,1 x 20 mm, 5 µm, Agilent Technologies.

REAGENTI IN MATERIALI:

- mobilna faza A: 0,5 % raztopina mravljične kisline (HCOOH) v destilirani vodi,
- mobilna faza B: 2 % raztopina mravljične kisline (HCOOH) v metanolu.

PRIPRAVA VZORCEV ZA ANALIZO:

Vzorci smo pred injiciranjem na HPLC filtrirali skozi 0,22 µm PVDF filter premera 13 mm, Millipore.

IZVEDBA ANALIZE:

- ločba je potekala 33 min pri 40 °C;
- gradienti so bili linearni: 16 % B do 25 % B v 15 min, do 43 % B v 13 min, do 100 % B v 0,1 min, 100 % B 4,9 min in nazaj do 16 % B v 0,1 min. Kolona je bila uravnotežena z začetnim gradientom 16 % B 10 min pred naslednjim injiciranjem;
- pretok: 0,4 mL/min;
- volumen injiciranega vzorca: 10 µL.

DETEKCIJA, IDENTIFIKACIJA, IZRAČUNI IN PODOJANJE REZULTATOV:

- UV-Vis spekter je bil posnet med 220 in 400 nm z detekcijo vrhov pri 320 nm;
- posamezne HCK smo identificirali s pomočjo spektrov pripadajočih standardov v UV-Vis področju in njihovih retencijskih časov. Posamezne HCK v vinu smo kvantificirali kot ekvivalente eksterne standarda *trans*-kaftarne kisline glede na ploščino pod vrhom pri 320 nm;

- umeritveno krivuljo smo pripravili z injiciranjem standarda *trans*-kaftarne kisline v območju med 1,05 mg/L in 210 mg/L. Umeritvena krivulja je bila linearna v celotnem območju z R^2 0,99987;
- meja zaznave (LOD) *trans*-kaftarne kisline pri razmerju signal-šum ≥ 3 je bila 0,11 mg/L. Meja določitve (LOQ) *trans*-kaftarne kisline pri razmerju signal-šum ≥ 10 je bila 0,34 mg/L;
- ponovljivost: zaporedoma smo injicirali 1,81 mg/L *trans*-kaftarne kisline ($n=10$) Koefficient variacije koncentracij je bil 1,75 %, koefficient variacije retencijskih časov je bil 0,29 %.

Končni rezultati so bili statistično obdelani z multivariantno analizo variance s programom Statgraphics Centurion XVI.

3.3 OSNOVNI KEMIJSKI PARAMETRI VINA IN MOŠTA

Za določitev osnovnih kemijskih parametrov vina in mošta smo uporabili priporočene metode Evropske skupnosti (Commission regulation (EEC) 2676/90; Commission regulation (EC) 355/2005). V skrajšani obliki so metode opisane v nadaljevanju. Končni rezultati vseh parametrov so bili statistično obdelani z multivariantno analizo variance s programom Statgraphics Centurion XVI.

3.3.1 Dejanski alkohol v vinu

PRINCIP: Destilacija vina z dodatkom raztopine kalcijevega hidroksida. Merjenje relativne gostote destilata pri 20 °C z elektronskim denzimetrom Anton Paar DMA 4500.

REAGENTI IN MATERIALI:

- 2 M raztopina kalcijevega hidroksida $\text{Ca}(\text{OH})_2$,
- destilirana voda.

APARATURE IN PRIBOR: Destilacijska aparatura, elektronski denzimeter Anton Paar DMA 4500, Anton Paar, vodna kopel.

IZVEDBA ANALIZE:

- odpipetirali smo 200 mL vina v merilno bučko;
- termostatirali smo bučko na 20 °C in uravnali točen volumen vina;
- izvedli smo destilacijo vina z dodatkom 10 mL 2 M kalcijevega hidroksida in vrelnih kamenčkov;
- destilat smo zbirali v že omenjeno merilno bučko, ga hladili med destilacijo, ko smo nabrali vsaj 3/4 bučke, smo ga dopolnili z vodo pod oznako, nato smo ga termostatirali pri 20 °C ter točno dopolnili z vodo do oznake;
- relativno gostoto destilata pri 20 °C smo določili z elektronskim denzimetrom Anton Paar DMA 4500.

IZRAČUNI IN PODAJANJE REZULTATOV: Iz relativne gostote destilata odčitamo koncentracijo alkohola v vol.% s pomočjo korelacijskih tabel. Rezultate se podaja na eno decimalno mesto.

3.3.2 Skupni suhi ekstrakt vina

PRINCIP: Posredna določitev (izračun) na osnovi relativne gostote vina in gostote destilata pri 20 °C z uporabo Tabariéjeve relacije.

IZVEDBA ANALIZE:

- relativno gostoto destilata smo določili s predhodno opisanim postopkom (3.3.1),
- relativno gostoto vina smo določili z elektronskim denzimetrom Anton Paar DMA 4500.

IZRAČUNI IN PODAJANJE REZULTATOV:

Relativno gostoto vina brez alkohola pri 20 °C smo izračunali z uporabo Tabariéjeve relacije:

$$d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}}(\text{ekstrakt}) = d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}}(\text{vino}) - d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}}(\text{destilat}) + 1,000 \quad (2)$$

$$\text{ali krajše } d_r = d_v - d_a + 1,000 \quad (3)$$

V zgornjem izračunu pomenijo: d_r - relativna gostota vina brez alkohola pri 20 °C,

d_v - relativna gostota vina pri 20 °C, d_a - relativna gostota destilata pri 20 °C.

Skupni suhi ekstrakt smo odčitali s pomočjo d_r iz ustrezne tabele (Commission regulation (EEC) 2676/90). Rezultate se podaja na eno decimalno mesto v g/L.

3.3.3 Reducirajoči sladkorji v vinu

PRINCIP: Po predhodnem čiščenju s svinčevim acetatom se vinu doda znano količino alkalne raztopine bakrovega sulfata, prebitne bakrove ione se določi z jodometrično titracijo.

REAGENTI IN MATERIALI:

- nevtralna raztopina svinčevega acetata ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$) približno nasičena,
- kalcijev karbonat (CaCO_3),
- 1 M raztopine natrijevega hidroksida (NaOH),
- alkalna raztopina bakrovega sulfata (podrobnosti o pripravi in uporabi zaščitne opreme se nahajajo v Commission regulation (EEC) 2676/90),
- 30 % raztopina kalijevega jodida,
- 25 % žveplova(VI) kislina (H_2SO_4),
- škrobovica, 5 g/L,
- 0,1 M raztopina natrijevega tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

APARATURE IN PRIBOR: pipete, gorilniki, merilne bučke, filter papir, povratni hladilnik, birete.

PRIPRAVA VZORCEV ZA ANALIZO: Bela vina z vsebnostjo reducirajočih sladkorjev med 0,5 in 5 g/L smo čistili z uporabo približno nasičene raztopine svinčevega acetata. V 50 mL vina smo nalili v 100 mL merilno bučko, nato smo dodali X mL 1 M natrijevega hidroksida, določenih po naslednji enačbi:

$$X \text{ (mL)} 1 \text{ M natrijevega hidroksida} = 5 \cdot (a - 0,5) \quad (4)$$

V relaciji (4) je a volumen 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida, porabljen za določitev skupnih kislin v 10 mL vina (glej 3.3.5). Med mešanjem smo dodali 2,5 mL nasičene raztopine svinčevega acetata in 0,5 g kalcijevega karbonata. Bučko smo pretresli in po 15 min dopolnili do oznake z vodo in filtrirali.

IZVEDBA ANALIZE:

- v 300 mL erlenmajerici smo zmešali 25 mL alkalne raztopine bakrovega sulfata, 15 mL vode in 10 mL očiščene raztopine vzorca;
- dodali smo nekaj vrelnih kamenčkov, na erlenmajerico pritrdili hladilnik in segreli erlenmajerico do vrenja v dveh minutah ter nadaljevali z vrenjem točno 10 minut;
- erlenmajerico smo ohladili pod mrzlo tekočo vodo. Ko je bila popolnoma hladna, smo dodali 10 mL 30 % raztopine kalijevega jodida, 25 mL 25 % raztopine žveplove (VI) kisline in 2 mL škrobovice;
- titrirali smo z 0,1 M raztopino natrijevega tiosulfata do rumeno-kremne barve, z n smo označili število porabljenih mililitrov. Za slepo titracijo smo nadomestili 10 mL raztopine vzorca z 10 mL destilirane vode, z n' smo označili število porabljenih mL natrijevega tiosulfata za slepo titracijo.

IZRAČUNI IN IZRAŽANJE REZULTATOV: Koncentracija reducirajočih sladkorjev v vzorcu je podana v tabeli (Commission regulation (EEC) 2676/90) kot funkcija števila ($n' - n$) porabljenih mL natrijevega tiosulfata. Koncentracijo reducirajočih sladkorjev smo podajali v gramih na liter vina na eno decimalno mesto, upoštevajoč razredčitev med čiščenjem in volumen testnega vzorca.

3.3.4 pH vina

PRINCIP: Merjenje pH vina s kombinirano elektrodo DG 115 SC na avtomatskem titratorju Mettler Toledo DL53, Mettler Toledo.

REAGENTI IN MATERIALI:

- komercialni pufri pH 3, pH 4 in pH 7.

APARATURE IN PRIBOR: Mettler Toledo DL 53, čaše, lončki.

PRIPRAVA VZORCEV ZA ANALIZO: Meritve izvajamo direktno v vinu pri 20 °C.

IZVEDBA, IZRAČUN in PODAJANJE REZULTATOV: Po ustreznem umerjanju s pufri 3 in 7 ter preverjanju s pufrom 4 smo izmerili še pH naših vzorcev vina z aparaturo Mettler Toledo DL 53. Rezultat smo podali na dve decimalni mesti, brez enote.

3.3.5 Skupne (titrabilne) kisline v vinu

PRINCIP: Potenciometrična titracija vina do končne točke pH 7 s standardizirano raztopino natrijevega hidroksida in kombinirano elektrodo DG 115 SC z avtomatskim titratorjem Mettler Toledo DL 53.

REAGENTI IN MATERIALI:

- 0,1 M raztopina natrijevega hidroksida (NaOH),
- komercialni pufri pH 3 in pH 7,
- kalijev hidrogenftalat ($C_8H_5KO_4$),
- vinska kislina, 5 g/L, ($C_4H_6O_6$).

APARATURE IN PRIBOR: Mettler Toledo DL 53, merilne bučke, lončki.

PRIPRAVA VZORCEV ZA ANALIZO: Vzorcem vina smo odstranili raztopljen ogljikov dioksid z direktnim uvajanjem dušika za 5 minut.

IZVEDBA, IZRAČUN in PODAJANJE REZULTATOV: Po standardizaciji 0,1 M raztopine natrijevega hidroksida s kalijevim hidrogenftalatom in preverjanju točnosti določanja metode s 5 g/L raztopino vinske kisline, smo izmerili še skupne kisline naših vzorcev vina. V 100 mL lonček smo odpipetirali 5 mL vina in dopolnili do 40 mL s sveže prekuhano destilirano vodo. Lončke z vzorci smo vstavili na avtomatski podajalnik titratorja. Titracija in izračun skupnih kislin je izvedel titrator Mettler Toledo DL 53. Na izpisu aparature je titrator podal tudi volumen porabljenega 0,1 M natrijevega hidroksida, ki smo ga potrebovali za določitev reducirajočih sladkorjev (3.3.3). Rezultate skupnih kislin v gramih vinske kisline na liter vina smo podali na eno decimalno mesto.

3.3.6 Hlapne kisline v vinu

PRINCIP: Titracija hlapnih kislin, ki se jih iz vina loči s parno destilacijo, s standardizirano raztopino natrijevega hidroksida. Raztopljeni ogljikov dioksid se predhodno odstrani iz vina. Od skupne koncentracije hlapnih kislin odštejemo prispevek skupnega in prostega žveplovega dioksida v gramih oetne kisline na liter.

REAGENTI IN MATERIALI:

- vinska kislina v obliki kristalov $C_4H_6O_6$,
- 0,1 M raztopina natrijevega hidroksida NaOH,
- 1 % raztopina fenolftaleina v 96 vol.% etanolu,
- 25 % (v/v) klorovodikova kislina HCl,
- 0,005 M raztopina joda I_2 ,
- kalijev jodid v obliki kristalov KI,
- raztopina škroba, 5 g/L,
- nasičena raztopina natrijevega borata $Na_2B_4O_7 \times 10 H_2O$.

APARATURE IN PRIBOR: Parni destilator Oenoextracteur Chenard.

PRIPRAVA VZORCEV ZA ANALIZO: Vzorcem vina smo odstranili raztopljen ogljikov dioksid z direktnim uvajanjem dušika za 5 min. V destilacijsko bučko parnega destilatorja Oenoextracteur Chenard smo odpipetirali 20 mL vina in dodali približno 0,5 g vinske kisline. Zbrali smo vsaj 250 mL destilata.

IZVEDBA ANALIZE:

- destilat smo titrirali z 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida ob dodatku dveh kapljic fenolftaleina kot indikatorja. Volumen porabljenega natrijevega hidroksida smo označili z n mL;
- dodali smo štiri kapljice razredčene raztopine klorovodikove kisline, 2 mL raztopine škroba in nekaj kristalov kalijevega jodida. Prosti žveplov dioksid smo titrirali z 0,005 M raztopino joda. Porabljen volumen smo označili kot n' mL;
- dodali smo nasičeno raztopino natrijevega borata, da se ponovno pokaže rožnato obarvanje. Skupni žveplov dioksid smo titrirali z 0,005 M raztopino joda. Porabljen volumen označimo z n'' mL;

IZRAČUNI IN IZRAŽANJE REZULTATOV:

Hlapne kisline, izražene v gramih očetne kisline na liter, smo izračunali s sledečim izračunom:

$$\text{Hlapne kisline (g očetne/L)} = 0,300 \cdot (n - 0,1 \cdot n' - 0,5 \cdot n'') \quad (5)$$

V zgornjem izračunu so n , n' , n'' porabe natrijevega hidroksida in joda.

3.3.7 Pepel v vinu

PRINCIP: Ostanek vina po sušenju se žge v peči pri temperaturi med 500 in 550 °C do popolne oksidacije, torej sežiga organskih sestavin.

REAGENTI IN MATERIALI:

- destilirana voda.

APARATURE IN PRIBOR: Peč za sežig Aurodent Celje, vodna kopel, analitska tehtnica, evaporator, eksikator in platinaste posode z ravnim dnom premera 70 mm in višine 25 mm.

IZVEDBA ANALIZE:

- v predhodno stehtano platinasto posodo z maso P_0 smo odpipetirali 20 mL vina,
- odparili smo do suhega na vodni kopeli, ostanek pa segrevali na vroči plošči pri 200 °C do začetka pooglenitve;
- ko se je tvorba dima ustavila, smo postavili posodo v električno peč, segreto na 525 ± 25 °C;
- po 15 minutah sežiga smo posodo vzeli iz peči, dodali 5 mL destilirane vode, odparili do suhega na vodni kopeli in ostanek ponovno žarili pri 525 °C vsaj 10 minut;
- če sežig ni bil popoln, smo ponavljali postopek izpiranja pooglenelih delcev z vodo, izparevanja vode in sežig;
- ko je pepel bele barve, smo platinsko posodo ohladili v eksikatorju ter stehtali P_1 .

IZRAČUNI IN PODAJANJE REZULTATOV: Koncentracijo pepela v g/L smo izračunali:

$$\text{Pepel (g/L)} = (P_1 - P_0) \cdot 50 \quad (6)$$

V zgornji relaciji predstavlja P_0 maso prazne platinaste posode in P_1 maso posode po žarenju. Koncentracijo pepela se podaja na dve decimalni mesti.

3.3.8 Sladkorna stopnja v moštu

PRINCIP: Merjenje raztopljenih snovi v moštu z ročnim digitalnim refraktometrom Leo Kübler. Ker med raztopljenimi snovmi prevladujejo ogljikovi hidrati, je to merilo za sladkorje v moštu.

REAGENTI IN MATERIALI:

- Destilirana voda.

APARATURE IN PRIBOR: Digitalni refraktometer Leo Kübler, kapalka.

IZVEDBA ANALIZE:

- Vzorec mošta smo dobro premešali in kapljo prelili na merilno celico refraktometra Leo Kübler ter počakali na rezultat meritve. Meritev smo ponovili trikrat in izračunali povprečje.

IZRAČUNI IN PODAJANJE REZULTATOV: Izpis rezultata v °Oe brez decimalnih mest.

3.4 SENZORIČNO OCENJEVANJE VINA Z RANGIRANJEM

Senzorično oceno vina so izvedli pokuševalci, ki delujejo v okviru državne komisije za oceno vina na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Izbrani so bili tudi zaradi poznavanja belih vin vinorodne dežele Primorska. Vinifikacije letnika 2008 je ocenjevalo šest pokuševalcev, vinifikacije letnika 2009 pa razširjena sestava devetih pokuševalcev.

Vina so bila v okviru izbrane sorte in postopkov ocenjevana tako, da smo pokuševalcem predstavili hkrati vse vzorce iste sorte v okviru enega poskusa, torej po štiri vzorce iste sorte a različnih postopkov hkrati v letniku 2008 in po tri vzorce hkrati letnika 2009. Tri ponovitve v okviru istega postopka smo združili v en sam vzorec. Pokuševalcem je bila podana informacija o sorti in letniku vina. Ocenjevali so samo dva parametra, vonj in celokupni vtis (skupna ocena za vonj, okus in harmonija vina) vina in to tako, da so jih rangirali od najbolj všečnega z oceno 1 do najmanj všečnega z oceno 4 v letniku 2008 oziroma do najmanj všečnega z oceno 3 v letniku 2009. Takšna preprosta hierarhična razporeditev oziroma »hierarchical ranking« se kot način senzoričnega ocenjevanja uporablja, ko se ocenjuje skupni vpliv večjega števila faktorjev na vino (Jackson, 2009). Multivariantna analiza variance je bila uporabljena kot možna statistična metoda obdelave podatkov (Jackson, 2009).

3.5 AKTIVNE VONJALNE VREDNOSTI (OAV)

Povezava kemijskih parametrov vina s senzoričnimi lastnostmi vina ni enostaven postopek. Spojine, ki lahko vplivajo na vonj vina, morajo biti hlapne in v zadostnih koncentracijah, da smo jih sposobni zaznati (Jackson, 2000). Ker so v vinu določili že več sto AS in te delujejo na naš vonjalni sistem hkrati, je zelo težko ovrednotiti vpliv posamezne spojine ali skupine spojin AS. Pri aromatičnih sortah vina obstajajo ena ali dve dominantni skupini AS, ki odločilno vplivajo na vonj vina. Takšne skupine AS so odločilne za aromatična vina z enostavno aromatiko, kot so sauvignon ali muškati (Bayonove in sod., 1975; Ribéreau-Gayon in sod., 1975; Augustyn in sod., 1982; Marais, 1983; Darriet in sod., 1993). Predvsem v nearomatičnih sortah vinah pa je potrebno proučiti prispevek različnih skupin AS. Kot praktičen pristop v aktualni literaturi se je uveljavil pojem aktivna vonjalna vrednost (OAV, angl.odour activity value). V slovenskem slovarju senzorične analize SIST ISO 5492 pojma OAV ne najdemo. Razvoj pojma OAV povezujemo s študijami aromatičnih spojin belih vin avtorja Guth (1997). Uveljavil se je pristop določanja spojin, ki presegajo prag senzorične zaznave in združevanja spojin, ki podobno dišijo (Moyano in sod., 2002; Peinado in sod., 2004a; Rocha in sod., 2004; Selli in sod., 2006; Chaves in sod., 2007; Moyano in sod., 2009). Vrednosti OAV se izračuna tako, da se vsebnost posamezne AS deli s pragom senzorične zaznave (angl.odour theshold value) za to spojino. Prag senzorične zaznave za isto AS v literaturi ni vedno enak, saj je odvisen od načina

določitve, uporabljenega topila, tipa vina, prisotnosti drugih AS in seveda skupine pokuševalcev (Clarke in Bakker, 2004). OAV se uporabljajo predvsem za določanje potencialnega vpliva na vonj ob prisotnosti več različnih AS (Jackson, 2009). V našem poskusu smo določili AS, njihove pragove senzorične zaznave pa privzeli na osnovi dela spodaj omenjenih avtorjev. Tako smo spojine z $OAV > 1$ združili glede na opis vonja in jih podali v preglednici 16.

Preglednica 16: Prag senzorične zaznave in opis vonja posameznih aromatičnih spojin

Table 16: Odor perception threshold and descriptors of individual aroma compounds

arom. spojina	prag senzorične zaznave	opis vonja
2-metilpropanol	40 mg/L (Moreno in sod., 2005)	topilo ali kemikalije
3-metilbutanol	30 mg/L (Moreno in sod., 2005)	topilo ali kemikalije
2-feniletanol	10 mg/L (Moyano in sod., 2002)	cvetlice
etil acetat	15 mg/L (Moyano in sod., 2002)	sadje, topilo ali kemikalije
etil butirat	20 µg/L (Moyano in sod., 2009)	sadje
etil heksanoat	5 µg/L (Moreno in sod., 2005; Moyano in sod., 2009)	sadje
etil kaprilat	580 µg/L (Peinado in sod., 2004a)	sadje, maščobe
etil kaprat	510 µg/L (Moyano in sod., 2009)	sadje, maščobe
izoamil acetat	30 µg/L (Moreno in sod., 2005)	sadje
2-feniletil acetat	250 µg/L (Moreno in sod., 2005)	cvetlice
1-heksanol	1300 µg/L (Moyano in sod., 2002)	zeleno
4-vinilgvajakol	440 µg/L (Rocha in sod., 2005)	fenoli, začimbe
4-vinilfenol	725 µg/L (Chatonnet in sod., 1992a, 1993)	fenoli
linalool	15 µg/L (Guth, 1997)	cvetlice
citronelol	18 µg/L (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a)	cvetlice
α-terpineol	250 µg/L (Guth, 1997)	cvetlice

Vse spojine, ki presegajo $OAV > 1$, so spojine, ki vplivajo na vonj vina. Z združevanjem oziroma seštevanjem OAV , ki podobno dišijo v isto skupino, se lahko ovrednoti vplive AS na značilne vonje vina, kot so vonj po sadju, cvetlicah, zelenem, fenolih, topilu ali kemikalijah, začimbah, maščobah in podobno. Posamezna AS lahko sodeluje pri oblikovanju ene, dveh ali celo treh opisov vonja. Seštevki OAV so bili statistično obdelani z multivariantno analizo variance s programom Statgraphic Centurion XVI.

3.6 ANALIZA Z METODO GLAVNIH KOMPONENT (PCA)

Metoda glavnih komponent (PCA, angl. principal component analysis) je ena najpogosteje uporabljenih multivariantnih metod. Osnova jo je Karl Pearson (1901). Osnovna zamisel metode je opisati razpršenost n enot v m razsežnem prostoru (določen z m merjenimi spremenljivkami) z množico nekoreliranih spremenljivk – komponent, ki so linearne kombinacije originalnih merjenih spremenljivk. Nove spremenljivke so urejene od najpomembnejše do najmanj pomembne, kjer pomembnost pomeni, da prva glavna komponenta pojasnjuje kar največ razpršenosti osnovnih podatkov. Običajni cilj te analize je poiskati nekaj prvih komponent, ki pojasnjujejo večji del razpršenosti analiziranih podatkov. Analiza glavnih komponent omogoča povzeti podatke s čim manjšo izgubo informacij tako, da zmanjša razsežnost podatkov (Batagelj, 2009).

V literaturi je znanih več pravil za določitev števila najpomembnejših komponent:

1. izbrano število komponent naj pojasni vsaj 80 % skupne variabilnosti;
2. lastne vrednosti komponent naj bodo večje kot povprečna vrednost lastnih vrednosti;
3. odstotek pojasnjene variance zadnje vzete komponente naj bo vsaj 5;
4. število komponent določimo na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti tako, da v koordinatnem sistemu nanašamo na abscisno os število komponent, na ordinatno pa ustrezne lastne vrednosti (nem. eigenvalue). Tam, kjer se graf lomi, je sugestija za število komponent (Batagelj, 2009).

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP (Microsoft). Povezave med parametri so bile testirane z multivariantno metodo PCA, ki ju omogoča statistični paket SAS (1990). Kot spremenljivke smo v nadaljevanju uporabili senzorično aktivne AS oz. natančneje njihove $OAV > 1$ (Rocha in sod., 2004; Moyano in sod., 2009).

3.7 IZVEDBA VINIFIKACIJ V LETIH 2008 IN 2009

3.7.1 Vinifikacije 2008

Za poskusne vinifikacije v letu 2008 so bile izbrane sorte rebula in malvazija (*Vitis vinifera* L.) iz vinorodnega okoliša Goriška Brda ter sorta zelen (*Vitis vinifera* L.) iz vinorodnega okoliša Vipavska dolina. Tako smo izvedli vinifikacije, v katerih smo kontrolni postopek primerjali s tremi posebnimi tehnikami maceracije: s postopkom hladne maceracije drozge, s postopkom dodatka 7 % (w/w) jagod v mošt med alkoholno fermentacijo in s postopkom zamrzovanja grozdja (rebula, malvazija) ali drozge (zelen). S tem poskusom smo hoteli proučiti vplive različnih tehnik maceracije na vina, pridelana iz grozdja v polni zrelosti in namenjena porabi v 5-18 mesecev po trgatvi. Zato smo trgatev grozdja izvedli 13.09.2008 pri sladkorni stopnji 88 °Oe za sorto rebula, 94 °Oe za sorto malvazija in 17.09.2008 za sorto zelen pri 81 °Oe. 60 kg grozdja vsake posamezne sorte je bilo razdeljeno na štiri dele in predelano po štirih postopkih, vsak postopek je bil izveden v treh ponovitvah. Kemijske analize so bile izvedene v obdobju april-junij 2009.

Kontrolni postopek: Grozdje je bilo razpecljano, zdrozgano in stisnjeno v najkrajšem možnem času. V mošt je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter (5 % raztopina H₂SO₃), sledilo je samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,1 L in prelit v fermentacijske posode s prostornino 1,5 L ter dogret do 18 °C. Začetek alkoholne fermentacije je bil spodbujen z dodatkom aktivnega kvasnega nastavka *Saccharomyces cerevisiae* CM (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Alkoholna fermentacija je potekala pri 18 °C, tretji dan po začetku alkoholne fermentacije je bila dodana hrana za kvasovke (diamonijev hidrogenfosfat, kvasni ekstrakt, magnezijev sulfat, neaktivne kvasne celice, vitamini B1, B3, B5, B9 in H) v obliki komercialnega preparata FERMAID E (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Štiri dni po koncu alkoholne fermentacije (manj kot 2 g/L reducirajočih sladkorjev) je bil izveden pretok v litrske steklenice in žveplanje vina s 50 mg žveplovega dioksida. Vino je bilo hranjeno do izvedbe fizikalnih in kemijskih analiz pri temperaturi 8-10 °C.

Postopek hladne maceracije drozge: Grozdje je bilo razpecljano in zdrozgano. Sledila je hladna maceracija drozge pri 6 °C z dolžino 12 h. Po maceraciji je bila drozga stisnjena v najkrajšem možnem času. V mošt je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter, sledilo je samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,1 L in prelit v fermentacijske posode s prostornino 1,5 L ter dogret do 18 °C. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli.

Postopek dodatka 7 % jagod v mošt med alkoholno fermentacijo: Grozdje je bilo razpecljano, zdrozgano in stisnjeno v najkrajšem možnem času. V mošt je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter in sledilo je samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,1 L in prelit v fermentacijske posode s prostornino 1,5 L ter dogret do 18 °C. V mošt je bilo dodano 85 g (7 % w/w) zrelih in nepoškodovanih grozdnih jagod. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli.

Postopek zamrzovanja grozdja ali drozge: Grozdje sorte zelen je bilo razpecljano, zdrozgano in takoj zamrznjeno. Po dvanajstih urah se je drozga odtalila pri temperaturi

6 °C. Stiskanje drozge je bilo izvedeno v najkrajšem možnem času. Grozdje sort rebula in malvazija pa je bilo zamrznjeno celo in odtajano na sobni temperaturi. Sledilo je pecljanje in drozganje, ki pa je bilo oteženo zaradi deloma zmečanih odtajanih jagod in deloma še zamrznjenega grozdja. Konstrukcija stiskalnice namreč ni omogočala stiskanja celega grozdja. V mošt vseh treh sort je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter. Samobistrenje mošta je bilo izvedeno pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,1 L in prelit v fermentacijske posode s prostornino 1,5 L ter dogret do 18 °C. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli.

3.7.2 Vinifikacije 2009 – postopki dodatka jagod v mošt

Za poskusne vinifikacije v letu 2009 so bile izbrane sorte rebula in malvazija iz vinorodnega okoliša Goriška Brda ter sorta zelen iz vinorodnega okoliša Vipavska dolina. Tako smo v letu 2009 glede na dobljene rezultate letnika 2008 in pomanjkanje obstoječih podatkov v literaturi izvedli poglobljeno študijo dveh posebnih tehnik maceracije, to je tehnologij dodatka jagod in zamrzovanja grozdja in drozge. S poskusnimi vinifikacijami smo hoteli proučiti vplive omenjenih tehnik maceracij na vina, pridelana iz manj zrelega grozdja kot v 2008 in namenjena porabi že v dveh-treh mesecih do maksimalno enega leta po trgatvi. Zato smo trgatev grozdja izvedli 03.09.2009 pri sladkorni stopnji za sorto rebula 81 °Oe, za sorto malvazija 82 °Oe in 31.08.2009 za sorto zelen pri 80 °Oe. Najprej smo izvedli študijo vinifikacij, v katerih smo kontrolni postopek primerjali z dvema postopkoma dodatka 6 in 12 % (w/w) grozdnih jagod v mošt med alkoholno fermentacijo. 50 kg grozdja vsake posamezne sorte je bilo razdeljeno na tri dele in predelano po sledečih treh postopkih, vsak postopek je bil izveden v treh ponovitvah. V letu 2009 smo za stiskanje grozdja in drozge zaradi poenotenja postopkov uporabili novo vodno stiskalnico z možnostjo kontrole tlaka. Kemijske analize so bile izvedene v obdobju december 2009-januar 2010.

Kontrolni postopek: Grozdje je bilo razpecljano, zdrozgano in stisnjeno v najkrajšem možnem času. V mošt je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter (5 % raztopina H₂SO₃) in sledilo je samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,6 L in prelit v fermentacijske posode s prostornino 2,0 L ter dogret do 17 °C. Začetek alkoholne fermentacije je bil spodbujen z dodatkom aktivnega kvasnega nastavka *Saccharomyces cerevisiae* CM (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Alkoholna fermentacija je potekala pri 17 °C, tretji dan po začetku alkoholne fermentacije je bila dodana hrana za kvasovke v obliki komercialnega preparata FERMAID E (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Štiri dni po koncu alkoholne fermentacije (manj kot 3 g/L reducirajočih sladkorjev) je bil izveden pretok v 1,5 L steklenice in žveplanje vina s 100 mg žveplovega dioksida. Vino je bilo hranjeno do izvedbe fizikalnih in kemijskih analiz pri temperaturi 8-10 °C.

Postopek dodatka 6 % jagod v mošt med alkoholno fermentacijo: Grozdje je bilo razpecljano, zdrozgano in stisnjeno v najkrajšem možnem času. V mošt je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter, sledilo je samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,6 l in prelit v fermentacijske posode s prostornino 2,0 L ter dogret do 17 °C. V mošt je bilo dodano 103 g (6 % w/w) zrelih in

nepoškodovanih grozdnih jagod. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli, jagode so bile odstranjene ob pretoku.

Postopek dodatka 12 % jagod v mošt med alkoholno fermentacijo: Grozdje je bilo razpecljano, zdrozgano in stisnjeno v najkrajšem možnem času. V mošt je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter, sledilo je samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,6 l in prelit v fermentacijske posode s prostornino 2,0 L dogret do 17 °C. V mošt je bilo dodano 206 g (12 % w/w) zrelih in nepoškodovanih grozdnih jagod. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli, jagode so bile odstranjene ob pretoku.

3.7.3 Vinifikacije 2009 – postopki zamrzovanja drozge in grozdja

Za poskusne vinifikacije v letu 2009 so bile izbrane sorte rebula in malvazija iz vinorodnega okoliša Goriška Brda ter sorta zelen iz vinorodnega okoliša Vipavska dolina. Nadaljevali smo s študijo vinifikacij, v katerih smo kontrolni postopek primerjali s postopkom zamrzovanja drozge in s postopkom zamrzovanja celega grozdja. V ta namen smo potrgali še dodatnih 40 kg grozdja vsake posamezne sorte na isti dan in v istem vinogradu kot predhodno za primerjavo postopkov letnika 2009. 40 kg grozdja je bilo razdeljeno na dva dela in predelano po dveh postopkih, vsak postopek je bil izveden v treh ponovitvah. Kemijske analize so bile izvedene v obdobju december 2009-januar 2010.

Kontrolni postopek: Uporabili smo vzorce vina, pridobljene po kontrolnem postopku iz primerjave dodatka jagod v mošt.

Postopek zamrzovanje drozge: Grozdje je bilo razpecljano in zdrozgano ter drozga takoj zamrznjena. Po dvanajstih urah se je drozga odtajala pri sobni temperaturi. Stiskanje drozge je bilo izvedeno v najkrajšem možnem času. V mošt vseh treh sort je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter in izvedeno je bilo samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,6 L in prelit v fermentacijske posode s prostornino 2,0 L ter dogret do 17 °C. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli.

Postopek zamrzovanje grozdja: Celo grozdje je bilo takoj zmrznjeno. Po dvanajstih urah se je grozdje odtajala pri sobni temperaturi. Stiskanje grozdja brez prehodnega pecljanja je bilo izvedeno v najkrajšem možnem času. V mošt vseh treh sort je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter in izvedeno je bilo samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,6 L in prelit v fermentacijske posode s prostornino 2,0 L ter dogret do 17 °C. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli.

3.7.4 Vinifikacije 2009 – postopki maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Za poskusne vinifikacije v letu 2009 sta bili izbrani še sorti rebula iz vinorodnega okoliša Goriška Brda in malvazija iz vinorodnega okoliša Slovenska Istra. Tako smo kot zadnjo študijo vinifikacij izvedli primerjavo kontrolnega postopka s postopkom maceracije drozge med alkoholno fermentacijo ali fermentacijo »na tropu« in postopkom delne karbonske maceracije grozdnih jagod. Zaradi pomanjkanja podatkov v literaturi, a že obstoječe prakse pridelovalcev za postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, smo za predelavo izbrali zrelo grozdje sorte rebula, trgano 14.09.2009 pri 90 °Oe, in sorto malvazija, trgano 08.09.2009 pri 91 °Oe. Tako smo hoteli pridelati vina, ki so predvsem v kombinaciji z drugimi postopki, kot na primer zorenje v lesni posodi in ležanje vina na kvasovkah, namenjena porabi pozneje kot v letu dni po trgatvi. Postopek delne karbonske maceracije grozdnih jagod je postopek pridelave, ki združuje posebnosti karbonske maceracije in klasične pridelave, zato je bil preizkušen kot popolna novost. 50 kg grozdja vsake posamezne sorte je bilo razdeljeno na tri dele in predelano po treh postopkih, vsak postopek je bil izveden v treh ponovitvah. Kemijske analize so bile izvedene v obdobju december 2009-januar 2010.

Kontrolni postopek: Grozdje je bilo razpecljano, zdrozgano in stisnjeno v najkrajšem možnem času. V mošt je bilo dodano 30 mg žveplovega dioksida na liter (5 % raztopina H₂SO₃), sledilo je samobistrenje mošta pri 6 °C za 15 h. Bister dekantiran mošt je bil razdeljen na tri dele po 1,6 l in prelit v fermentacijske posode s prostornino 2,0 L ter dogret do 17 °C. Začetek alkoholne fermentacije je bil spodbujen z dodatkom aktivnega kvasnega nastavka *Saccharomyces cerevisiae* CM (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Alkoholna fermentacija je potekala pri 17 °C, tretji dan po začetku alkoholne fermentacije je bila dodana hrana za kvasovke v obliki komercialnega preparata FERMAID E (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Štiri dni po koncu alkoholne fermentacije ob povretju do suhega je bil izveden pretok v 1,5 l steklenice in žveplanje vina s 100 mg žveplovega dioksida. Vino je bilo hranjeno do izvedbe kemijskih analiz pri temperaturi 8-10 °C.

Postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo: Grozdje je bilo razpecljano in zdrozgano in v najkrajšem možnem času. Drozga je bila razdeljena v tri odprte posode. Začetek alkoholne fermentacije direktno v drozgi je bil spodbujen z dodatkom aktivnega kvasnega nastavka *Saccharomyces cerevisiae* CM (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Po 3,5 dneh alkoholne fermentacije pri 17 °C je bila drozga stisnjena. Stiskanje je bilo izvedeno pri sobni temperaturi z namenom, da se ne prekine alkoholna fermentacija. Iz vsake posode smo 1,6 L mošta prelili v fermentacijske posode s prostornino 2,0 L. Nadaljevanje alkoholne fermentacije je potekalo pri 17 °C. Peti dan po začetku alkoholne fermentacije je bila dodana hrana za kvasovke v obliki komercialnega preparata FERMAID E (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli.

Postopek delne karbonske maceracije: Polovica grozdja je bila razpecljana, zdrozgana in stisnjena v najkrajšem možnem času. Mošt je bil razdeljen v tri posode. Druga polovica grozdja je bila samo razpecljana tako, da so bile jagode cele in minimalno poškodovane. Jagode smo enakomerno porazdelili v prej omenjene posode z moštom tako, da je mošt

popolnoma prekrival jagode. Začetek alkoholne fermentacije je bil spodbujen z dodatkom aktivnega kvasnega nastavka *Saccharomyces cerevisiae* CM (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Po 3,5 dneh alkoholne fermentacije pri 17 °C je bila zmes trdnih jagod in mošta stisnjena. Stiskanje je bilo izvedeno pri sobni temperaturi z namenom, da se ne prekine alkoholna fermentacija. Iz vsake posode smo 1,6 L mošta prelili v fermentacijske posode s prostornino 2,0 L. Nadaljevanje alkoholne fermentacije je potekalo pri 17 °C. Peti dan po začetku alkoholne fermentacije je bila dodana hrana za kvasovke v obliki komercialnega preparata FERMAID E (Lallemand) v odmerku 20 g/hL. Nadaljevanje postopka je potekalo enako kot pri kontroli.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Glavni cilj izvedenih vinifikacij v letih 2008 in 2009 je bila določitev končne vsebnosti prostih aromatičnih spojin (AS) v vinih, ki jih lahko pridelamo z dokaj enostavnimi postopki predelave grozdja brez nakupa posebne dodatne opreme v vinski kleti. Pri tem smo proučevali vplive različnih postopkov pridelave vina, kot so hladna maceracija, dodatek grozdnih jagod v mošt med alkoholno fermentacijo, zamrzovanje grozdja ali drozge in maceracijo drozge med alkoholno fermentacijo. Ker pri izvedbi teh postopkov, enako kot pri klasični maceraciji, vedno poteka podaljšan stik tekočega in trdnega dela grozdne jagode v kontroliranih razmerah pred stiskanjem ali celo med alkoholno fermentacijo, jih bomo v nadaljevanju obravnavali kot postopke maceracije. Rezultate postopkov maceracije smo vedno primerjali s kontrolnim postopkom, torej klasično hitro predelavo belega grozdja.

Znano je, da maceracija splošno poveča vsebnost primarnih prostih AS in tudi vezanih glikozidnih oblik v moštu (Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Sanchez Palomo in sod., 2006; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Te vezane glikozidne oblike so enake v vseh moštih in vinih, le da jih je v nearomatičnih sortah manj (Cabrita in sod., 2006). Vendar večja vsebnost vezanih glikozidnih oblik v moštu ne pomeni nujno tudi več odgovarjajočih primarnih prostih AS v vinu (Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). V tem smislu je določitev vezanih glikozidnih oblik kot samo potencialno aktivnih AS manj pomembna. Le izjemoma lahko z dovoljenimi enološkimi postopki iz njih sprostimo še več primarnih prostih AS, na primer z dodatkom eksogenih β -glukozidaz v vina po alkoholni fermentaciji (Cabaroglu in sod., 2003; Sanchez Palomo in sod., 2005; Cabrita in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2006). Z zavedanjem o relativno majhni vsebnosti teh primarnih komponent v nearomatičnih sortah vina, smo določali tudi sekundarne fermentacijske AS. Te se sicer ne nahajajo v vezanih glikozidnih oblikah, vendar se zaradi spremenjene sestave mošta po maceraciji korenito spremenijo tudi razmere za alkoholno fermentacijo samo. Ta sprememba se odraža v spremenjeni končni vsebnosti tipičnih sekundarnih fermentacijskih spojin, kot so višji alkoholi in estri, pa tudi na vsebnosti potencialno negativnih AS, kot so hlapni fenoli (Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008).

V nadaljevanju dela smo komentirali rezultate vsebnosti posameznih skupin AS, vsebnosti fenolnih spojin, osnovnih kemijskih parametrov, prispevek senzorično pomembnih spojin in senzorično oceno vina ter na koncu zbrali najpomembnejše zaključke. Preizkusili smo tudi aplikacijo statistične metode glavnih komponent na vsebnost AS posameznih vinifikacij. Vinifikacije so bile razporejene in komentirane po letnikih 2008 in 2009 ter sortah zelen, rebula in malvazija.

4.1 VINIFIKACIJE 2008

V letu 2008 smo izvedli primerjalno študijo štirih postopkov pridelave vina sort zelen, rebula in malvazija. Izvedli smo vinifikacije, v katerih smo kontrolni postopek primerjali s tremi posebnimi tehnikami maceracije, torej s postopkom hladne maceracije, s postopkom dodatka 7 % jagod v mošt med alkoholno fermentacijo in s postopkom zamrzovanja drozge (zelen) ali grozdja (rebula, malvazija).

V nadaljevanju smo podali rezultate meritev osnovnih kemijskih parametrov, vsebnosti AS, vsebnosti fenolnih spojin in senzorično oceno za vina sort zelen, rebula in malvazija letnika 2008. Rezultati so podani kot povprečne vrednosti \pm standardni odklik.

4.1.1 Osnovni kemijski parametri vina

Preglednica 17: Osnovni kemijski parametri vin letnika 2008

Table 17: Basic chemical parameters of wines vintage 2008

ZELEN	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje drozge
osnovni kemijski parametri				
dejanski alkohol (vol.%)	11,9 \pm 0,1 ^b	11,9 \pm 0,2 ^b	11,8 \pm 0,1 ^b	11,6 \pm 0,1 ^a
skupni suhi ekstrakt (g/L)	17,3 \pm 0,1 ^a	18,1 \pm 0,2 ^b	17,5 \pm 0,1 ^a	18,0 \pm 0,1 ^b
reducirajoči sladkorji (g/L)	0,7 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,3 ^a	0,9 \pm 0,2 ^a	1,0 \pm 0,2 ^a
pH (-)	3,24 \pm 0,00 ^a	3,39 \pm 0,01 ^c	3,29 \pm 0,01 ^b	3,54 \pm 0,01 ^d
skupne kisline (g vinske k./L)	6,4 \pm 0,1 ^b	6,5 \pm 0,2 ^b	6,3 \pm 0,1 ^b	5,9 \pm 0,4 ^a
hlapne kisline (g očetne k./L)	0,32 \pm 0,06 ^a	0,31 \pm 0,01 ^a	0,28 \pm 0,03 ^a	0,32 \pm 0,02 ^a
pepel (g/L)	1,54 \pm 0,01 ^a	1,90 \pm 0,05 ^c	1,64 \pm 0,01 ^b	2,23 \pm 0,02 ^d
metanol (mg/L)	26 \pm 6 ^a	33 \pm 7 ^a	32 \pm 4 ^a	35 \pm 1 ^a
REBULA	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
osnovni kemijski parametri				
dejanski alkohol (vol.%)	12,2 \pm 0,1 ^c	11,4 \pm 0,1 ^a	12,2 \pm 0,1 ^c	11,5 \pm 0,1 ^b
skupni suhi ekstrakt (g/L)	18,2 \pm 0,1 ^a	18,3 \pm 0,1 ^{ab}	18,4 \pm 0,1 ^b	18,7 \pm 0,1 ^c
reducirajoči sladkorji (g/L)	1,3 \pm 0,5 ^a	0,9 \pm 0,1 ^a	1,3 \pm 0,4 ^a	1,1 \pm 0,3 ^a
pH (-)	3,34 \pm 0,01 ^a	3,46 \pm 0,01 ^b	3,36 \pm 0,02 ^a	3,59 \pm 0,02 ^c
skupne kisline (g vinske k./L)	5,9 \pm 0,1 ^b	5,4 \pm 0,1 ^a	5,9 \pm 0,1 ^b	5,5 \pm 0,1 ^a
hlapne kisline (g očetne k./L)	0,27 \pm 0,01 ^c	0,18 \pm 0,01 ^b	0,27 \pm 0,01 ^c	0,12 \pm 0,02 ^a
pepel (g/L)	1,23 \pm 0,02 ^a	1,38 \pm 0,01 ^c	1,30 \pm 0,02 ^b	1,73 \pm 0,03 ^d
metanol (mg/L)	23,3 \pm 0,9 ^a	22,7 \pm 0,2 ^a	27,0 \pm 0,3 ^{ab}	29 \pm 6 ^b
MALVAZIJA	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
osnovni kemijski parametri				
dejanski alkohol (vol.%)	12,7 \pm 0,1 ^b	12,5 \pm 0,1 ^a	12,9 \pm 0,1 ^c	12,5 \pm 0,1 ^a
skupni suhi ekstrakt (g/L)	19,8 \pm 0,1 ^a	20,0 \pm 0,2 ^a	19,8 \pm 0,2 ^a	20,8 \pm 0,3 ^b
reducirajoči sladkorji (g/L)	0,8 \pm 0,2 ^a	1,1 \pm 0,3 ^{ab}	1,6 \pm 0,7 ^b	1,1 \pm 0,3 ^{ab}
pH (-)	3,45 \pm 0,01 ^a	3,50 \pm 0,00 ^c	3,47 \pm 0,02 ^b	3,58 \pm 0,01 ^d
skupne kisline (g vinske k./L)	6,3 \pm 0,1 ^c	6,0 \pm 0,1 ^a	6,2 \pm 0,1 ^{bc}	6,0 \pm 0,2 ^{ab}
hlapne kisline (g očetne k./L)	0,20 \pm 0,03 ^b	0,18 \pm 0,01 ^b	0,17 \pm 0,01 ^b	0,11 \pm 0,02 ^a
pepel (g/L)	1,67 \pm 0,03 ^a	1,83 \pm 0,03 ^b	1,65 \pm 0,04 ^a	2,04 \pm 0,06 ^c
metanol (mg/L)	31 \pm 3 ^a	37 \pm 1 ^b	45,0 \pm 0,4 ^c	31,1 \pm 0,5 ^a

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Vino zelen 2008 (preglednica 17)

V postopku zamrzovanja drozge smo določili statistično značilno manjšo vsebnost dejanskega alkohola, v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge pa tudi večji skupni suhi ekstrakt in večjo vsebnost pepela. Takšne spremembe osnovnih kemijskih parametrov so pogoste v maceriranih vinih in kažejo na povečano ekstrakcijo v času maceracije (Cabaroğlu in sod., 1997; Selli in sod., 2006). V postopku zamrzovanja drozge smo določili manjšo vsebnost skupnih kislin, v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge pa tudi višji pH. Manjša vsebnost skupnih kislin in višji pH sta značilnost maceriranih vin (Reynolds in sod., 1993; Cabaroğlu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007). Kot razlog lahko skladno z literaturo potrdimo delno kristalizacijo vinske kisline zaradi zamrzovanja med maceracijo (Reynolds in sod., 1993). Večje vsebnosti metanola v maceriranih vinih so posledica demetilizacije pektina iz

jagodnih kožic pod vplivom encimov pektinmetilesteraz iz grozdja (Ramey in sod., 1986; Tamborra, 1992; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). V vinih sorte zelen nismo določili statistično značilno večjih vsebnosti metanola v postopkih maceracije. Največja vsebnost v postopku zamrzovanja drozge (35 mg/L) je bila precej manjša od največje dovoljene vsebnosti 150 mg/L za bela vina po veljavni slovenski zakonodaji (Pravilnik, 2004).

Vino rebula 2008 (preglednica 17)

V postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja smo določili 0,8 vol.% in 0,7 vol.% manj dejanskega alkohola kot v kontrolnem postopku. Iz zelo podobnega preostanka reducirajočih sladkorjev v vseh postopkih je razvidno, da je alkoholna fermentacija potekla do porabe vseh sladkorjev. Manjša vsebnost dejanskega alkohola je lahko celo prednost ob trenutno aktualnem trendu vin z manjšo vsebnostjo dejanskega alkohola. Statistično značilno večji skupni suhi ekstrakt smo določili v postopku zamrzovanja grozdja, večjo vsebnost pepela pa v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja. Skupne kisline in pH so izkazovale isti trend kot pri sorti zelen. Tudi pri rebuli smo v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja določili statistično značilno manjšo vsebnost skupnih kislin in višji pH. Vsebnosti hlapnih kislin v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja so bile statistično značilno manjše kot v postopku kontrole. Ta podatek je skladen z nekaterimi objavljenimi rezultati (Cabaroglu in sod., 1997; Sanchez Palomo in sod., 2007), vendar so razlike majhne. V vinih sorte rebula smo določili statistično značilno večje vsebnosti metanola samo v postopku zamrzovanja grozdja. Največja vsebnost v postopku zamrzovanja grozdja (29 mg/L) je bila precej manjša od največje dovoljene vsebnosti 150 mg/L za bela vina po veljavni slovenski zakonodaji (Pravilnik, 2004).

Vino malvazija 2008 (preglednica 17)

V postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja smo določili statistično značilno manjše vsebnosti dejanskega alkohola in višji pH, večji skupni suhi ekstrakt pa le v postopku zamrzovanja grozdja. Statistično značilno manjšo vsebnost skupnih kislin smo določili le v postopku hladne maceracije. V vinih sorte malvazija smo določili statistično značilno večje vsebnosti metanola v postopkih hladne maceracije in dodatka jagod v mošt. Največja koncentracija metanola v postopku dodatka jagod (45 mg/L) je bila precej manjša od največje dovoljene vsebnosti 150 mg/L za bela vina po veljavni slovenski zakonodaji (Pravilnik, 2004).

4.1.2 Aromatične spojine

Preglednica 18: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih zelen letnika 2008

Table 18: Aroma compounds content in Zelen wines vintage 2008

aromatične spojine	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje drozge
acetaldehid (mg/L)	6 ± 5 ^a	8 ± 3 ^a	3 ± 2 ^a	9 ± 5 ^a
etil acetat (mg/L)	115 ± 17 ^b	43,4 ± 0,6 ^a	111 ± 9 ^b	31 ± 2 ^a
2-butanol (mg/L)	-	-	-	-
1-propanol (mg/L)	23 ± 3 ^b	19,5 ± 0,3 ^a	23 ± 1 ^b	20,2 ± 0,3 ^{ab}
2-metilpropanol (mg/L)	35 ± 2 ^a	43 ± 1 ^b	34,2 ± 0,3 ^a	42 ± 3 ^b
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	32 ± 1 ^a	47,4 ± 0,6 ^c	35,9 ± 0,9 ^b	49,2 ± 0,4 ^d
3-metilbutanol (mg/L)	148 ± 11 ^a	199 ± 2 ^c	171 ± 8 ^b	204 ± 5 ^c
2-feniletanol (mg/L)	32 ± 3 ^a	55,0 ± 0,7 ^c	38 ± 2 ^b	58 ± 2 ^c
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>270</i>	<i>363,9</i>	<i>302,1</i>	<i>373,4</i>
etil butirat (µg/L)	366 ± 10 ^b	233 ± 8 ^a	428 ± 6 ^c	217 ± 11 ^a
etil heksanoat (µg/L)	570 ± 16 ^b	397 ± 39 ^a	708 ± 16 ^c	409 ± 0 ^a
heksil acetat (µg/L)	275 ± 40 ^c	58 ± 0 ^a	121 ± 16 ^b	46 ± 5 ^a
etil laktat (µg/L)	4276 ± 475 ^a	4423 ± 814 ^a	5641 ± 121 ^a	6350 ± 3283 ^a
etil kaprilat (µg/L)	1239 ± 56 ^b	903 ± 82,0 ^a	1143 ± 153 ^b	933 ± 25 ^a
etil kaprat (µg/L)	593 ± 6 ^b	439 ± 38 ^a	482 ± 45 ^a	443 ± 9 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	112 ± 16 ^{ab}	122 ± 4 ^{ab}	109 ± 2 ^a	129 ± 8 ^b
etil lavrat (µg/L)	37 ± 2 ^a	35 ± 6,4 ^a	37 ± 3 ^a	38 ± 4 ^a
etil cinamat (µg/L)	2 ± 2 ^a	1 ± 0 ^a	1 ± 0 ^a	1 ± 1 ^a
etil palmitat (µg/L)	6 ± 1 ^a	7 ± 1 ^a	7 ± 1 ^a	8 ± 1 ^a
izoamil acetat (µg/L)	3260 ± 423 ^b	1501 ± 21 ^a	3304 ± 214 ^b	1291 ± 97 ^a
2-feniletil acetat (µg/L)	466 ± 49 ^c	308 ± 3 ^b	344 ± 27 ^a	253 ± 12 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>11202</i>	<i>8427</i>	<i>12325</i>	<i>10118</i>
1-heksanol (µg/L)	1349 ± 67 ^c	1026 ± 3 ^a	1327 ± 17 ^c	1118 ± 18 ^b
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	21 ± 1 ^b	18 ± 0 ^a	20 ± 1 ^{ab}	18 ± 0 ^a
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-	-
1-heksanal (µg/L)	6 ± 4 ^b	3 ± 3 ^{ab}	6 ± 2 ^b	- ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1376</i>	<i>1047</i>	<i>1353</i>	<i>1136</i>
4-vinilfenol (µg/L)	117 ± 5 ^a	273 ± 5 ^c	151 ± 1 ^b	354 ± 23 ^d
4-etilgvajakol (µg/L)	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a
4-vinilgvajakol (µg/L)	516 ± 8 ^a	734 ± 39 ^b	710 ± 12 ^b	908 ± 53 ^c
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>633</i>	<i>1007</i>	<i>861</i>	<i>1262</i>
linalool (µg/L)	56 ± 6 ^a	92 ± 5 ^b	80 ± 14 ^b	139 ± 8 ^c
α-terpineol (µg/L)	111 ± 16 ^a	144 ± 23 ^{ab}	194 ± 23 ^{bc}	223 ± 47 ^c
citronelol (µg/L)	13 ± 1 ^a	27 ± 1 ^c	19 ± 1 ^b	36 ± 1 ^d
nerol (µg/L)	- ^a	- ^a	- ^a	15 ± 1 ^b
geraniol (µg/L)	-	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>180</i>	<i>263</i>	<i>293</i>	<i>413</i>
benzil alkohol (µg/L)	20 ± 3 ^a	81 ± 3 ^c	29 ± 1 ^b	90 ± 9 ^c
benzaldehyd (µg/L)	2 ± 0 ^a	5 ± 0 ^b	2 ± 0 ^a	9 ± 2 ^c
β-ionon (µg/L)	-	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	2501 ± 60 ^a	3585 ± 43 ^c	2673 ± 23 ^b	2569 ± 62 ^a

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom (p ≤ 0,05).

Preglednica 19: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih rebula letnika 2008

Table 19: Aroma compounds content in Ribolla Gialla wines vintage 2008

aromatične spojine	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
acetaldehid (mg/L)	9,7 ± 0,4 ^b	9,3 ± 0,2 ^b	8,2 ± 0,9 ^a	7,4 ± 0,1 ^a
etil acetat (mg/L)	86,6 ± 0,8 ^b	70 ± 8 ^{ab}	61 ± 5 ^a	82 ± 14 ^{ab}
2-butanol (mg/L)	-	-	-	-
1-propanol (mg/L)	19,0 ± 0,3 ^a	19,3 ± 0,5 ^a	18,7 ± 0,2 ^a	22,8 ± 0,3 ^b
2-metilpropanol (mg/L)	38,3 ± 0,7 ^a	40,3 ± 0,1 ^a	39 ± 2 ^a	53 ± 2 ^b
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	40 ± 1 ^a	43,5 ± 0,7 ^b	43 ± 2 ^b	54,6 ± 0,3 ^c
3-metilbutanol (mg/L)	154 ± 2 ^a	182 ± 4 ^c	170 ± 8 ^b	202,1 ± 0,6 ^d
2-feniletanol (mg/L)	29,9 ± 0,4 ^a	39,0 ± 0,5 ^c	35 ± 2 ^b	34,2 ± 0,6 ^b
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>281,2</i>	<i>324,1</i>	<i>305,7</i>	<i>366,7</i>
etil butirat (µg/L)	203 ± 10 ^a	214 ± 5 ^a	278 ± 16 ^c	246 ± 8 ^b
etil heksanoat (µg/L)	536 ± 14 ^a	569 ± 44 ^a	596 ± 45 ^a	552 ± 11 ^a
heksil acetat (µg/L)	31 ± 2 ^b	33 ± 1 ^b	12 ± 2 ^a	60 ± 1 ^c
etil laktat (µg/L)	3082 ± 612 ^a	10145 ± 461 ^c	2878 ± 253 ^a	4868 ± 118 ^b
etil kaprilat (µg/L)	1013 ± 208 ^a	1114 ± 101 ^a	960 ± 118 ^a	918 ± 106 ^a
etil kaprat (µg/L)	590 ± 74 ^{ab}	642 ± 80 ^b	487 ± 49 ^a	494 ± 34 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	256 ± 7 ^b	185 ± 1 ^a	290 ± 15 ^c	200 ± 8 ^a
etil lavrat (µg/L)	49 ± 9 ^a	83 ± 17 ^b	43 ± 6 ^a	47 ± 5 ^a
etil cinamat (µg/L)	2 ± 1 ^a	1 ± 0 ^a	2 ± 1 ^a	2 ± 2 ^a
etil palmitat (µg/L)	8 ± 3 ^b	12 ± 1 ^c	5 ± 1 ^a	4 ± 0 ^a
izoamil acetat (µg/L)	1036 ± 43 ^b	808 ± 57 ^a	1046 ± 43 ^b	790 ± 30 ^a
2-feniletil acetat (µg/L)	238 ± 10 ^c	385 ± 6 ^d	126 ± 3 ^a	173 ± 1 ^b
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>7044</i>	<i>14191</i>	<i>6723</i>	<i>8354</i>
1-heksanol (µg/L)	553 ± 10 ^c	449 ± 6 ^a	531 ± 5 ^b	1528 ± 8 ^d
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-	-
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-	-
1-heksanal (µg/L)	-	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>553</i>	<i>449</i>	<i>531</i>	<i>1528</i>
4-vinilfenol (µg/L)	725 ± 31 ^c	748 ± 11 ^c	634 ± 22 ^b	467 ± 11 ^a
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	502 ± 14 ^a	542 ± 22 ^b	499 ± 6 ^a	802 ± 25 ^c
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1223</i>	<i>1290</i>	<i>1133</i>	<i>1269</i>
linalool (µg/L)	9 ± 1 ^a	9 ± 1 ^a	8 ± 1 ^a	13 ± 1 ^b
α-terpineol (µg/L)	- ^a	- ^a	- ^a	38 ± 9 ^b
citronelol (µg/L)	25 ± 3 ^a	23 ± 1 ^a	26 ± 2 ^a	39 ± 4 ^b
nerol (µg/L)	-	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>34</i>	<i>32</i>	<i>34</i>	<i>90</i>
benzil alkohol (µg/L)	9 ± 0 ^a	21 ± 0 ^c	13 ± 1 ^b	24 ± 1 ^d
benzaldehyd (µg/L)	- ^a	2 ± 0 ^b	2 ± 0 ^a	- ^a
β-ionon (µg/L)	-	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	4643 ± 342 ^{bc}	3975 ± 423 ^a	4823 ± 313 ^c	4024 ± 206 ^{ab}

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 20: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih malvazija letnika 2008

Table 20: Aroma compounds content in Malvasia Istriana wines vintage 2008

aromatične spojine	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
acetaldehid (mg/L)	8 ± 4 ^b	2 ± 1 ^{ab}	0,7 ± 0,4 ^a	5 ± 6 ^{ab}
etil acetat (mg/L)	65 ± 8 ^{ab}	78 ± 4 ^b	47 ± 2 ^a	66 ± 22 ^{ab}
2-butanol (mg/L)	-	-	-	-
1-propanol (mg/L)	24 ± 1 ^b	21,3 ± 0,5 ^a	22,9 ± 0,3 ^{ab}	21 ± 2 ^a
2-metilpropanol (mg/L)	47 ± 4 ^a	66 ± 2 ^c	47 ± 1 ^a	57 ± 7 ^b
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	52 ± 3 ^a	77,0 ± 0,6 ^c	55 ± 1 ^a	72 ± 2 ^b
3-metilbutanol (mg/L)	196 ± 13 ^a	276 ± 3 ^c	219 ± 4 ^b	265 ± 7 ^c
2-feniletanol (mg/L)	30 ± 2 ^a	46,8 ± 0,4 ^c	32 ± 1 ^a	40,2 ± 0,7 ^b
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>349</i>	<i>487,1</i>	<i>375,9</i>	<i>455,2</i>
etil butirat (µg/L)	243 ± 6 ^c	149 ± 5 ^a	283 ± 3 ^d	206 ± 6 ^b
etil heksanoat (µg/L)	517 ± 14 ^c	297 ± 7 ^a	589 ± 8 ^d	482 ± 19 ^b
heksil acetat (µg/L)	35 ± 1 ^d	8 ± 0 ^a	14 ± 0 ^b	19 ± 4 ^c
etil laktat (µg/L)	4550 ± 681 ^{ab}	8190 ± 292 ^c	3765 ± 7 ^a	4966 ± 566 ^b
etil kaprilat (µg/L)	827 ± 83 ^c	550 ± 22 ^a	891 ± 8 ^c	702 ± 46 ^b
etil kaprat (µg/L)	507 ± 27 ^b	357 ± 32 ^a	527 ± 23 ^b	477 ± 89 ^b
dietil sukcinat (µg/L)	515 ± 29 ^b	417 ± 18 ^a	510 ± 13 ^b	423 ± 39 ^a
etil lavrat (µg/L)	81 ± 6 ^a	83, ± 16 ^a	99 ± 11 ^a	98 ± 38 ^a
etil cinamat (µg/L)	15 ± 1 ^c	5 ± 1 ^a	4 ± 0 ^a	9 ± 2 ^b
etil palmitat (µg/L)	15 ± 1 ^a	20 ± 7 ^a	23 ± 4 ^a	21 ± 7 ^a
izoamil acetat (µg/L)	1268 ± 28 ^c	920 ± 24 ^a	1088 ± 24 ^b	1035 ± 124 ^{ab}
2-feniletil acetat (µg/L)	138 ± 1 ^c	126 ± 5 ^b	92 ± 0 ^a	126 ± 8 ^b
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>8711</i>	<i>11122</i>	<i>7885</i>	<i>8564</i>
1-heksanol (µg/L)	998 ± 12,5 ^c	866 ± 11 ^b	821 ± 19 ^a	1369 ± 12 ^d
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	17 ± 0,5 ^c	14 ± 0 ^a	16 ± 0 ^b	35 ± 1 ^d
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-	-
1-heksanal (µg/L)	12 ± 1 ^b	- ^a	12 ± 0 ^b	- ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1027</i>	<i>880</i>	<i>849</i>	<i>1404</i>
4-vinilfenol (µg/L)	349 ± 20,5 ^a	471 ± 6 ^b	341 ± 35 ^a	330 ± 8 ^a
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	827 ± 27,7 ^a	916 ± 23 ^b	895 ± 14 ^b	1255 ± 56 ^c
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1176</i>	<i>1387</i>	<i>1236</i>	<i>1585</i>
linalool (µg/L)	31 ± 1,0 ^a	41 ± 2 ^b	34 ± 3 ^a	90 ± 2 ^c
α-terpineol (µg/L)	87 ± 9,1 ^a	104 ± 12 ^a	107 ± 8 ^a	212 ± 22 ^b
citronelol (µg/L)	23 ± 1,5 ^a	33 ± 2 ^b	23 ± 1 ^a	39 ± 2 ^c
nerol (µg/L)	-	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>141</i>	<i>178</i>	<i>164</i>	<i>341</i>
benzil alkohol (µg/L)	9 ± 0,5 ^a	22 ± 1 ^c	15 ± 1 ^b	24 ± 2 ^c
benzaldehyd (µg/L)	2 ± 0,1 ^b	2 ± 0 ^b	- ^a	2 ± 0 ^b
β-ionon (µg/L)	- ^a	4 ± 4 ^a	- ^a	- ^a
γ-butirolakton (µg/L)	6003 ± 228 ^a	6743 ± 222 ^b	7144 ± 366 ^b	5820 ± 493 ^a

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom (p<0,05).

Preglednica 21: Razmerja hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola v vinih letnika 2008

Table 21: Ratios between volatile phenols 4-vinyl guaiacol and 4-vinyl phenol in wines vintage 2008

ZELEN	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje drozge
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	4,4	3,0	4,7	2,6
REBULA	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	0,7	0,7	0,8	1,7
MALVAZIJA	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	2,4	1,9	2,8	3,8

4.1.2.1 C₆ alkoholi in aldehidi

Vino zelen 2008 (preglednica 18)

Pri sorti zelen so seštevki vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov celo presegali 1 mg/L pri vseh postopkih pridelave. Ta podatek je dokaj presenetljiv, saj smo vino pridelali iz zrelega grozdja, odstranili zelene dele vinske trte in takoj po stiskanju izvedeli bistrenje mošta z namenom omejevanja vsebnosti teh spojin v vinu (Rapp in sod., 1976; Roufet in sod., 1986; Ribéreau-Gayon in sod., 2006). Daleč največji delež je pripadal 1-heksanolu. Za vsebnost 1-heksanola smo ugotovili statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$) med postopki, največ smo ga določili v postopkih kontrole in dodatka jagod, značilno manj pa v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge. Pri sorti zelen smo tudi v primerjavi s sortama rebula in malvazija določili največje vsebnosti 1-heksanola ne glede na postopek pridelave, kar je dokaj redko, a ne izjemno (Cabaroğlu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Lukić in sod., 2008). Tako velike koncentracije so presegale povprečne podatke iz literature (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Prag senzorične zaznave 1300 µg/L (Moyano in sod., 2002) za to spojino je bil presežen pri postopkih kontrole (1349 µg/L) in dodatka jagod (1327 µg/L), s čimer lahko potrdimo vpliv te spojine na vonj sorte zelen v letniku 2008. Večje koncentracije C₆ alkoholov in aldehydov zaradi intenzivnega vonja po zelenem in travi sicer niso zaželeni, v koncentracijah blizu praga zaznave pa pozitivno vplivajo na svežino vonja nevtralnih sort (Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007). Splošno klasična maceracija sprosti več 1-heksanola v mošt in vino zaradi večjih koncentracij prisotnih nenasičenih maščobnih kislin in lipooksigenaz (Cabaroğlu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007). Tako prehaja v mošt predvsem 1-heksanol v prosti obliki, saj ga je v vezani obliki relativno malo (Cabaroğlu in sod., 2003). Pri sorti zelen večje vsebnosti 1-heksanola zaradi maceracije niso bile potrjene. Vsebnost 1-heksanola je bila v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge celo statistično značilno manjša od postopka kontrole. Možen vzrok je relativno nizka temperatura maceracije pri postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge, kar je bilo v literaturi že potrjeno (Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Ob tem velja omeniti, da smo stiskanje grozdja ali drozge v letu 2008 izvajali zaradi majhnih količin grozdja z navadno ročno stiskalnico brez možnosti kontrole tlaka. Zato je tudi možno, da se je v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge pojavilo manj 1-heksanola zaradi lažjega stiskanja že macerirane drozge kot drozge brez maceracije v postopkih kontrole in dodatka jagod. Vsebnosti ostalih C₆ alkoholov in aldehydov so bile zanemarljive v primerjavi z 1-heksanolom in niso dosegale pragov senzorične zaznave. Tako smo določili za *cis*-3-heksen-1-ol skoraj dvajsetkrat manjše vsebnosti od

senzoričnega praga zaznave 400 µg/L v vseh postopkih (Guth, 1997). 1-heksenala smo določili le po nekaj mikrogramov na liter v postopkih kontrole, hladne maceracije in dodatka jagod. Prisotnost za mošt značilnega *trans*-2-heksen-1-ola ni bila potrjena ne v vinu sorte zelen in ne pri ostalih dveh sortah, kar se sklada z opažanji drugih raziskovalcev (Selli in sod., 2003; Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006). Odsotnost *trans*-2-heksen-1-ola v vinu povezujemo z njegovo oksidacijo v ustrezne alkohole v času alkoholne fermentacije, delno tudi pod vplivom presnove kvasovk (Crouzet, 1986; Roufet in sod., 1986; Sanchez Palomo in sod., 2006).

Vino rebula 2008 (preglednica 19)

Pri sorti rebula so vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov dosegle povprečne vrednosti iz literature (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Največ smo določili 1-heksanola. Ta je v obravnavanih postopkih dosegel statistično značilne razlike, vendar z izjemo postopka zamrzovanja grozdja ni presegel praga senzorične zaznave. Pri sorti rebula maceracija ni opazno vplivala na sproščanje 1-heksanola z izjemo postopka zamrzovanja grozdja. V slednjem se je njegova vsebnost potrojila na 1528 µg/L in tako preseгла senzorični prag zaznave. Ta pojav zaradi uporabe enakega grozdja lahko povežem le z oteženim in tako nepopolnim pecljanjem odtajanega grozdja na pecljalniku pri sortah rebula in malvazija. Med pecljanjem nismo uspeli odstraniti vse pecljevine in iz med stiskanjem prisotnih zelenih delov grozda se je lahko ekstrahiralo več nenasičenih maščobnih kislin, torej prekurzorjev C₆ alkoholov in aldehydov (Rapp in sod., 1976; Crouzet, 1986; Roufet in sod., 1986).

Vino malvazija 2008 (preglednica 20)

Pri sorti malvazija je seštevek vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov celo presegal 1 mg/L pri postopkih kontrole (1027 µg/L) in zamrzovanja grozdja (1404 µg/L). Skupna vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov je preseгла povprečno določene vsebnosti v literaturi (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Največji delež je zopet pripadal 1-heksanolu, ki je izkazoval statistično značilne razlike med postopki. Največjo vsebnost 1369 µg/L in tako presežen prag senzorične zaznave smo določili v postopku zamrzovanja grozdja. Predvidevamo, da je vzrok enak kot omenjen pri sorti rebula. Vsebnosti ostalih C₆ alkoholov in aldehydov so bile podobne kot pri sorti zelen, a niso dosegle pragov senzorične zaznave. V postopku zamrzovanja grozdja smo podobno kot za 1-heksanol določili dvakrat več *cis*-3-heksen-1-ola kot v kontrolnem postopku. Njegove vsebnosti so se statistično značilno razlikovale med postopki.

4.1.2.2 Hlapni fenoli

Vino zelen 2008 (preglednici 18 in 21)

Pri sorti zelen smo največji seštevek hlapnih fenolov določili pri postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge in to na račun 4-vinilgvajakola. Koncentracije 4-vinilgvajakola so povprečno trikrat presegle koncentracijo 4-vinilfenola. Tako ni bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov, torej podobna koncentracija 4-vinilfenola in 4-vinilgvajakola (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). 4-vinilgvajakol je v vseh postopkih presegal senzorični prag zaznave 440 µg/L in bi lahko s svojim vonjem po popru ali nageljnovih žbicah vplival na vonj vina (Williams in sod., 1980; Rocha in sod., 2005). Med postopki smo določili statistično značilne razlike v

vsebnosti 4-vinilgvajakola. Za 76 % večjo vsebnost 4-vinilgvajakola v primerjavi s kontrolnim postopkom oz. 908 µg/L smo določili v postopku zamrzovanja drozge. Z negativnim senzoričnim vplivom v belih vinih povezujemo 4-vinilfenol v koncentracijah več kot 725 µg/L (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). Spojino smo določili v vseh postopkih s statistično značilnimi razlikami med postopki. Največjo povprečno vsebnost 354 µg/L smo določili v postopku zamrzovanja drozge, a ni dosegla niti polovice praga senzorične zaznave. 4-vinilfenol v belih vinih nastaja predvsem zaradi encimske dekarboksilacije prostih HCK pod vplivom kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* v času alkoholne fermentacije (Chatonnet in sod., 1993; Grando in sod., 1993). Za sorto zelen je značilna večja vsebnost HCK (Vanzo in sod., 2007). To smo potrdili tudi v našem poskusu, kot je razvidno v nadaljevanju. Glede na statistično značilne razlike v vsebnostih 4-vinilfenola in 4-vinilgvajakola med postopkom kontrole in maceriranimi vini lahko potrdimo, da so postopki maceracije vplivali na sproščanje hlapnih fenolov. Navkljub temu pri sorti zelen njihov kvarni vpliv ni bil potrjen. Z izjemo Rodriguez Bencomo in sod. (2008) tudi drugi avtorji niso določili senzorično pomembnih koncentracij 4-vinilfenola v maceriranih vinih (Cabaroğlu in sod., 1997; Selli in sod., 2006). Po podatkih iz literature so predvsem postopki z dodatkom različnih eksogenih encimov z višjo cinamoesterazno aktivnostjo potencialno nevarni za sproščanje hlapnih fenolov (Lao in sod., 1997; Dugelay in sod., 1993; Chatonnet in sod., 1992a; Günata, 1994; Tamborra in sod., 2004). Ta teza s strani drugih avtorjev ni vedno potrjena (Rocha in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2005; Arevalo Villena in sod., 2006).

Vino rebula 2008 (preglednici 19 in 21)

Pri sorti rebula smo določili pri vseh postopkih podoben seštevek hlapnih fenolov. Koncentracija 4-vinilgvajakola se je v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja statistično značilno razlikovala od kontrolnega postopka. 4-vinilgvajakol je v vseh postopkih presegel prag zaznave in tako vplival na vonj vina (Williams in sod., 1980; Rocha in sod., 2005). V postopku zamrzovanja grozdja smo določili 802 µg/L oz. za 60 % večjo vsebnost 4-vinilgvajakola od kontrolnega postopka. 4-vinilfenola smo določili povprečno vsaj dvakrat več kot v sorti zelen. Koncentracija 4-vinilfenola se je statistično značilno razlikovala med postopki, le med kontrolnim postopkom in postopkom hladne maceracije je bila primerljiva. Največjo povprečno vsebnost 748 µg/L smo določili v postopku hladne maceracije, kjer je 4-vinilfenol presegel prag senzorične zaznave 725 µg/L (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). Ker pa je bila njegova povprečna vsebnost v kontrolnem postopku primerljiva, v postopkih dodatka jagod in zamrzovanja grozdja pa statistično značilno manjša, lahko potrdimo, da pri sorti rebula postopki maceracije niso vplivali na končno večjo vsebnost te spojine v vinu. Zanimiva je bila določena najmanjša vsebnost 4-vinilfenola 467 µg/L v postopku zamrzovanja grozdja. Glede na podobnost s sorto malvazija je vzrok verjetno v izvedbi postopka zamrzovanja, kot smo predhodno pojasnili.

V postopkih kontrole in hladne maceracije lahko potrdimo možnost negativnega vpliva hlapnih fenolov na vonj vina rebula. Razlike v koncentracijah 4-vinilfenola in 4-vinilgvajakola so bile manjše, vsebnost 4-vinilfenola pa je presegala prag senzorične zaznave v postopku hladne maceracije.

Vino malvazija 2008 (preglednici 20 in 21)

Pri sorti malvazija smo določili največji seštevek hlapnih fenolov pri postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja. Največji delež je pripadal 4-vinilgvajakolu. Koncentracija 4-vinilgvajakola je povprečno vsaj dvakrat presegala koncentracijo 4-vinilfenola, v postopku zamrzovanja grozdja pa skoraj štirikrat. Tako ni bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov, torej podobna koncentracija 4-vinilfenola in 4-vinilgvajakola (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). 4-vinilgvajakol je v vseh postopkih presegal senzorični prag zaznave 440 µg/L in je lahko s svojim vonjem po popru ali nageljnovih žbicah vplival na vonj vina pri sorti malvazija (Williams in sod., 1980; Rocha in sod., 2005). Med postopki kontrole in zamrzovanja grozdja smo določili statistično značilne razlike v vsebnosti te spojine. Največjo vsebnost 4-vinilgvajakola smo tako kot pri zelenu in rebuli določili v postopku zamrzovanja grozdja, kjer je narasla celo na 1255 µg/L, to je za 51 % v primerjavi s kontrolnim postopkom. Povprečne vsebnosti 4-vinilfenola so bile večje kot pri sorti zelen. Statistično se je razlikovala od ostalih postopkov le največja koncentracija 471 µg/L pri postopku hladne maceracije. Vsebnosti 4-vinilfenola v obravnavanih postopkih niso presegle senzoričnega praga zaznave 725 µg/L (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). Postopki maceracije z izjemo hladne maceracije niso bistveno vplivali na končno vsebnost te spojine v vinu.

4.1.2.3 Višji alkoholi

Vino zelen 2008 (preglednica 18)

Višji alkoholi so kvantitativno najbolj zastopane AS v vinih, če ne upoštevamo etanola in očetne kisline. Pri sorti zelen je najmanjša razlika v seštevku višjih alkoholov od kontrolnega postopka določena pri seštevku višjih alkoholov postopka dodatka jagod. Seštevka višjih alkoholov sta bila največja pri postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge. Pri obeh postopkih je seštevek presegal prag 300 mg/L, pri kateri lahko višji alkoholi celo negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru seštevki višjih alkoholov niso presegali praga v nobenem postopku. Za sorto zelen v tem poskusu lahko potrdimo večjo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih, kar je skladno s študijami (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Sanchez Palomo in sod. (2007) so prikazali obratno razmerje. Med višjimi alkoholi smo določili največ 3-metilbutanola (izoamil alkohola) z vonjem po topilih, žganju ali kemikalijah. 3-metilbutanol je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave 30 mg/L (Moreno in sod., 2005). Statistično značilno največ smo ga določili v postopkih hladne maceracije (199 mg/L) in zamrzovanja drozge (204 mg/L). 2-metilpropanol s podobnim vonjem je senzorični prag zaznave 40 µg/L (Moreno in sod., 2005) presegel v postopkih hladne maceracije (43 mg/L) in zamrzovanja drozge (42 mg/L). Pri istih postopkih smo določili tudi statistično značilno več 2-metilbutanola, za katerega senzorični prag zaznave nikoli ni bil določen (Clarke in Bakker, 2004). Koncentracija 1-propanola z vonjem po alkoholu ali zrelem sadju ni dosegala praga senzorične zaznave 314 mg/L (Moyano in sod., 2002). 2-feniletanol in benzil alkohol povezujemo s pozitivnim vplivom na sensoriko vina (Selli in sod., 2003; Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006). Predvsem to velja za nevtralne sorte, ki vsebujejo malo terpenov (Rocha in sod., 2005). Oba se nahajata že v grozdju, 2-feniletanol pa se v večjih količinah tvori predvsem med alkoholno fermentacijo pod

vplivom kvasovk (Ramey in sod., 1986; Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2006). 2-feniletanol s svojim vonjem po vrtnici splošno pozitivno prispeva k aromatici vina. Njegov prag senzorične zaznave 10 mg/L je bil presežen v vseh obravnavanih postopkih (Moyano in sod., 2002; Moreno in sod., 2005). Statistično značilno največ smo ga določili v postopkih hladne maceracije (55 mg/L) in zamrzovanja drozge (58 mg/L), v katerih je celo petkrat presegel mejo senzorične zaznave. Njegova vsebnost v vinu verjetno sovпада z večjo vsebnostjo 3-metilbutanola in 2-metilpropanola, saj se oba tvorita po isti metabolni poti (Nykanen, 1986). Benzil alkohol povezujemo s sladkimi, cvetličnimi vonji. Med klasično maceracijo ali ob dodatku eksogenih encimov se njegova vsebnost poveča, saj se deloma nahaja v vezani glikozidni obliki (Cabarroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006). V tem poskusu smo za sorto zelen določili statistično značilno večje vsebnosti benzil alkohola v maceriranih vinih, celo do štirikrat več v postopkih hladne maceracije (81 µg/L) in zamrzovanja drozge (90 µg/L). Tako smo potrdili pozitiven vpliv maceracije na vsebnost te spojine. V literaturi je samo enkrat omenjen senzorični prag zaznave benzil alkohola 900 mg/L (Moreno in sod., 2005). Tako velikih koncentracij te spojine v podobnih študijah niso nikoli določili (Cabarroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2003; Tamborra in sod., 2004; Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006; Moyano in sod., 2009).

Vino rebula 2008 (preglednica 19)

Pri sorti rebula je bil seštevek višjih alkoholov največji pri postopku zamrzovanja grozdja (366,7 mg/L), kjer je tudi občutno presegal prag 300 mg/L (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Po Rappu in Manderyu (1986) seštevek višjih alkoholov ni presegal praga negativnega senzoričnega vpliva v nobenem postopku. Kot pri sorti zelen je bila najmanjša razlika pri seštevku višjih alkoholov od kontrolne postopka določena pri seštevku višjih alkoholov postopka dodatka jagod v mošt. Za sorto rebula v tem poskusu lahko potrdimo večjo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih, kar je skladno z drugimi študijami (Tamborra, 1992; Cabarroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Med višjimi alkoholi smo določili največ 3-metilbutanola z vonjem po topilih, žganju ali kemikalijah, ki je v vseh postopkih večkratno presegal senzorični prag zaznave. Med postopki smo za 3-metilbutanol potrdili statistično značilne razlike. Tako 3-metilbutanola (202 mg/L) kot 2-metilbutanola (55 mg/L) smo največ določili v postopku zamrzovanja grozdja. 2-metilpropanol se je statistično značilno razlikoval le v postopku zamrzovanja grozdja, kjer je tudi presegal senzorični prag zaznave. Koncentracija 1-propanola z vonjem po alkoholu ali zrelem sadju je bila z izjemo postopka zamrzovanja grozdja stabilna ne glede na postopek in ni dosegala praga senzorične zaznave. Prag senzorične zaznave za 2-feniletanol je bil presežen v vseh postopkih. Statistično značilno največ smo ga določili v postopku hladne maceracije (39 mg/L). Koncentracije 2-feniletanola v rebuli niso dosegale koncentracij določenih pri sorti zelen. Benzil alkohola smo statistično značilno več določili v maceriranih vinih, največ v postopkih postopkih hladne maceracije (21 µg/L) in zamrzovanja grozdja (24 µg/L). Določene koncentracije so bile manjše kot pri sorti zelen.

Vino malvazija 2008 (preglednica 20)

Pri sorti malvazija je bil seštevek višjih alkoholov največji v postopkih hladne maceracije (487,1 mg/L) in zamrzovanja grozdja (455,2 mg/L). Kot predhodno pri sortah zelen in

rebula je seštevek višjih alkoholov v kontrolnem postopku (349 mg/L) najbolj podoben seštevku v postopku dodatka jagod v mošt (375,9 mg/L). Pri vseh postopkih je presegal mejo 300 mg/L (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Tudi po Rappu in Manderyu (1986) je bil prag presežen v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja. Seštevki višjih alkoholov so bili splošno večji kot pri sortah zelen in rebula zaradi ustreznih večjih koncentracij 3-metilbutanola, 2-metilbutanol in 2-metilpropanola.

Za sorto malvazija v tem poskusu lahko potrdimo večjo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih, kar je skladno z drugimi študijami (Tamborra in sod., 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Med višjimi alkoholi je bilo največ 3-metilbutanola. 3-metilbutanol je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave. Med postopki smo določili statistično značilne razlike s primerljivo največjima koncentracijama v postopkih hladne maceracije (276 mg/L) in zamrzovanja grozdja (265 mg/L). Največje vsebnosti 2-metilpropanola in 2-metilbutanola so bile določene v istih postopkih, prvi je prag senzorične zaznave presegel v vseh postopkih. Koncentracija 1-propanola ni dosegala praga senzorične zaznave. Prag senzorične zaznave za 2-feniletanol je bil presežen v vseh postopkih. Statistično značilno največ smo ga določili v postopku hladne maceracije (47 mg/L), vendar največje koncentracije niso dosegale določenih pri sorti zelen. Benzil alkohola smo statistično značilno več določili v maceriranih vinih, največ v postopkih hladne maceracije (22 µg/L) in zamrzovanja grozdja (24 µg/L). Določene koncentracije so bile primerljive s sorto rebula.

4.1.2.4 Estri

Vino zelen 2008 (preglednica 18)

V sorti zelen smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopkih kontrole (115 mg/L) in dodatka jagod v mošt (111 mg/L). V ostalih dveh postopkih so bile vsebnosti vsaj trikrat manjše. Etil acetat je pri vseh postopkih presegel prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti zelen smo določili najmanjši seštevek estrov brez etil acetata pri postopku hladne maceracije (8427 mg/L). Kvantitativno največ smo skladno s podatki iz literature določili etil laktata (Selli in sod., 2006). Etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina in njegov prag senzorične zaznave je ocenjen na celo 100 mg/L (Jackson, 2000; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a; Moyano in sod., 2009). Zato smo ga odšteli od ostalih estrov. Še posebno v tem primeru je bil seštevek estrov v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge občutno manjši od kontrolnega postopka. Postopek dodatka jagod v mošt je bil po vsebnosti estrov podoben kontrolnem postopku. Tako lahko za sorto zelen potrdimo manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih z izjemo postopka dodatka jagod v mošt. Manjša vsebnost estrov v maceriranih vinih je bila že določena v nekaterih raziskavah (Peinado in sod., 2004a; Sanchez Palomo in sod., 2006). Druge raziskave takšnega vpliva niso potrdile (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Največje razlike med postopkoma hladne maceracije in zamrzovanja drozge ter kontrolnim postopkom so posledica večjih vsebnosti heksil acetata, etil kaprilata, etil kaprata, izoamil acetata in 2-feniletil acetata v kontrolnem postopku. Prav te spojine, torej etilni estri maščobnih kislin s srednje dolgimi verigami ter

acetati so izredno pomembni za vonj vina. Še posebno so izrazite v mladih belih vinih nearomatičnih sort (Etievant, 1993; Ferreira in sod., 1995; Lukić in sod., 2008). V več študijah so potrdili korelacijo med njihovo vsebnostjo in pozitivnimi senzoričnimi zaznavami svežine in sadnosti tako v nearomatičnih kot aromatičnih sortah (Ferreira in sod., 1995; Kovačevič Ganić in sod., 2005; Selli in sod., 2006; Lukić in sod., 2008). Pripisuje se jim tudi sinergistični senzorični učinek na vonj vina (Etievant, 1993; Ferreira in sod., 1998a). V Sloveniji jih poimenujemo kar sadni estri (Bavčar, 2009). Značilno več smo v kontrolnem postopku in tudi postopku dodatka jagod v mošt določili heksil acetata (275 µg/L in 121 µg/L) z vonjem po sadju ali jabolkih, etil kaprilata (1239 µg/L in 1143 µg/L) s sladko sadno milnatim vonjem, izoamil acetata (3260 µg/L in 3304 µg/L) z vonjem po sadju ali bananah in 2-feniletil acetata (466 µg/L in 344 µg/L) z intenzivnim vonjem po vrtnicah ali cvetju. Z izjemo heksil acetata s pragom senzorične zaznave 670 µg/L so omenjene spojine v vseh postopkih izrazito presegle lastne pragove senzorične zaznave. Ti pragovi so za etil kaprilat 580 µg/L, za izoamil acetat 30 µg/L in 2-feniletil acetat 250 µg/L (Moyano in sod., 2002; Peinado in sod., 2004a; Moreno in sod., 2005). Etil kaprat s sadno milnatim vonjem je prag senzorične zaznave 510 µg/L presegel v kontrolnem postopku (Rocha in sod., 2005; Moyano in sod., 2009). Koncentracija etil butirata z vonjem po ananasu in jagodah je presegla prag senzorične zaznave 20 µg/L pri vseh postopkih (Ferreira in sod., 1998a; Selli in sod., 2006; Moyano in sod., 2009). Statistično značilno največ smo ga določili v postopkih kontrole (366 µg/L) in dodatka jagod v mošt (428 µg/L). Koncentracije ostalih estrov z daljšimi verigami, kot sta etil lavrat in dietil sukcinat, so bile izrazito manjše in so se minimalno spreminjale glede na postopek pridelave. V nobenem od postopkov njihove koncentracije še zdaleč niso dosegale pragov senzoričnih zaznav, ki so 500 µg/L za etil lavrat in celo 100 mg/L za dietil sukcinat (Moyano in sod., 2002, 2009). Skladno z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina (Cabaroglu in sod., 1997; Sanchez Palomo in sod., 2006; Selli in sod., 2006). Na splošno so nezaželene večje koncentracije višjih alkoholov ob istočasno manjši vsebnosti estrov v vinih, ker ima takšno razmerje AS dokazano negativen senzorični vpliv (Ferreira in sod., 1995; Lukić in sod., 2008). Glede na razmerje seštevkev estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov lahko potrdimo negativni vpliv postopkov hladne maceracije in zamrzovanja drozge pri sorti zelen. Postopek dodatka jagod v mošt ostaja zanimiva alternativa klasičnemu kontrolnemu postopku. V primerjavi med postopkoma kontrole in dodatka jagod v mošt lahko potrdimo tako kot za višje alkohole tudi podobne seštevke sadnih estrov pri sorti zelen. V postopku dodatka jagod v mošt je bila določena statistično značilno manjša vsebnost 2-feniletil acetata in heksil acetata, vendar slednji v nobenem postopku ni presegal praga senzorične zaznave (Peinado in sod., 2004a). V postopku dodatka jagod v mošt je bila določena statistično značilno večja vsebnost etil heksanoata kot v kontrolnem postopku. Etil cinamat se v literaturi omenja kot tipično spojino v rdečih vinih, pridelanih s karbonsko maceracijo z značilnim vonjem po jagodah in malinah (Versini in Tomasi, 1983; Ducruet, 1984). Nakazana je bila tudi možnost sinergističnega učinka etil cinamata in estrov s sadnim vonjem (Versini in Tomasi, 1983; Versini in sod., 1984). Vsebnosti etil cinamata se glede na postopek pridelave niso razlikovale in zdaleč niso dosegale praga senzorične zaznave 30 µg/L (Versini in sod., 1983, 1984). Manjša določena koncentracija je tudi posledica dejstva, da je celo v postopku dodatka jagod karbonska maceracija potekla le v nekaj odstotkih jagod, v drugih postopkih pa sploh ne. Tako lahko potrdimo, da etil cinamat v nobenem postopku ni vplival na vonj vin v poskusu.

Vino rebula 2008 (preglednica 19)

V sorti rebula smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku kontrole (87 mg/L), vendar so bile razlike med postopki v primerjavi s sorto zelen manjše. V vseh postopkih je presegel prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti rebula smo določili največji seštevek estrov brez etil acetata pri postopku hladne maceracije predvsem zaradi večje vsebnosti etil laktata (10145 µg/L), ki je skoraj trikrat presegal koncentracije v ostalih postopkih. Etil laktat je bil kot pri zelenu tudi pri sorti rebula prevladujoč ester, takoj za etil acetatom. Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva, smo ga odšteli od ostalih estrov. V tem primeru je bil seštevek estrov v postopkih kontrole in hladne maceracije največji, sledil pa mu je postopek dodatka jagod v mošt. Tako za sorto rebula ne moremo potrditi manjše vsebnosti estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih, kar je v skladu z nekaterimi raziskavami (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Izoamil acetat je presegel senzorični prag zaznave v vseh postopkih, statistično značilno več smo ga določili v postopkih kontrole (1036 µg/L) in dodatka jagod v mošt (1046 µg/L). 2-feniletil acetat je le v postopku hladne maceracije presegel prag senzorične zaznave 250 µg/L in se je statistično razlikoval glede na vse postopke. Vsebnost heksil acetata je bila manjša in ni presegla praga zaznave v nobenem postopku. Vsebnosti etil kaprilata se glede na postopek niso statistično značilno razlikovale, so pa vedno presegle mejo zaznave 580 µg/L. Vsebnosti etil kaprata so presegale prag senzorične zaznave v postopkih kontrole (590 µg/L) in hladne maceracije (642 µg/L). Koncentracija etil butirata je presegla senzorični prag zaznave pri vseh postopkih, statistično značilno največ (278 µg/L) smo ga določili v postopku dodatka jagod v mošt. Koncentracije ostalih estrov z daljšimi verigami, torej etil lavrata in dietil sukcinata, so bile občutno manjše. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. V skladu z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Tako glede na razmerje seštevkov estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov lahko potrdimo teoretični negativni vpliv maceracije pri sorti rebula samo za postopek zamrzovanja grozdja, saj je vseboval več višjih alkoholov in manj estrov kot kontrolni postopek. V primerjavi med postopkoma kontrole in dodatka jagod lahko potrdimo tako kot za višje alkohole tudi podobne seštevke sadnih estrov pri sorti rebula. Pri postopku dodatka jagod smo določili statistično značilno manjše koncentracije heksil acetata in 2-feniletil acetata, ki pa nista presegala praga senzorične zaznave niti v postopku kontrole niti v postopku dodatka jagod v mošt. Vsebnosti etil cinamata se statistično niso razlikovale glede na postopek in so bile občutno manjše od praga senzorične zaznave.

Vino malvazija 2008 (preglednica 20)

V sorti malvazija smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku hladne maceracije (78 mg/L). V vseh postopkih je presegel prag senzorične zaznave. V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti malvazija smo določili največji seštevek estrov brez etil acetata pri postopku hladne maceracije predvsem zaradi statistično značilne največje vsebnosti etil laktata (8190 mg/L). Etil laktat je bil tudi pri sorti malvazija prevladujoč ester, če ne upoštevamo etil acetata. Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva, smo ga odšteli od ostalih estrov. V tem primeru je bil

seštevek estrov v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja manjši od kontrolnega postopka. Tako lahko podobno kot za sorto zelen tudi za malvazijo potrdimo manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih z izjemo postopka dodatka jagod v mošt. Predvsem v postopku hladne maceracije smo določili v primerjavi s kontrolnim postopkom statistično značilno manjše vsebnosti heksil acetata, etil heksanoata, etil kaprilata, etil kaprata, 2-feniletil acetata in izoamil acetata. Statistično značilne razlike smo določili skoraj za vse sadne estre pri vseh postopkih. Največ etil heksanoata smo določili v postopku dodatka jagod v mošt (589 $\mu\text{g/L}$), sledil pa mu je postopek kontrole (517 $\mu\text{g/L}$). Vsebnost heksil acetata je bila povprečno manjša kot pri sortah zelen in rebula, statistično značilno največ smo ga določili v postopku kontrole (35 $\mu\text{g/L}$). Največ etil kaprilata smo določili v postopku dodatka jagod v mošt (891 $\mu\text{g/L}$), prag senzorične zaznave 580 $\mu\text{g/L}$ je presegel v vseh postopkih, razen v primeru hladne maceracije. Statistično značilno največjo vsebnost izoamil acetata smo določili v postopku kontrole (1268 $\mu\text{g/L}$), prag senzorične zaznave je presegel v vseh postopkih. Statistično značilne največje vsebnosti etil kaprata smo določili v postopkih kontrole (507 $\mu\text{g/L}$) in dodatka jagod v mošt (527 $\mu\text{g/L}$), prag senzorične zaznave pa je presegel le v slednjem. 2-feniletil acetata smo določili največ v postopku kontrole (138 $\mu\text{g/L}$), vendar tudi v tem postopku ni presegel praga senzorične zaznave. Koncentracija etil butirata je presegla senzorični prag zaznave pri vseh postopkih, največ smo ga določili v postopku dodatka jagod v mošt (283 $\mu\text{g/L}$). Koncentracije dietil sukcinata in etil palmitata so bile povprečno večje kot pri sortah zelen in rebula. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Zaradi največjega seštevka višjih alkoholov pri postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja ter istočasno manjše vsebnosti estrov (brez etil acetata in etil laktata), teoretično lahko potrdimo negativni vpliv obeh postopkov pri sorti malvazija. Postopek dodatka jagod v mošt ostaja zanimiva alternativa klasičnemu kontrolnemu postopku. V primerjavi med postopkoma kontrole in dodatka jagod v mošt lahko potrdimo tako kot za višje alkohole podobne vsebnosti sadnih estrov pri sorti malvazija. Pri postopku dodatka jagod v mošt smo določili statistično značilno manj heksil acetata in 2-fenil etil acetata, ki nista presegala pragov senzorične zaznave, manj izoamil acetata ter več etil heksanoata. Med sortami v poskusu 2008 smo največ etil cinamata določili prav pri malvaziji. Statistično značilno največjo vsebnost smo določili v postopku kontrole (15 $\mu\text{g/L}$), vendar ni dosegala praga senzorične zaznave. Tako kot pri zelenu in rebuli lahko potrdimo, da tudi pri malvaziji etil cinamat v nobenem postopku ni vplival na vonj vina.

4.1.2.5 Aldehidi, ketoni, laktoni

Vino zelen 2008 (preglednica 18)

Acetaldehid kvantitativno predstavlja vsaj 90 % vseh aldehydov v vinu (Jackson, 2000). Pri sorti zelen smo določili v vinu manjše koncentracije acetaldehida kot v drugih publikacijah (Sanchez Palomo in sod., 2005, 2006; Lukić in sod., 2008). Vzrok je v zadostnem dodatku žveplovega dioksida po koncu alkoholne fermentacije. Acetaldehid je namreč prva spojina, ki se veže na dodani žveplov dioksid (Ribéreau-Gayon in sod., 1976). Prag senzorične zaznave za acetaldehid je 10 mg/L, pri vsebnostih nad 100 mg/L pa izkazuje negativen vpliv na celokupni vonj vina (Jackson, 2000; Moyano in sod., 2002). Ker so bile določene koncentracije v vseh postopkih manjše ali blizu praga senzorične zaznave, lahko potrdimo odsotnost negativnega vpliva acetaldehida na vino in ustrezno zaščito vina pred oksidacijo v času po alkoholni fermentaciji. Kot posledica delovanja kvasovk ali redukcije v grozdju prisotnega benzil alkohola se v vinu pojavlja tudi benzaldehid (Chatonnet in sod., 1990). V grozdju rdečih sort grozdja so določili večje vsebnosti benzaldehida kot v belih (Cabrita in sod., 2006). Benzaldehid z vonjem po češnjah, marelicah naj bi skupaj z etil cinamatom odločilno oblikoval značilni vonj rdečih vin, pridelanih s karbonsko maceracijo (Versini in sod., 1983; Ducruet, 1984). Vsebnosti benzaldehida, ki smo ga določili v sorti zelen, so bile primerljive z rezultati drugih raziskovalcev (Cabarroglu in sod., 1997; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007). Statistično značilno večje vsebnosti smo določili v postopku hladne maceracije (5 µg/L) in zamrzovanja drozge (9 µg/L). Maceracija je skladno z literaturo pozitivno vplivala na vsebnost benzaldehida (Cabarroglu in sod., 1997). Senzoričnega vpliva benzaldehida v belih vinih v predhodnih delih niso komentirali (Cabarroglu in sod., 1997; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Prag senzorične zaznave je postavljen na 2 mg/L (Peinado in sod., 2004a). Ta prag je občutno večji od pričakovanega tudi glede na vsebnosti te spojine v rdečih vinih, pridelanih s karbonsko maceracijo (Versini in sod., 1983, 1984; Ducruet, 1984). Izjemoma je benzaldehid v postopku zamrzovanja drozge dosegel koncentracije, primerljive s tradicionalno pridelanimi rdečimi vini. Te pa so opazno manjše od določenih v vinih iz karbonske maceracije (Versini in sod., 1983). Tako sklepamo, da je bil senzorični vpliv benzaldehida v vseh postopkih minimalen.

γ-butirolakton je kvantitativno najbolj zastopan lakton in prisoten v vseh vinih. Povezujejo ga z vonjem po maslu, usnju in karamelu (Muller in sod., 1973; Peinado in sod., 2004a; Rocha in sod., 2005; Selli in sod., 2006). Predlagani pragovi zaznave za γ-butirolakton so izredno visoki, 20 mg/L ali celo 100 mg/L, zato imajo posledično v vinu prisotne koncentracije minimalen vpliv na vonj (Peinado in sod., 2004a; Moyano in sod., 2002; Chavez in sod., 2007). Po sklepanju Rocha in sod. (2005) lahko že koncentracije nad 4-5 mg/L vplivajo na vonj vina. Pri sorti zelen smo v vseh postopkih določil manjše koncentracije. Statistično značilno največ γ-butirolaktona smo določili v postopku hladne maceracije. Ta ugotovitev je sicer v nasprotju s podatkom iz literature, kjer so v maceriranih vinih dobili manj γ-butirolaktona (Selli in sod., 2006).

Vino rebula 2008 (preglednica 19)

Pri sorti rebula smo določili v vinu manjše koncentracije acetaldehida od povprečnih zaradi zadostnega dodatka žveplovega dioksida po alkoholni fermentaciji. Ker so bile določene koncentracije v vseh postopkih manjše ali komaj blizu praga senzorične zaznave 10 mg/L, zagotovo lahko potrdimo odsotnost negativnega vpliva acetaldehida na vino. Vsebnosti

benzaldehida, določenega v sorti rebula, so bile povprečno manjše kot pri sorti zelen in so se glede na postopek minimalno spreminjale. Na osnovi koncentracij benzaldehida, določenih v vinih, in večjega praga senzorične zaznave smo sklepali, da je senzorični vpliv benzaldehida v vseh postopkih minimalen. Vsebnost γ -butirolaktona je bila večja kot pri sorti zelen. Največje koncentracije smo določili v postopkih kontrole in dodatka jagod v mošt (4823 $\mu\text{g/L}$), a so bile manjše od praga senzorične zaznave 20 mg/L (Peinado in sod., 2004a; Moyano in sod., 2002). Po sklepanju Rocha in sod. (2005) pa bi lahko v določenih koncentracijah večjih kot 4 mg/L vplival na vonj sorte rebula. V postopku hladne maceracije je bila njegova vsebnost statistično značilno manjša od postopka kontrole, kar je skladno s podatkom iz literature (Selli in sod., 2006).

Vino malvazija 2008 (preglednica 20)

Pri sorti malvazija smo določili v vinu manjše koncentracije acetaldehida od povprečnih zaradi zadostnega dodatka žveplovega dioksida po alkoholni fermentaciji. Ker so bile določene koncentracije v vseh postopkih manjše ali komaj blizu praga zaznave 10 mg/L, lahko zagotovo potrdimo odsotnost negativnega vpliva acetaldehida na vino. Vsebnosti benzaldehida, določenega v sorti malvazija, so bile povprečno manjše kot pri sorti zelen in so se glede na postopek minimalno spreminjale. Na osnovi koncentracij benzaldehida, določenih v vinih in večjega praga senzorične zaznave sklepamo, da je bil senzorični vpliv benzaldehida v vseh postopkih minimalen. Največje vsebnosti γ -butirolaktona smo določil prav pri sorti malvazija (5820-7144 $\mu\text{g/L}$), a niso dosegale praga zaznave 20 mg/L (Peinado in sod., 2004a; Moyano in sod., 2002). Koncentracije γ -butirolaktona pa so v vseh postopkih presegle 4 mg/L. Po mnenju Rocha in sod. (2005) je zato γ -butirolakton že lahko vplival na sensoriko vina. Statistično značilno največ smo ga določili v postopku dodatka jagod v mošt (7144 $\mu\text{g/L}$) in hladne maceracije (6743 $\mu\text{g/L}$), kar sicer ni skladno s podatkom iz literature (Selli in sod., 2006).

4.1.2.6 Terpeni in C₁₃ norizoprenoidi

Vino zelen 2008 (preglednica 18)

V sorti zelen smo določili štiri proste monoterpenke alkohole: linalool, α -terpineol, citronelol in nerol, slednjega le v postopku zamrzovanja drozge. Za vse terpene lahko skladno z literaturo potrdimo pozitiven vpliv maceracije v primerjavi s postopkom kontrole. Kot najuspešnejši glede na največji seštevek terpenov 413 $\mu\text{g/L}$ in prisotnost različnih terpenov se je pokazal postopek zamrzovanja drozge. Presenetljive so tudi statistično značilne večje vsebnosti monoterpenkih alkoholov v postopku dodatka jagod v mošt, ki so za linalool in α -terpineol primerljive vsaj s postopkom hladne maceracije. Splošno smo pri sorti zelen določili večje seštevke prostih terpenov v primerjavi z že obstoječimi podatki (Čuš in Baša Česnik, 2009). Vsebnosti linaloola so se statistično značilno razlikovale med postopki, največ smo ga določili v postopku zamrzovanja drozge (139 $\mu\text{g/L}$). V vseh postopkih je presegel prag senzorične zaznave 15 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Linalool je v nearomatičnih sortah tudi najbolj pogost monoterpenki alkohol, ki presega prag senzorične zaznave (Peinado in sod., 2004a; Rocha in sod., 2005; Vilanova in Sieiro, 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Kvantitativno največ smo določili α -terpineola, statistično značilno največ v postopku zamrzovanja drozge (123 $\mu\text{g/L}$), vendar tudi v slednjem ni dosegel praga senzorične zaznave 250 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Vsebnost citronelola je bila statistično značilno ponovno največja v postopku

zamrzovanja drozge (36 µg/L). V vseh maceriranih vinih je citronelol presegel prag senzorične zaznave 18 µg/L (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Kot zadnjega smo samo v postopku zamrzovanja drozge določili tudi nerol (15 µg/L), a pod pragom senzorične zaznave 400 µg/L (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). β-ionon je bil, zaradi nezmožnosti tržne nabave standarda verjetno bolj zanimivega β-damascenona, edini predstavnik C₁₃ norizoprenoidov, ki smo ga v pričujočem delu določevali. β-ionon z vonjem po vijolicah so že določili v grozdju muškatoev pa tudi nearomatičnih sort, splošno bolj pomemben pa je v rdečih sortah (Schreier in sod., 1976; Etievant in sod., 1983; Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Novejša literatura kot senzorični prag zaznave podaja koncentracijo 5 µg/L (Moyano in sod., 2002; Peinado in sod., 2004a). Pri sorti zelen β-ionona nismo določili v nobenem postopku.

Vino rebula 2008 (preglednica 19)

V sorti rebula smo določili tri proste monoterpeneske alkohole: linalool, α-terpineol in citronelol. Za vse terpe ne lahko potrdimo pozitiven vpliv maceracije samo v postopku zamrzovanja grozdja, kjer smo določili največji seštev ek 90 µg/L.

Vsebnost linaloola je bila statistično značilno večja le v postopku zamrzovanja grozdja, a ni presegla prag senzorične zaznave. Kvantitativno največ smo določili citronelola, statistično značilno več samo v postopku zamrzovanja grozdja (39 µg/L). V vseh postopkih je citronelol presegel prag senzorične zaznave. Samo v postopku zamrzovanja grozdja smo določili tudi α-terpineol (38 µg/L), vendar pod pragom senzorične zaznave. Zaradi neobstoječih podatkov o vsebnosti monoterpenskih alkoholov pri sorti rebula lahko sklepamo, da ta sorta vsebuje malo omenjenih spojin in jo lahko po Mateo in Jimenez (2000) uvrstimo v nearomatične sorte brez opaznega terpenskega vpliva. Pri sorti rebula kot pri sorti rebula β-ionona nismo določili v nobenem postopku.

Vino malvazija 2008 (preglednica 20)

V sorti malvazija smo določili tri proste monoterpeneske alkohole: linalool, α-terpineol in citronelol. Za vse terpe ne lahko skladno z literaturo potrdimo pozitiven vpliv maceracije za postopke hladne maceracije in zamrzovanja grozdja. Kot najuspešnejši glede na seštev ek 341 µg/L in vsebnost posameznih terpenov se je pokazal postopek zamrzovanja grozdja. Vsebnosti linaloola so se statistično značilno razlikovale med postopki, največ smo ga določili v postopku zamrzovanja grozdja (90 µg/L) in najmanj postopku kontrole (31 µg/L). V vseh postopkih je presegel prag senzorične zaznave. Kvantitativno največ smo določili α-terpineola. Statistično značilno več α-terpineola smo določili samo v postopku zamrzovanja grozdja (212 µg/L), vendar tudi v slednjem ni dosegel praga senzorične zaznave. Vsebnost citronelola je bila statistično značilno ponovno največja v postopku zamrzovanja grozdja (39 µg/L) in v vseh maceriranih vinih je citronelol presegel prag zaznave. Sorta malvazija v našem poskusu je vsebovala več terpenov kot rebula, vendar manj kot zelen. Pri sorti malvazija smo določili β-ionon samo v postopku hladne maceracije, katerega povprečje treh ponovitev postopka pa kaže na nehomogenost rezultatov. Povprečje treh ponovitev je sicer blizu praga senzorične zaznave 5 µg/L, ki ga navaja novejša literatura (Moyano in sod., 2002; Peinado in sod., 2004a).

4.1.3 Fenolne spojine

Preglednica 22: Vsebnost hidroksicimetnih kislin in skupnih fenolov v vinih letnika 2008

Table 21: Hydroxycinnamic acids and total phenolics content in wines vintage 2008

ZELEN	kontrola	hladna	dodatek 7 %	zamrzovanje
fenolne spojine		maceracija	jagod v mošt	drozge
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	4,9 ± 0,5 ^a	5,3 ± 0,1 ^a	5,4 ± 0,2 ^a	6,7 ± 0,2 ^b
kaftarna kislina (mg/L)	149 ± 14 ^a	146 ± 8 ^a	189 ± 4 ^c	172 ± 3 ^b
GRP (mg/L)	0,5 ± 0,2 ^{ab}	0,7 ± 0,1 ^b	0,5 ± 0,1 ^a	1,0 ± 0,1 ^c
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	1,8 ± 0,1 ^a	2,6 ± 0,1 ^a	1,7 ± 1,5 ^a	4,7 ± 0,1 ^b
kutarna kislina (mg/L)	4,0 ± 0,3 ^a	5,2 ± 0,3 ^b	6,4 ± 0,4 ^c	8,7 ± 0,1 ^d
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,3 ± 0,0 ^c	0,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^c	0,2 ± 0,0 ^b
fertarna kislina (mg/L)	3,9 ± 0,3 ^a	3,8 ± 0,2 ^a	4,3 ± 0,1 ^{ab}	4,0 ± 0,1 ^b
kavna kislina (mg/L)	2,1 ± 0,1 ^a	4,6 ± 0,3 ^b	2,2 ± 0,0 ^a	4,5 ± 0,0 ^b
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,3 ± 0,1 ^b	0,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,0 ^a
ferulna kislina (mg/L)	1,0 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,2 ^c	1,2 ± 0,1 ^b	1,8 ± 0,0 ^d
HCK skupaj (mg/L)	168 ± 15 ^a	170 ± 9 ^a	211 ± 6 ^b	204 ± 3 ^b
skupni fenoli (mg/L)	130 ± 7 ^a	156 ± 4 ^b	170 ± 8 ^c	184 ± 9 ^d
REBULA	kontrola	hladna	dodatek 7 %	zamrzovanje
fenolne spojine		maceracija	jagod v mošt	grozdja
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	1,9 ± 0,5 ^b	2,2 ± 0,2 ^b	2,6 ± 0,2 ^b	1,0 ± 0,4 ^a
kaftarna kislina (mg/L)	44 ± 4 ^c	37 ± 3 ^b	50 ± 2 ^d	14 ± 1 ^a
GRP (mg/L)	1,0 ± 0,2 ^a	1,1 ± 0,2 ^a	0,9 ± 0,3 ^a	0,7 ± 0,7 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	3,4 ± 0,3 ^{ab}	3,2 ± 0,2 ^a	4,1 ± 0,2 ^b	5,0 ± 0,7 ^c
kutarna kislina (mg/L)	4,3 ± 0,3 ^c	3,4 ± 0,3 ^b	6,2 ± 0,3 ^d	1,5 ± 0,5 ^a
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,6 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^a	1,1 ± 0,3 ^b
fertarna kislina (mg/L)	3,5 ± 0,2 ^b	3,1 ± 0,2 ^a	3,7 ± 0,2 ^b	2,8 ± 0,3 ^a
kavna kislina (mg/L)	2,0 ± 0,1 ^c	1,45 ± 0,1 ^b	2,0 ± 0,1 ^c	1,1 ± 0,2 ^a
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,2 ^a
ferulna kislina (mg/L)	1,3 ± 0,1 ^b	0,7 ± 0,1 ^a	1,5 ± 0,0 ^b	1,5 ± 0,3 ^b
HCK skupaj (mg/L)	62 ± 5 ^c	53 ± 5 ^b	72 ± 3 ^d	28 ± 5 ^a
skupni fenoli (mg/L)	103 ± 7 ^a	117 ± 6 ^b	128 ± 2 ^c	119 ± 1 ^b
MALVAZIJA	kontrola	hladna	dodatek 7 %	zamrzovanje
fenolne spojine		maceracija	jagod v mošt	grozdja
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	3,3 ± 0,3 ^{bc}	3,7 ± 0,1 ^c	3,1 ± 0,4 ^b	2,0 ± 0,3 ^a
kaftarna kislina (mg/L)	59 ± 6 ^c	50 ± 3 ^b	60 ± 3 ^c	25 ± 4 ^a
GRP (mg/L)	1,3 ± 0,4 ^{ab}	1,9 ± 0,5 ^b	1,2 ± 0,4 ^{ab}	1,0 ± 0,4 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	1,3 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,0 ^{ab}	1,4 ± 0,1 ^{ab}	1,4 ± 0,0 ^b
kutarna kislina (mg/L)	1,8 ± 0,2 ^b	1,4 ± 0,1 ^b	2,3 ± 0,2 ^c	0,9 ± 0,2 ^a
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,4 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,1 ^a	0,6 ± 0,0 ^b
fertarna kislina (mg/L)	3,6 ± 0,1 ^b	3,2 ± 0,1 ^a	3,4 ± 0,3 ^{ab}	3,3 ± 0,0 ^{ab}
kavna kislina (mg/L)	3,4 ± 0,1 ^a	9,1 ± 0,4 ^b	3,2 ± 0,3 ^a	3,8 ± 0,5 ^a
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,7 ± 0,2 ^{ab}	0,9 ± 0,1 ^b	0,7 ± 0,1 ^a	0,7 ± 0,1 ^a
ferulna kislina (mg/L)	1,7 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,3 ^a	2,5 ± 0,2 ^b
HCK skupaj (mg/L)	76 ± 7 ^b	73 ± 3 ^b	78 ± 5 ^b	41 ± 5 ^a
skupni fenoli (mg/L)	104 ± 7 ^a	124 ± 4 ^b	126 ± 3 ^b	117 ± 9 ^b

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 23: Razmerja hidroksicimetnih kislin, skupnih fenolov in vsebnost flavonoidov v vinih letnika 2008

Table 23: Ratios between hydroxycinnamic acids, total phenolics and flavonoids content in wines vintage 2008

ZELEN	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje drozge
HCK : skupni fenoli (-)	0,70	0,59	0,68	0,61
flavonoidi (mol/L)	0,23	0,37	0,32	0,43
kaftarna kislina : HCK (-)	0,89	0,86	0,89	0,84
REBULA	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
HCK : skupni fenoli (-)	0,33	0,24	0,31	0,13
flavonoidi (mol/L)	0,41	0,52	0,52	0,61
kaftarna kislina : HCK (-)	0,70	0,70	0,70	0,48
MALVAZIJA	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
HCK : skupni fenoli (-)	0,40	0,32	0,34	0,19
flavonoidi (mol/L)	0,37	0,50	0,49	0,56
kaftarna kislina : HCK (-)	0,77	0,68	0,78	0,61

Vino zelen 2008 (preglednici 22 in 23)

Z maceracijo drozge se vsebnost fenolnih spojin v belih vinih na splošno poveča (Ramey in sod., 1986; Marais in Rapp, 1988; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007). Predvsem je s senzoričnega stališča nezaželena povečana vsebnost flavonoidov. Predolga ekstrakcija ali maceracija pri previsoki temperaturi z namenom obsežnejše ekstrakcije aromatičnih spojin lahko povzroči nezaželene senzorične spremembe vina, kot sta grenkoba in trpkost zaradi prekomerne vsebnosti flavonoidov (Ramey in sod., 1986; Tamborra, 1992). Zato časovno krajša maceracija pri nižjih temperaturah omeji ekstrakcijo fenolnih spojin in njihov negativni senzorični vpliv v moštu in pozneje vinu (Ramey in sod., 1986; Marais in Rapp, 1988). V poskusu letnika 2008 smo v uporabljali hladno maceracijo drozge pri 6 °C za 12 h (Marais in Rapp, 1988; Gerbi in sod., 1991; Reynolds in sod., 1993). V postopku zamrzovanja drozge pri sorti zelen smo drozgo zamrznili in odtajali pri temperaturi 6 °C, v postopku dodatka jagod v mošt pa smo z dodatkom 7 % jagod v mošt fazo maceracije podaljšali do konca alkoholne fermentacije. Glede skupnih fenolov v vinu lahko v primerjavi s kontrolnim postopkom potrdimo statistično značilne razlike med vsemi postopki. Vsa macerirana vina so imela večjo vsebnost skupnih fenolov v primerjavi s kontrolnim postopkom. Delež skupnih fenolov v maceriranih vinih se je povečal zaradi ekstrakcije hidroksicimetnih kislin (HCK) in posameznih flavonoidov iz jagodne kožice in grozdnih pečk. Od treh postopkov maceracije smo največjo vsebnost 184 mg/L določili v postopku zamrzovanja drozge in to za 42 % več kot v kontrolnem postopku. Najmanjše povečanje za samo 20 % smo določili v postopku hladne maceracije. HCK so predstavniki ne flavonoidov in kvantitativno najpomembnejše fenolne spojine belih vin (Singleton in sod., 1978). Za vina sorte zelen je značilna večja vsebnost HCK v primerjavi z drugimi belimi vini (Vanzo in sod., 2007). To zakonitost smo potrdili tudi v obravnavanih vinifikacijah. Kot posebnost velja omeniti tudi večji delež posameznih HCK v kožici grozdne jagode kot pri drugih sortah grozdja (Vanzo in sod., 2007). Skupna vsebnost HCK se je statistično značilno razlikovala od postopka kontrole le v postopkih dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge. Med posameznimi HCK je skladno z literaturo prevladovala kaftarna kislina (Ong in Nagel, 1978; Singleton s

sod., 1986). Statistično značilno največjo vsebnost kaftarne kisline smo določili v postopku dodatka jagod v mošt (189 mg/L), sledil pa mu je postopek zamrzovanja drozge (172 mg/L). Glede na razmerje skupnih fenolov in skupnih HCK sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po postopku zamrzovanja drozge, nahajalo tudi največ flavonoidov. Ta interpretacija rezultatov je bolj jasna, če rezultate skupnih fenolov in skupnih HCK delimo z molskimi masami galne kisline 170 g/mol in kaftarne kisline 312 g/mol ter tako med seboj direktno primerjamo mole spojin. Postopka hladne maceracije in dodatka jagod v mošt sta se glede na vsebnost fenolnih spojin med maceriranimi vini pokazala kot bolj primerna. Zaradi statistično značilne večje skupne vsebnosti fenolov v postopku dodatka jagod v mošt lahko postopek hladne maceracije označimo kot najbolj primeren.

Vino rebula 2008 (preglednici 22 in 23)

V postopku zamrzovanja smo pri sorti rebula za razliko od sorte zelen zamrznili celo grozdje in ga odtajali na sobni temperaturi. Postopka hladne maceracije in dodatka jagod v mošt sta potekala enako kot pri sorti zelen. Vsebnosti skupnih fenolov so se statistično značilno razlikovale od postopka kontrole v vseh postopkih maceracije. Od treh postopkov maceracije smo največjo vsebnost skupnih fenolov določili v postopku dodatka jagod v mošt, 128 mg/L ali 24 % več od kontrolnega postopka, in najmanjšo v postopku hladne maceracije, 117 mg/L ali za 14 % več. Pri sorti rebula so postopki maceracije torej kvantitativno manj vplivali na vsebnost skupnih fenolov kot pri sorti zelen. Vsebnosti HCK so se statistično značilno razlikovale med postopki. V postopku dodatka jagod v mošt smo določili statistično značilno največjo vsebnost HCK (72 mg/L). V postopku hladne maceracije smo določili 53 mg/L ali 15 % manjšo vsebnost, v postopku zamrzovanja grozdja pa le 28 mg/L ali celo 54 % manj HCK kot v kontrolnem postopku. Manjši obseg ekstrakcije ne flavonoidov pri nižji temperaturi maceracije, ki smo jo uporabljali tako v postopku hladne maceracije kot v postopku zamrzovanja grozdja, je bil že potrjen (Ramey in sod., 1986). Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina. Vsebnosti kaftarne kisline so se statistično razlikovale med postopki. Največjo vsebnost kaftarne kisline (50 mg/L) in kot omenjeno tudi skupnih HCK smo določili v postopku dodatka jagod v mošt. HCK so v tem postopku maceracije bile zaščitene pred oksidacijo zaradi redukativnega okolja med alkoholno fermentacijo, v ostalih postopkih maceracije pa dostop kisika ni bil oviran. Zato smo verjetno v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja določili manjše vsebnosti kaftarne kisline kot v postopku kontrole. Glede na razmerje skupnih fenolov in HCK lahko sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po postopku zamrzovanja grozdja, nahajalo tudi največ flavonoidov, ki so splošno nezaželeni. Postopka hladne maceracije in dodatka jagod v mošt sta se glede na vsebnost fenolnih spojin med maceriranimi vini pokazala kot bolj primerna. Zaradi statistično značilne največje skupne vsebnosti fenolov v postopku dodatka jagod v mošt lahko postopek hladne maceracije zopet označimo kot najbolj primeren.

Vino malvazija 2008 (preglednici 22 in 23)

V postopku zamrzovanja smo pri sorti malvazija, za razliko od sorte zelen in enako kot pri sorti rebula, zamrznili celo grozdje in ga odtajali na sobni temperaturi. Vsebnost skupnih fenolov v maceriranih vinu se je statistično značilno razlikovala v primerjavi s kontrolnim postopkom. V vseh maceriranih vinih je bila večja le za 13-22 mg/L, med postopki maceracije statistično značilno razlik nismo določili. Pri sorti malvazija so postopki maceracije manj vplivali na vsebnost skupnih fenolov kot pri sorti zelen. V postopku

zamrzovanja grozdja smo določili tudi statistično značilno manjšo vsebnost skupnih HCK 41,4 mg/L ali 45 % manj kot v postopku kontrole. Manjši obseg ekstrakcije ne flavonoidov pri nižji temperaturi maceracije, ki smo jo uporabljali tako v postopku hladne maceracije kot v postopku zamrzovanja grozdja, je bil že potrjen (Ramey in sod., 1986). Med posameznimi hidrokisicimetskimi kislinami HCK je prevladovala kaftarne kisline. Vsebnost kaftarne kisline se je statistično značilno razlikovala med postopki z izjemo postopkov kontrole in dodatka jagod v mošt. Tako smo največjo vsebnost kaftarne kisline določili v postopkih kontrole (58 mg/L) in dodatka jagod v mošt (60 mg/L), najmanj pa v postopku zamrzovanja grozdja (25 mg/L). Predvidevamo, da so vzroki za takšne vsebnosti kaftarne kisline enaki kot pri sorti rebula. Glede na razmerje skupnih fenolov in HCK sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po postopku zamrzovanja grozdja, nahajalo tudi največ flavonoidov. Postopka hladne maceracije in dodatka jagod v mošt sta se glede na vsebnost fenolnih spojin med maceriranimi vini pokazala kot bolj primerna.

4.1.4 Vrednotenje zaznavnih aromatičnih spojin z uporabo aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV)

Na podlagi preglednic 16, 17, 18 in 19 smo izračunali aktivne vonjalne vrednosti (OAV, angl. odour activity value) za posamezne AS in jih sešteli glede na tip vonja. Rezultati za sorte zelen, rebula in malvazija so podani preglednicah 24, 25 in 26.

Za sorto zelen smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 2-metilpropanol, 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirac, etil heksanoat, etil kaprilat, etil kaprat, 2-feniletetil acetat, izoamil acetat, 1-heksanol, 4-vinilgvajakol, linalool in citronelol.

Preglednica 24: Seštevek aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2008

Table 24: Sums of odour activity values (OAV) for Zelen wines vintage 2008

opis vonja	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7% jagod v mošt	zamrzovanje drozge
sadje	252 ± 12 ^b	146 ± 9 ^a	283 ± 11 ^c	139 ± 3 ^a
cvetlice	8,8 ± 0,4 ^a	14,4 ± 0,4 ^c	11,5 ± 0,8 ^b	18,1 ± 0,4 ^d
topilo, kemikalije	12,6 ± 0,8 ^b	10,6 ± 0,1 ^a	13,1 ± 0,5 ^b	9,9 ± 0,2 ^a
zeleno	1,0 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,0 ^a	1,0 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,0 ^a
fenoli	1,2 ± 0,0 ^a	1,7 ± 0,1 ^b	1,6 ± 0,0 ^b	2,1 ± 0,1 ^c
maščobe	3,3 ± 0,1 ^c	1,6 ± 0,1 ^a	2,0 ± 0,3 ^b	1,6 ± 0,0 ^a
začimbe	1,2 ± 0,0 ^a	1,7 ± 0,1 ^b	1,6 ± 0,0 ^b	2,1 ± 0,1 ^c

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti zelen letnika 2008 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno drugi največji seštevek OAV za sadje, največjega za maščobe in najmanjši seštevek za cvetlice, začimbe in fenole;
- vina iz postopka hladne maceracije so vsebovala statistično značilno manjši seštevek OAV za sadje od postopkov kontrole in dodatka jagod v mošt in drugi največji seštevek za cvetlice;
- vina iz postopka dodatka jagod v mošt so vsebovala statistično značilno največji seštevek OAV za sadje, drugi najmanjši seštevek za cvetlice in drugi največji za maščobe;

- vina iz postopka zamrzovanja drozge so vsebovala statistično značilno manjši seštevek OAV za sadje od postopkov kontrole in dodatka jagod v mošt in največji seštevek za cvetlice, fenole in začimbe.

Za sorto rebula smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 2-metilpropanol, 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirat, etil heksanoat, etil kaprilat, etil kaprat, 2-feniletil acetat, izoamil acetat, 1-heksanol, 4-vinilgvajakol, 4-vinilfenol in citronelol.

Preglednica 25: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2008

Table 25: Sums of odour activity values (OAV) for Ribolla Gialla wines vintage 2008

opis vonja	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7% jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
sadje	160 ± 6^{ab}	159 ± 10^a	174 ± 8^b	156 ± 2^a
cvetlice	$4,1 \pm 0,1^a$	$6,7 \pm 0,1^d$	$4,7 \pm 0,2^b$	$5,5 \pm 0,2^c$
topilo, kemikalije	11 ± 2^{ab}	$11,8 \pm 0,4^{bc}$	$9,7 \pm 0,5^a$	14 ± 1^c
zeleno	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$1,2 \pm 0,0^b$
fenoli	$2,1 \pm 0,1^c$	$2,3 \pm 0,1^d$	$1,1 \pm 0,0^a$	$1,8 \pm 0,1^b$
maščobe	$2,9 \pm 0,5^b$	$3,2 \pm 0,3^b$	$1,7 \pm 0,2^a$	$1,6 \pm 0,2^a$
začimbe	$1,1 \pm 0,0^a$	$1,2 \pm 0,0^b$	$1,1 \pm 0,0^a$	$1,8 \pm 0,1^c$

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti rebula letnika 2008 smo v tem poskusu določili:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevek OAV za cvetlice, za sadje pa je seštevek primerljiv z vsemi ostalimi postopki;
- vina iz postopka hladne maceracije so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevek OAV za sadje, primerljiv s postopkom zamrzovanja grozdja, a največjega za cvetlice in fenole;
- vina iz postopka dodatka jagod v mošt so vsebovala statistično značilno večji seštevek OAV za sadje kot postopka hladne maceracije in zamrzovanja grozdja, a najmanjšega za topilo ali kemikalije in fenole;
- vina iz postopka zamrzovanja grozdja so vsebovala statistično značilno drugi največji seštevek za cvetlice, največjega za topilo, zeleno in začimbe.

Za sorto malvazija smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 2-metilpropanol, 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirat, etil heksanoat, etil kaprilat, etil kaprat, izoamil acetat, 1-heksanol, 4-vinilgvajakol, linalool in citronelol.

Preglednica 26: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2008

Table 26: Sums of odour activity values (OAV) for Malvasia Istriana wines vintage 2008

opis vonja	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7% jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
sadje	164 ± 2^c	103 ± 2^a	$173,9 \pm 0,8^d$	147 ± 8^b
cvetlice	$6,4 \pm 0,3^a$	$9,3 \pm 0,2^b$	$6,7 \pm 0,3^a$	$12,2 \pm 0,1^c$
topilo, kemikalije	$12,0 \pm 0,9^a$	$16,1 \pm 0,3^b$	$11,6 \pm 0,0^a$	15 ± 2^b
zeleno	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$1,1 \pm 0,0^b$
fenoli	$1,9 \pm 0,1^a$	$2,1 \pm 0,1^b$	$2,0 \pm 0,0^b$	$2,9 \pm 0,1^c$
maščobe	$1,4 \pm 0,1^c$	$0,0 \pm 0,0^a$	$2,6 \pm 0,1^d$	$1,2 \pm 0,1^b$
začimbe	$1,9 \pm 0,1^a$	$2,1 \pm 0,1^b$	$2,0 \pm 0,0^b$	$2,9 \pm 0,1^c$

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti malvazija letnika 2008 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno drugi največji seštevek OAV za sadje in maščobe. Vsebovala so tudi statistično značilno manjši seštevek za cvetlice od postopkov hladne maceracije in zamrzovanja grozdja ter najmanjši seštevek za začimbe;
- vina iz postopka hladne maceracije so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevek OAV za sadje in maščobe ter drugega največjega za cvetlice;
- vina iz postopka dodatka jagod v mošt so vsebovala statistično značilno največji seštevek OAV za sadje in maščobe. Vsebovala so tudi statistično značilno manjši seštevek za cvetlice od postopkov hladne maceracije in zamrzovanja grozdja;
- vina iz postopka zamrzovanja grozdja so vsebovala drugi najmanjši seštevek OAV za sadje in največjega za cvetlice ter začimbe.

4.1.5 Senzorično ocenjevanje vina z rangiranjem

Preglednica 27: Rezultati senzoričnega ocenjevanja z rangiranjem v štiri skupine za vina letnika 2008

Table 27: Results of sensorial evaluations with four groups ranking for wines vintage 2008

ZELEN senzor. parametra	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje drozge
vonj	2,2 ± 1 ^{ab}	3,2 ± 0,4 ^b	1,8 ± 1,2 ^a	3,0 ± 1,3 ^{ab}
celokupni vtis	2,8 ± 1,2 ^a	2,0 ± 0,6 ^a	2,3 ± 1,2 ^a	2,7 ± 1,4 ^a
REBULA senzor. parametra	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
vonj	2,5 ± 1,1 ^{ab}	1,7 ± 0,8 ^a	2,7 ± 1,0 ^{ab}	3,2 ± 1,3 ^b
celokupni vtis	2,7 ± 1,2 ^a	2,5 ± 1,4 ^a	1,8 ± 0,8 ^a	2,7 ± 1,0 ^a
MALVAZIJA senzor. parametra	kontrola	hladna maceracija	dodatek 7 % jagod v mošt	zamrzovanje grozdja
vonj	2,0 ± 0,6 ^a	2,8 ± 1,2 ^a	2,7 ± 1,0 ^a	2,5 ± 1,6 ^a
celokupni vtis	2,5 ± 0,6 ^a	2,5 ± 1,4 ^a	2,5 ± 1,4 ^a	2,3 ± 1,2 ^a

a, b, c, d – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

1- najbolj všečno, 4- najmanj všečno.

Vina sort zelen, rebula in malvazija letnika 2008 so bila ocenjena 12.03.2009. Vina je ocenilo šest pokuševalcev. Ocenjevali so samo dva parametra, vonj in celokupni vtis. Ocena, ki jo je prejel postopek v okviru iste sorte, je podana v preglednici 27 kot povprečje šestih ocen. Manjša ocena je pomenila bolj všečno vino in obratno.

Za sorto zelen lahko potrdimo statistično značilno najbolj všečen vonj v postopku dodatka jagod v mošt. Kot celokupni vtis je bil najbolje ocenjen postopek hladne maceracije, vendar se ni statistično razlikoval od ostalih. Za sorto rebula je bil vonj v postopku hladne maceracije ocenjen kot najboljši, a se ni statistično značilno razlikoval od postopkov kontrole in dodatka jagod v mošt. Kot celokupni vtis je bil najbolje ocenjen postopek dodatka jagod v mošt, vendar se ni statistično razlikoval od ostalih. Za sorto malvazija je bil vonj v postopku kontrole ocenjen kot najboljši, a se ni statistično značilno razlikoval od ostalih postopkov. Kot celokupni vtis je bil najbolje ocenjen postopek zamrzovanja grozdja, vendar se ni statistično značilno razlikoval od ostalih.

4.2 VINIFIKACIJE 2009 – POSTOPKI DODATKA JAGOD V MOŠT

V letu 2009 smo glede na dobljene rezultate letnika 2008 in pomanjkanje obstoječih podatkov v literaturi izvedli poglobljeno študijo dveh posebnih tehnik maceracije, to je postopkov dodatka jagod in zamrzovanja grozdja/drozge.

Najprej smo izvedli študijo vinifikacij treh sort zelena, rebule in malvazije, v katerih smo kontrolni postopek primerjali s postopkoma dodatka 6 % in 12 % grozdnih jagod v mošt med alkoholno fermentacijo.

V nadaljevanju smo podali rezultate meritev osnovnih kemijskih parametrov, vsebnosti AS, vsebnosti fenolnih spojin in senzorično oceno za vina sort zelen, rebula in malvazija letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt. Rezultati so podani kot povprečne vrednosti ± standardni odklik.

4.2.1 Osnovni kemijski parametri vina

Preglednica 28: Osnovni kemijski parametri vin letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 28: Basic chemical parameters of wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

ZELEN	kontrola	dodatek 6 %	dodatek 12 %
osnovni kemijski parametri		jagod v mošt	jagod v mošt
dejanski alkohol (vol.%)	11,1 ± 0,1 ^b	10,9 ± 0,1 ^a	11,0 ± 0,1 ^{ab}
skupni suhi ekstrakt (g/L)	19,6 ± 0,2 ^a	19,6 ± 0,3 ^a	19,5 ± 0,4 ^a
reducirajoči sladkorji (g/L)	1,4 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,1 ^b	2,1 ± 0,1 ^c
pH (-)	3,02 ± 0,01 ^a	3,04 ± 0,02 ^b	3,08 ± 0,01 ^b
skupne kisline (g vinske k./L)	7,3 ± 0,1 ^c	7,2 ± 0,0 ^b	6,9 ± 0,1 ^a
hlapne kisline (g očetne k./L)	0,17 ± 0,01 ^{ab}	0,19 ± 0,01 ^b	0,16 ± 0,01 ^a
pepel (g/L)	1,61 ± 0,03 ^a	1,67 ± 0,04 ^a	1,65 ± 0,05 ^a
metanol (mg/L)	27,1 ± 0,7 ^a	31 ± 1 ^b	34 ± 1 ^c
REBULA	kontrola	dodatek 6 %	dodatek 12 %
osnovni kemijski parametri		jagod v mošt	jagod v mošt
dejanski alkohol (vol.%)	11,2 ± 0,1 ^b	11,2 ± 0,1 ^{ab}	11,1 ± 0,1 ^a
skupni suhi ekstrakt (g/L)	17,5 ± 0,3 ^a	17,7 ± 0,1 ^{ab}	18,2 ± 0,3 ^b
reducirajoči sladkorji (g/L)	1,4 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,1 ^a	1,7 ± 0,3 ^a
pH (-)	3,29 ± 0,02 ^a	3,30 ± 0,03 ^a	3,32 ± 0,03 ^a
skupne kisline (g vinske k./L)	5,5 ± 0,1 ^a	5,5 ± 0,1 ^a	5,5 ± 0,1 ^a
hlapne kisline (g očetne k./L)	0,12 ± 0,01 ^a	0,11 ± 0,02 ^a	0,11 ± 0,01 ^a
pepel (g/L)	1,45 ± 0,04 ^a	1,43 ± 0,01 ^a	1,46 ± 0,04 ^a
metanol (mg/L)	34,0 ± 0,8 ^a	36,4 ± 0,5 ^{ab}	40 ± 3 ^b
MALVAZIJA	kontrola	dodatek 6 %	dodatek 12 %
osnovni kemijski parametri		jagod v mošt	jagod v mošt
dejanski alkohol (vol.%)	10,9 ± 0,1 ^a	11,0 ± 0,2 ^a	11,0 ± 0,2 ^a
skupni suhi ekstrakt (g/L)	18,5 ± 0,2 ^a	18,8 ± 0,3 ^a	18,8 ± 0,1 ^a
reducirajoči sladkorji (g/L)	1,4 ± 0,2 ^a	1,6 ± 0,1 ^{ab}	1,8 ± 0,1 ^b
pH (-)	3,23 ± 0,02 ^a	3,27 ± 0,01 ^b	3,29 ± 0,01 ^b
skupne kisline (g vinske k./L)	5,8 ± 0,0 ^{ab}	6,0 ± 0,1 ^b	5,7 ± 0,1 ^a
hlapne kisline (g očetne k./L)	0,11 ± 0,01 ^a	0,10 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,03 ^a
pepel (g/L)	1,58 ± 0,02 ^a	1,63 ± 0,03 ^b	1,63 ± 0,02 ^b
metanol (mg/L)	25,6 ± 0,7 ^a	29 ± 1 ^b	30 ± 1 ^b

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Vino zelen 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 23)

V postopku dodatka 6 % jagod v mošt smo določili statistično značilno manjšo vsebnost dejanskega alkohola, v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt pa tudi manjšo vsebnost skupnih kislin, višji pH in večjo vsebnost metanola. Navkljub nekaterim statistično značilnim razlikam so bile spremembe osnovnih kemijskih parametrov v maceriranih vinih majhne.

Vino rebula 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 23)

V postopku dodatka 12 % jagod v mošt smo določili statistično značilno manjšo vsebnost dejanskega alkohola, večji skupni suhi ekstrakt in večjo vsebnost metanola. Navkljub nekaterim statistično značilnim razlikam so bile spremembe osnovnih kemijskih parametrov v maceriranih vinih majhne.

Vino malvazija 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 23)

V postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt smo določili statistično značilno večjo vsebnost pepela in metanola ter višji pH. V postopku dodatka 6 % jagod v mošt smo določili večjo vsebnost skupnih kislin. Navkljub nekaterim statistično značilnim razlikam so bile spremembe osnovnih kemijskih parametrov v maceriranih vinih majhne.

4.2.2 Aromatične spojine

Preglednica 29: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih zelen letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 29: Aroma compounds content in Zelen wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

aromatične spojine	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
acetaldehid (mg/L)	-	-	-
etil acetat (mg/L)	28,8 ± 0,5 ^a	29,7 ± 0,3 ^b	30,7 ± 0,5 ^c
2-butanol (mg/L)	-	-	-
1-propanol (mg/L)	19,8 ± 0,1 ^b	19,4 ± 0,7 ^b	18,2 ± 0,2 ^a
2-metilpropanol (mg/L)	39 ± 2 ^b	40 ± 1 ^b	34 ± 3 ^a
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	48,5 ± 0,3 ^b	48,3 ± 0,4 ^b	45,7 ± 0,1 ^a
3-metilbutanol (mg/L)	194 ± 2 ^b	192 ± 2 ^b	189,1 ± 0,7 ^a
2-feniletanol (mg/L)	42 ± 2 ^{ab}	39,2 ± 0,3 ^a	43 ± 2 ^b
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>343,3</i>	<i>338,9</i>	<i>330</i>
etil butirat (µg/L)	187 ± 5 ^a	176 ± 6 ^a	202 ± 9 ^b
etil heksanoat (µg/L)	415 ± 8 ^a	423 ± 43 ^a	496 ± 17 ^b
heksil acetat (µg/L)	69 ± 2 ^c	36 ± 2 ^b	24 ± 1 ^a
etil laktat (µg/L)	2370 ± 29 ^c	2220 ± 42 ^b	2128 ± 45 ^a
etil kaprilat (µg/L)	509 ± 32 ^b	458 ± 13 ^a	533 ± 12 ^b
etil kaprat (µg/L)	235 ± 5 ^b	196 ± 9 ^a	200 ± 4 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	100 ± 7 ^a	95 ± 11 ^a	98 ± 5 ^a
etil lavrat (µg/L)	20 ± 1 ^b	18 ± 1 ^a	19 ± 1 ^b
etil cinamat (µg/L)	-	-	-
etil palmitat (µg/L)	10 ± 2 ^a	12 ± 4 ^a	8 ± 1 ^a
izoamil acetat (µg/L)	1315 ± 16 ^b	1151 ± 61 ^a	1209 ± 82 ^{ab}
2-feniletil acetat (µg/L)	233 ± 2 ^c	156 ± 7 ^b	134 ± 7 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>5463</i>	<i>4941</i>	<i>5051</i>
1-heksanol (µg/L)	665 ± 10 ^b	637 ± 4 ^a	633 ± 15 ^a
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>665</i>	<i>637</i>	<i>633</i>
4-vinilfenol (µg/L)	83 ± 5 ^a	86 ± 3 ^a	99 ± 5 ^b
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	870 ± 140 ^a	1049 ± 40 ^{ab}	1156 ± 74 ^b
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>953</i>	<i>1135</i>	<i>1255</i>
linalool (µg/L)	33 ± 3 ^a	44 ± 2,1 ^b	48 ± 2 ^b
α-terpineol (µg/L)	65 ± 3 ^a	72 ± 3,5 ^a	100 ± 7 ^b
citronelol (µg/L)	23 ± 2 ^a	27 ± 0,6 ^b	27 ± 2 ^b
nerol (µg/L)	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>121</i>	<i>143</i>	<i>175</i>
benzil alkohol (µg/L)	12 ± 0 ^a	23 ± 2 ^b	34 ± 2 ^c
benzaldehyd (µg/L)	- ^a	2 ± 0 ^b	- ^a
β-ionon (µg/L)	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	1520 ± 18 ^b	1656 ± 36 ^b	2009 ± 25 ^c

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 30: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih rebula letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 30: Aroma compounds content in Ribolla Gialla wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

aromatične spojine	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
acetaldehid (mg/L)	-	-	-
etil acetat (mg/L)	39,4 ± 0,6 ^a	44 ± 1 ^b	47,5 ± 0,7 ^c
2-butanol (mg/L)	-	-	-
1-propanol (mg/L)	24,8 ± 0,7 ^a	24,5 ± 0,4 ^a	25 ± 1 ^a
2-metilpropanol (mg/L)	34 ± 2 ^a	31,2 ± 0,2 ^a	35 ± 1 ^a
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	45 ± 3 ^a	43,4 ± 0,9 ^a	42,0 ± 0,9 ^a
3-metilbutanol (mg/L)	176 ± 10 ^b	164 ± 2 ^{ab}	157 ± 5 ^a
2-feniletanol (mg/L)	32 ± 3 ^b	28,3 ± 0,7 ^a	29 ± 1 ^a
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>311,8</i>	<i>291,4</i>	<i>288</i>
etil butirat (µg/L)	318 ± 37 ^a	361 ± 12 ^{ab}	374 ± 14 ^b
etil heksanoat (µg/L)	721 ± 101 ^a	817 ± 36 ^a	966 ± 57 ^b
heksil acetat (µg/L)	210 ± 15 ^c	129 ± 8 ^b	94 ± 3 ^a
etil laktat (µg/L)	1184 ± 26 ^b	1137 ± 115 ^{ab}	1012 ± 73 ^a
etil kaprilat (µg/L)	910 ± 109 ^a	886 ± 46 ^a	935 ± 9 ^a
etil kaprat (µg/L)	319 ± 60 ^a	311 ± 15 ^a	306 ± 9 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	45 ± 3 ^a	49 ± 9 ^a	47 ± 2 ^a
etil lavrat (µg/L)	15 ± 5 ^a	17 ± 1 ^a	20 ± 1 ^a
etil cinamat (µg/L)	-	-	-
etil palmitat (µg/L)	12 ± 1 ^a	12 ± 2 ^a	14 ± 4 ^a
izoamil acetat (µg/L)	4371 ± 364 ^a	4494 ± 260 ^a	4322 ± 36 ^a
2-feniletil acetat (µg/L)	534 ± 37 ^c	431 ± 30 ^b	342 ± 14 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>8647</i>	<i>8650</i>	<i>8437</i>
1-heksanol (µg/L)	616 ± 8 ^a	627 ± 7 ^a	614 ± 21 ^a
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>616</i>	<i>627</i>	<i>614</i>
4-vinilfenol (µg/L)	466 ± 2 ^b	436 ± 18 ^a	438 ± 2 ^a
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	534 ± 6 ^a	509 ± 20 ^a	510 ± 11 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1000</i>	<i>945</i>	<i>948</i>
linalool (µg/L)	7 ± 2 ^a	8 ± 1 ^a	8 ± 1 ^a
α-terpineol (µg/L)	-	-	-
citronelol (µg/L)	19 ± 4 ^a	19 ± 3 ^a	22 ± 5 ^a
nerol (µg/L)	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>26</i>	<i>27</i>	<i>30</i>
benzil alkohol (µg/L)	7 ± 1 ^a	9 ± 0 ^b	12 ± 1 ^c
benzaldehyd (µg/L)	2 ± 0 ^a	2 ± 0 ^a	2 ± 0 ^a
β-ionon (µg/L)	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	1250 ± 35 ^a	1266 ± 105 ^a	1323 ± 46 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 31: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih malvazija letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 31: Aroma compounds content in Malvasia Istriana wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

aromatične spojine	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
acetaldehid (mg/L)	-	-	-
etil acetat (mg/L)	26,9 ± 0,7 ^a	27 ± 2 ^a	29,2 ± 0,8 ^b
2-butanol (mg/L)	-	-	-
1-propanol (mg/L)	18 ± 2 ^a	15 ± 1 ^a	17 ± 4 ^a
2-metilpropanol (mg/L)	26 ± 1 ^c	21 ± 1 ^b	19,2 ± 0,2 ^a
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	46,0 ± 0,7 ^a	43 ± 2 ^a	44 ± 3 ^a
3-metilbutanol (mg/L)	178 ± 6 ^b	168 ± 7 ^{ab}	166 ± 2 ^a
2-feniletanol (mg/L)	37 ± 1 ^b	33,1 ± 0,7 ^a	36 ± 3 ^{ab}
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>305</i>	<i>280,1</i>	<i>282,2</i>
etil butirat (µg/L)	214 ± 7 ^a	239 ± 4 ^{ab}	260 ± 31 ^b
etil heksanoat (µg/L)	532 ± 23 ^a	614 ± 32 ^a	619 ± 85 ^a
heksil acetat (µg/L)	206 ± 7 ^c	142 ± 2 ^b	102 ± 6 ^a
etil laktat (µg/L)	1466 ± 71 ^b	1417 ± 37 ^b	1316 ± 28 ^a
etil kaprilat (µg/L)	623 ± 14 ^a	636 ± 18 ^a	658 ± 62 ^a
etil kaprat (µg/L)	239 ± 7 ^b	227 ± 3 ^b	180 ± 30 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	82 ± 1 ^a	90 ± 4 ^b	96 ± 5 ^b
etil lavrat (µg/L)	23 ± 2 ^a	21 ± 1 ^a	18 ± 4 ^a
etil cinamat (µg/L)	-	-	-
etil palmitat (µg/L)	11 ± 1 ^a	11 ± 2 ^a	11 ± 1 ^a
izoamil acetat (µg/L)	1825 ± 110 ^a	1948 ± 59 ^a	2136 ± 240 ^a
2-feniletil acetat (µg/L)	190 ± 9 ^b	159 ± 7 ^a	146 ± 12 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>5411</i>	<i>5504</i>	<i>5542</i>
1-heksanol (µg/L)	1212 ± 30 ^b	1221 ± 28 ^b	1105 ± 37 ^a
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	32 ± 1 ^b	31 ± 0 ^b	29 ± 1 ^a
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1244</i>	<i>1252</i>	<i>1134</i>
4-vinilfenol (µg/L)	67 ± 1 ^a	89 ± 12 ^b	83 ± 8 ^b
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	379 ± 11 ^a	449 ± 28 ^a	425 ± 55 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>446</i>	<i>538</i>	<i>508</i>
linalool (µg/L)	24 ± 3 ^a	33 ± 3 ^b	41 ± 3 ^c
α-terpineol (µg/L)	- ^a	52 ± 4 ^b	74 ± 5 ^c
citronelol (µg/L)	25 ± 4 ^a	27 ± 7 ^a	31 ± 3 ^a
nerol (µg/L)	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>49</i>	<i>112</i>	<i>146</i>
benzil alkohol (µg/L)	5 ± 1 ^a	9 ± 1 ^b	12 ± 1 ^c
benzaldehyd (µg/L)	-	-	-
β-ionon (µg/L)	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	1396 ± 57 ^a	1616 ± 9 ^b	1725 ± 96 ^b

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom (p≤0,05).

Preglednica 32: Razmerja hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola v vinih letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 32: Ratios between volatile phenols 4-vinyl guaiacol and 4-vinyl phenol in wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

ZELEN	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	10,5	12,2	11,3
REBULA	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	1,2	1,2	1,2
MALVAZIJA	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	5,7	5,0	5,1

4.2.2.1 C₆ alkoholi in aldehidi

Vino zelen 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 29)

Pri sortah zelen smo v letniku 2009 določili bistveno manjše seštevke vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov kot v letniku 2008. Dosegali so povprečne vrednosti iz literature (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Stiskanje grozdja ali drozge smo izvajali enotno ne glede na postopek ali sorto do 1,5 bara tlaka. Tako smo pri sorti zelen določili samo 1-heksanol. Statistično značilno največ smo ga določili v postopku kontrole (665 µg/L), a ni dosegel praga senzorične zaznave 1300 µg/L (Moyano in sod., 2002). *Cis*-3-heksen-1-ola pri sorti zelen nismo določili. V letniku 2009 tudi nismo potrdili prisotnosti *trans*-2-heksen-1-ola skladno z opažanji drugih raziskovalcev (Selli in sod., 2003; Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2006). Vpliv C₆ alkoholov in aldehydov na vonj vina sorte zelen v tem poskusu ni bil potrjen.

Vino rebula 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 30)

Pri sorti rebula in zelen smo v letniku 2009 določili podobne seštevke vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov v okviru povprečnih vrednosti iz literature (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Največji delež je tudi pri sorti rebula pripadal 1-heksanolu. 1-heksanol primerjalno med postopki ni izkazoval statistično značilnih razlik. Njegove povprečne določene vsebnosti so bile od 614-627 µg/L. Prag senzorične zaznave za to spojino ni bil presežen v nobenem postopku. Pri sorti rebula nismo potrdili prisotnosti *cis*-3-heksen-1-ola in *trans*-2-heksen-1-ola. Vpliv C₆ alkoholov in aldehydov na vonj vina sorte rebula v tem poskusu ni bil potrjen.

Vino malvazija 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 31)

Pri sorti malvazija je seštevke vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov presegal 1 mg/L pri vseh treh postopkih. Splošno je skupna vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov presegala povprečno določene v literaturi (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Največji delež je zopet pripadal 1-heksanolu. Takšne večje koncentracije so bile v vinih že določene (Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Lukić in sod., 2008). Vsebnost 1-heksanola je bila statistično značilno manjša samo v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (1105 µg/L). V postopku kontrole in dodatka 6 % jagod v mošt smo določili primerljive koncentracije 1212 µg/L in 1221 µg/L. Od ostalih C₆ alkoholov in aldehydov smo določili samo še *cis*-3-heksen-1-ol. Njegova

vsebnost je bila občutno manjša od praga senzorične zaznave in statistično značilno manjša samo v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (29 µg/L). Pri sorti malvazija nismo potrdili prisotnosti *trans*-2-heksen-1-ola. Navkljub vsebnostim blizu praga senzorične zaznave za 1-heksanol vpliv C₆ alkoholov in aldehydov na vonj vina sorte malvazija v tem poskusu ni bil potrjen.

4.2.2.2 Hlapni fenoli

Vino zelen 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednici 29 in 32)
Pri sorti zelen smo največji seštevek hlapnih fenolov določili v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt predvsem zaradi 4-vinilgvajakola (1049 µg/L in 1156 µg/L). Koncentracije 4-vinilgvajakola so vsaj desetkrat presegle koncentracije 4-vinilfenola. Tako ni bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov, torej podobna koncentracija 4-vinilfenola in 4-vinilgvajakola (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). 4-vinilgvajakol je v vseh postopkih presegal senzorični prag zaznave 440 µg/L in je lahko s svojim vonjem po popru ali nageljnovih žbicah vplival na vonj vina (Williams in sod., 1980; Rocha in sod., 2005). Le med postopkoma kontrole in dodatka 12 % jagod v mošt smo določili statistično značilne razlike v vsebnosti 4-vinilgvajakola. V postopku dodatka 12 % jagod v mošt smo določili 33 % večjo vsebnost 4-vinilgvajakola (1156 µg/L) v primerjavi s postopkom kontrole (870 µg/L). 4-vinilfenola smo določili statistično značilno več v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (99 µg/L), a tudi v tem postopku občutno manj od senzoričnega praga zaznave 725 µg/L (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). Negativni vpliv hlapnih fenolov pri sorti zelen v tem poskusu ni bil potrjen.

Vino rebula 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednici 30 in 32)
Pri sorti rebula smo določili pri vseh postopkih podoben seštevek hlapnih fenolov. Koncentracija 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola so bile zelo podobne. Tako je bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov. Koncentracija 4-vinilgvajakola se statistično ni razlikovala med postopki (509-534 µg/L), je pa vedno presejala senzorični prag zaznave in torej vplivala na vonj vina. 4-vinilfenola smo določili povprečno vsaj štirikrat več kot primerjalno pri sorti zelen. Statistično značilno največ smo ga določili v postopku kontrole (466 µg/L), vendar ni dosegal praga senzorične zaznave. Negativni vpliv hlapnih fenolov pri sorti rebula v tem poskusu ni bil potrjen.

Vino malvazija 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednici 31 in 32)
Sorta malvazija je v letniku 2009 vsebovala primerjalno manj hlapnih fenolov kot zelen in rebula. Največji seštevek hlapnih fenolov smo določili pri postopku dodatka 6 % jagod v mošt (538 µg/L). Koncentracije 4-vinilgvajakola so vsaj petkrat presegle koncentracijo 4-vinilfenola. Tako ni bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov. Koncentracija 4-vinilgvajakola se statistično ni razlikovala med postopki (379-449 µg/L) in je prag senzorične zaznave presejala le v postopku dodatka 6 % jagod v mošt. 4-vinilfenola smo določili v podobnih koncentracijah kot pri sorti zelen. Statistično značilno več smo ga določili v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt (89 µg/L in 83 µg/L), vendar občutno manj od senzorične praga zaznave. Negativni vpliv hlapnih fenolov pri sorti malvazija v tem poskusu ni bil potrjen.

4.2.2.3 Višji alkoholi

Vino zelen 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 29)

Pri sorti zelen smo največji seštevek višjih alkoholov določili v postopku kontrole (343 mg/L). V vseh postopkih so seštevki presegali prag 300 mg/L, pri kateri višji alkoholi negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru seštevki višjih alkoholov niso presegali praga v nobenem postopku. Za sorto zelen smo v tem poskusu določili manjšo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih (339,1 mg/L in 329,9 mg/L), kar je v nasprotju z večino prej opravljenih raziskav (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Le Sanchez Palomo in sod. (2007) so prikazali podoben rezultat. Statistično značilno največ 3-metilbutanola, 2-metilbutanola, 2-metilpropanola in 1-propanola smo določili v postopkih kontrole in dodatka 6 % jagod v mošt. Med višjimi alkoholi smo kvantitativno največ določili 3-metilbutanola (189-194 mg/L), ki je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave 30 mg/L (Moreno in sod., 2005). 2-metilpropanol je senzorični prag zaznave 40 mg/L (Moreno in sod., 2005) dosegel v postopku dodatka 6 % jagod v mošt. Koncentracija 1-propanola ni dosegla praga senzorične zaznave 314 mg/L (Moyano in sod., 2002). Statistično značilno več 2-feniletanola smo določili v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (43 mg/L) v primerjavi s postopkom dodatka 6 % jagod v mošt (39 mg/L). V vseh postopkih je presegal prag senzorične zaznave 10 mg/L (Moyano in sod., 2002). V tem poskusu smo za sorto zelen določili statistično značilno večje vsebnosti benzil alkohola v maceriranih vinih (23 µg/L in 34 µg/L).

Vino rebula 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 30)

Pri sorti rebula smo največji seštevek višjih alkoholov določili v postopku kontrole (312 mg/L). Samo v postopku kontrole je seštevek presegal prag 300 mg/L, pri kateri lahko višji alkoholi celo negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru seštevki višjih alkoholov niso presegali praga v nobenem postopku. Za sorto rebula v tem poskusu smo določili manjšo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih (291 mg/L in 288 mg/L), kar je v nasprotju z večino prej opravljenih raziskav (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Le Sanchez Palomo in sod. (2007) so prikazali podoben rezultat. Med višjimi alkoholi smo kvantitativno določili največ 3-metilbutanola (157-176 mg/L), ki je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave. Vsebnosti 2-metilbutanola, 2-metilpropanola in 1-propanola se med postopki statistično značilno niso razlikovale. 2-metilpropanol in 1-propanol nista dosegla odgovarjajočih pragov senzorične zaznave. Statistično značilno več 2-feniletanola smo določili v postopku kontrole (32 mg/L), a razlike med postopki kvantitativno niso bile velike. V vseh postopkih je presegal prag senzorične zaznave. V tem poskusu smo tudi za sorto rebula določili statistično značilno večje vsebnosti benzil alkohola v maceriranih vinih (9 µg/L in 12 µg/L). Določene koncentracije so bile manjše kot pri sorti zelen.

Vino malvazija 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 31)

Pri sorti malvazija smo največji seštevek višjih alkoholov določili v postopku kontrole (305 mg/L). Samo v postopku kontrole je seštevek presegal 300 mg/L, pri kateri lahko višji alkoholi celo negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru seštevek višjih alkoholov niso presegali praga v nobenem postopku. Za sorto malvazija smo v tem poskusu določili manjšo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih (280 in 282 mg/L), kar je v nasprotju z večino prej opravljenih raziskav (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Le Sanchez Palomo in sod. 2007 so prikazali podoben rezultat. Med višjimi alkoholi smo kvantitativno največ določili 3-metilbutanola (166-178 mg/L), ki je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave. Statistično značilno največ 2-metilpropanola smo določili v postopku kontrole (46 mg/L). Vsebnosti 2-metilbutanola in 1-propanola se med postopki statistično značilno niso razlikovale in niso dosegle praga senzorične zaznave. Statistično značilno več 2-feniletanola smo določili v postopku kontrole (37 mg/L) v primerjavi z dodatkom 6 % jagod (33 mg/L). V vseh postopkih je presegal prag senzorične zaznave. V tem poskusu smo tudi za sorto malvazija določili statistično značilno večje vsebnosti benzil alkohola v maceriranih vinih (9 µg/L in 12 µg/L). Določene koncentracije so bile tudi pri malvaziji manjše kot pri sorti zelen in primerljive s sorto rebula.

4.2.2.4 Estri

Vino zelen 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 29)

V sorti zelen smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (31 mg/L). Etil acetat je pri vseh postopkih presegel prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti zelen smo določili najmanjši seštevek estrov brez etil acetata pri postopku dodatka 6 % jagod v mošt (4941 µg/L). Kvantitativno smo od preostalih estrov določili največ etil laktata (2128-2370 µg/L). Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina, smo ga odšteli od ostalih estrov. Tako dobljeni seštevek je bil največji za postopek kontrole. Tako lahko za sorto zelen potrdimo manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih skladno z nekaterimi raziskavami (Peinado in sod., 2004a; Sanchez Palomo in sod., 2006). Druge raziskave takšnega vpliva niso potrdile (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Od tako imenovanih sadnih estrov so vina iz postopka kontrole vsebovala statistično značilno največ heksil acetata (69 µg/L), etil kaprata (235 µg/L) in 2-feniletil acetata (233 µg/L). Vina v postopku dodatka 12 % jagod pa so vsebovala statistično značilno največ etil heksanoata (496 µg/L). Etil heksanoat in izoamil acetat sta v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave 5 µg/L in 30 µg/L. Heksil acetat, etil kaprilat, etil kaprat in 2-feniletil acetat pa pragov senzorične zaznave 670 µg/L, 580 µg/L, 510 µg/L in 250 µg/L niso dosegali v nobenem postopku (Moyano in sod., 2002; Peinado in sod., 2004a; Moreno in sod., 2005; Rocha in sod., 2005; Moyano in sod., 2009). Etil cinamat kot pokazatelj karbonske maceracije ni bil določen v nobenem postopku. Statistično značilno večja koncentracija etil butirata je bila določena le v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (202 µg/L) in je v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave 20 µg/L (Moyano in sod., 2009). Koncentracije ostalih estrov z

daljšimi verigami, torej etil lavrata in dietil sukcinata, so bile občutno manjše. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav 500 µg/L in 100 mg/L (Moyano in sod., 2009). V skladu z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Splošno so nezaželene večje koncentracije višjih alkoholov ob istočasno manjši vsebnosti estrov v vinih, kar ima dokazano negativen senzorični vpliv (Ferreira in sod., 1995; Lukić in sod., 2008). Glede na razmerje seštevka estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov, teoretično ne moremo potrditi negativnega vpliva postopkov dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt pri sorti zelen. Vina v omenjenih postopkih so sicer res vsebovala manj estrov, a tudi manj višjih alkoholov.

Vino rebula 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 30)

V sorti rebula smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (48 mg/L). Etil acetat je pri vseh postopkih presegel prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti rebula smo določil najmanjši seštevka estrov brez etil acetata v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (8437 µg/L). Kvantitativno smo od preostalih estrov določili največ izoamil acetata (4322-4494 µg/L) in etil laktata (1012-1184 µg/L). Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina, smo ga odšteli od ostalih estrov. Tako dobljeni seštevka je bil največji za postopek dodatka 6 % jagod v mošt, najmanjši pa za postopek dodatka 12 % jagod v mošt. Od tako imenovanih sadnih estrov so vina iz postopka kontrole vsebovala statistično značilno največ heksil acetata (210 µg/L) in 2-feniletil acetata (534 µg/L). Vina v postopku dodatka 12 % jagod pa so vsebovala statistično značilno največ etil heksanoata (966 µg/L). Vsebnosti izoamil acetata, etil kaprilata in etil kaprata se med postopki statistično značilno niso razlikovale. Vsebnosti izoamil acetata so bile izrazito večje kot v letniku 2008. Ta pojav je značilen za tako imenovana »mlada vina«, saj so bile določitve aromatičnih spojin v letniku 2009 izvedene samo dva meseca po koncu alkoholne fermentacije. Etil heksanoat, etil kaprilat, 2-feniletil acetat in izoamil acetat so v vseh postopkih presegali senzorični prag zaznave, etil kaprat in heksil acetat pa v nobenem. Statistično značilno večja koncentracija etil butirata je bila določena v postopku dodatka 12 % jagod (374 µg/L) v primerjavi s kontrolnim postopkom (318 µg/L) in je v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave. Koncentracije etil lavrata in dietil sukcinata so bile občutno manjše. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Skladno z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Etil cinamat kot pokazatelj karbonske maceracije ni bil določen v nobenem postopku. Glede na razmerje seštevka estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov, teoretično lahko potrdimo pozitiven vpliv postopka dodatka 6 % jagod v mošt in delno tudi dodatka 12 % jagod v mošt pri sorti rebula zaradi manjše vsebnosti višjih alkoholov in večje vsebnosti estrov v primerjavi s kontrolnim postopkom.

Vino malvazija 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 31)

V sorti malvazija smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (29 mg/L). Etil acetat je pri vseh postopkih presegel prag senzorične zaznave. V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti malvazija smo določil najmanjši seštevka estrov brez etil acetata v postopku kontrole (5411 µg/L). Kvantitativno smo od preostalih estrov določili največ izoamil acetata (1825-2136 µg/L) in

etil laktata (1316-1466 $\mu\text{g/L}$). Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina, smo ga odšteli od ostalih estrov. Tako dobljeni seštevek je bil največji za postopek dodatka 12 % jagod v mošt, najmanjši pa za postopek kontrole. Tako lahko za sorto malvazija potrdimo večjo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih. Od tako imenovanih sadnih estrov so vina iz postopka kontrole vsebovala statistično značilno največ heksil acetata (206 $\mu\text{g/L}$) in 2-feniletil acetata (190 $\mu\text{g/L}$). Vina v postopku dodatka 12 % jagod v mošt so vsebovala statistično značilno najmanj heksila acetata (102 $\mu\text{g/L}$) in etil kaprata (180 $\mu\text{g/L}$). Vsebnosti etil heksanoata, izoamil acetata in etil kaprilata se statistično značilno niso razlikovale med postopki. Etil heksanoat, etil kaprilat in izoamil acetat so v vseh postopkih presegali senzorični prag zaznave, etil kaprat in heksil acetat pa v nobenem. Vsebnosti izoamil acetata so bile sicer večje kot v letniku 2008 pri isti sorti, vendar ne tako izrazito kot pri rebuli. Statistično značilno večja koncentracija etil butirata je bila določena v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (260 $\mu\text{g/L}$) v primerjavi s kontrolnim postopkom (214 $\mu\text{g/L}$) in je v vseh postopkih presegla senzorični prag zaznave. Koncentracije estrov z daljšimi verigami, kot sta etil lavrat in dietil sukcinat, so bile občutno manjše. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Skladno z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Etil cinamat kot pokazatelj karbonske maceracije ni bil določen v nobenem postopku. Glede na razmerje seštevka estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov, teoretično lahko potrdimo pozitiven vpliv postopkov dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt pri sorti malvazija zaradi manjše vsebnosti višjih alkoholov in večje vsebnosti estrov primerjalno s kontrolnim postopkom.

4.2.2.5 Aldehidi, ketoni, laktoni

Vino zelen 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 29)

Pri sorti zelen acetaldehida nismo določili zaradi večjega dodatka žveplovega dioksida kot v 2008 in verjetno tudi zato, ker so bile določitve izvedene prej kot v letniku 2008. Vsebnosti benzaldehida, ki smo ga določili v sorti zelen, so bile minimalne in manjše kot v letniku 2008, a še vedno v skladu z rezultati drugih raziskovalcev (Cabarroglu in sod., 1997; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007). Pozitivnega vpliva postopkov maceracije na vsebnost benzaldehida v letniku 2009 ne moremo potrditi. Statistično značilno največ γ -butirolaktona smo določili v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (2009 $\mu\text{g/L}$). Ta ugotovitev je sicer v nasprotju s podatkom iz literature, kjer so v maceriranih vinih dobili manj γ -butirolaktona (Selli in sod., 2006). Po sklepanju Rocha in sod. (2005) lahko že koncentracije nad 4-5 mg/L γ -butirolaktona vplivajo na vonj vina. Pri sorti zelen smo v vseh postopkih določili manjše koncentracije.

Vino rebula 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 30)

Pri sorti rebula acetaldehida nismo določili zaradi večjega dodatka žveplovega dioksida in tudi zato, ker so bile določitve izvedene prej kot v letniku 2008. Vsebnosti benzaldehida, ki smo ga določili v sorti rebula so bile minimalne, a še vedno v skladu z rezultati drugih raziskovalcev (Cabarroglu in sod., 1997; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007). Pozitivnega vpliva postopkov maceracije na vsebnost benzaldehida v letniku 2009 ne moremo potrditi. Statistično značilnih razlik med postopki glede na vsebnost γ -butirolaktona nismo določili. Vsebnost γ -butirolaktona (1250-1323 $\mu\text{g/L}$) je bila vsaj trikrat manjša kot pri rebuli letnika 2008.

Vino malvazija 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 31)

Pri sorti malvazija acetaldehida nismo določili zaradi večjega dodatka žveplovega dioksida in tudi zato, ker so bile določitve izvedene prej kot v letniku 2008. Benzaldehida v sorti malvazija nismo določili. Statistično značilno najmanj γ -butirolaktona smo določili v postopku kontrole (1396 $\mu\text{g/L}$). Ta ugotovitev je sicer v nasprotju s podatkom iz literature, kjer so v maceriranih vinih dobili manj γ -butirolaktona (Selli in sod., 2006).

4.2.2. 6 Terpeni in C_{13} norizoprenoidi

Vino zelen 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 29)

V sorti zelen smo določili tri proste monoterpenske alkohole: linalool, α -terpineol in citronelol. V letu 2009 smo pri sorti zelen v postopkih kontrole in dodatka jagod v mošt določili skupno manjše vsebnosti terpenov v primerjavi z letnikom 2008. Možna razlaga je uporaba manj zrelega grozdja kot v letniku 2008 in s tem povezana manjša vsebnost terpenov (Wilson in sod., 1984). Za vse terpene z izjemo α -terpineola v postopku dodatka 6 % jagod v mošt smo potrdili pozitiven vpliv maceracije v primerjavi s postopkom kontrole. Kot najuspešnejša tehnologija glede na seštevke terpenov (175 $\mu\text{g/L}$) in vsebnost posameznih terpenov se je pokazal postopek dodatka 12 % jagod v mošt. Vsebnosti linaloola so se statistično značilno razlikovale med postopki kontrole (33 $\mu\text{g/L}$) in maceracije, v slednjih ga je bilo več (44 $\mu\text{g/L}$ in 48 $\mu\text{g/L}$). V vseh postopkih je presegel prag senzorične zaznave 15 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Kvantitativno največ smo določili α -terpineola, statistično značilno največ v postopku dodatka 12 % jagod v mošt (100 $\mu\text{g/L}$), vendar tudi v tem postopku ni dosegel praga senzorične zaznave 250 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Vsebnost citronelola je bila statistično večja v postopkih maceracije (27 $\mu\text{g/L}$ in 27 $\mu\text{g/L}$). V vseh postopkih je citronelol presegel prag senzorične zaznave 18 $\mu\text{g/L}$ (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). β -ionona, kot edinega predstavnika C_{13} norizoprenoidov, nismo določili v nobenem postopku.

Vino rebula 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 30)

V sorti rebula smo določili samo dva prosta monoterpenska alkohola: linalool in citronelol. V letu 2009 smo pri sorti rebula v postopkih kontrole in dodatka jagod v mošt določili primerljive vsebnosti terpenov kot v letniku 2008. Za vsebnosti terpenov glede na posamezne postopke ne moremo potrditi pozitivnega vpliva maceracije. Kvantitativno največ smo določili citronelola. Vsebnosti linaloola (7-8 $\mu\text{g/L}$) in citronelola (19-22 $\mu\text{g/L}$) se med postopki niso statistično značilno razlikovale. Citronelol je v vseh postopkih presegel prag senzorične zaznave, linalool pa v nobenem. Sorta rebula je tako v poskusu 2008 kot 2009 vsebovala manj terpenov kot zelen. β -ionona, kot edinega predstavnika C_{13} norizoprenoidov, nismo določili v nobenem postopku.

Vino malvazija 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednica 31)

V letu 2009 smo tako pri sorti malvazija kot pri sorti zelen v postopkih kontrole in dodatka jagod v mošt določili skupno manjše vsebnosti terpenov v primerjavi z letnikom 2008. Za vse terpene lahko potrdimo pozitiven vpliv maceracije. Kot najuspešnejša tehnologija glede na seštevke terpenov (146 $\mu\text{g/L}$) in vsebnost posameznih terpenov se je pokazal postopek dodatka 12 % jagod v mošt. Kvantitativno največ smo določili α -terpineola (74 $\mu\text{g/L}$) v postopku dodatka 12 % jagod v mošt. Vsebnosti linaloola (24-41 $\mu\text{g/L}$) in α -terpineola (0-74 $\mu\text{g/L}$) so se statistično značilno razlikovale med postopki, največ smo jih določili v

postopku dodatka 12 % jagod v mošt. Linalool in citronelol sta v vseh postopkih presegla pragove senzorične zaznave, α -terpineol pa v nobenem. β -ionona, kot edinega predstavnika C₁₃ norizoprenoidov, nismo določili v nobenem postopku

4.2.3 Fenolne spojine

Preglednica 33: Vsebnost hidroksicimetičnih kislin in skupnih fenolov v vinih letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 33: Hydroxycinnamic acids and total phenolics content in wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

ZELEN	kontrola	dodatek 6 %	dodatek 12 %
fenolne spojine		jagod v mošt	jagod v mošt
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	2,2 ± 0,3 ^a	2,1 ± 0,6 ^a	3,9 ± 0,6 ^a
kaftarna kislina (mg/L)	109 ± 5 ^a	121 ± 3 ^b	131 ± 5 ^c
GRP (mg/L)	12,3 ± 0,6 ^a	12,6 ± 0,4 ^a	12,2 ± 0,9 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	1,7 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,1 ^b	2,6 ± 0,3 ^c
kutarna kislina (mg/L)	4,8 ± 0,1 ^a	6,5 ± 0,1 ^b	7,7 ± 0,5 ^c
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,3 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^a	0,4 ± 0,1 ^a
fertarna kislina (mg/L)	3,4 ± 0,1 ^a	3,7 ± 0,2 ^a	3,4 ± 0,3 ^a
kavna kislina (mg/L)	1,5 ± 0,1 ^a	1,7 ± 0,0 ^b	1,7 ± 0,1 ^b
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,4 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,2 ^a	0,3 ± 0,0 ^a
ferulna kislina (mg/L)	1,7 ± 0,3 ^a	2,0 ± 0,4 ^a	1,7 ± 0,0 ^a
HCK skupaj (mg/L)	137 ± 6 ^a	152 ± 2 ^b	164 ± 7 ^c
skupni fenoli (mg/L)	141 ± 7 ^a	153 ± 2 ^b	165 ± 2 ^c
REBULA	kontrola	dodatek 6 %	dodatek 12 %
fenolne spojine		jagod v mošt	jagod v mošt
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	0,19 ± 0,0 ^a	0,19 ± 0,04 ^a	0,28 ± 0,1 ^a
kaftarna kislina (mg/L)	11 ± 1 ^a	13,7 ± 0,91 ^b	16,0 ± 0,5 ^c
GRP (mg/L)	21 ± 1 ^a	20,8 ± 0,5 ^a	19,8 ± 0,5 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	3,4 ± 0,2 ^a	3,6 ± 0,03 ^{ab}	3,9 ± 0,1 ^b
kutarna kislina (mg/L)	1,9 ± 0,3 ^a	3,2 ± 0,22 ^b	4,3 ± 0,1 ^c
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,1 ^b	0,11 ± 0,01 ^a	0,17 ± 0,0 ^{ab}
fertarna kislina (mg/L)	2,5 ± 0,2 ^b	2,3 ± 0,07 ^{ab}	2,2 ± 0,1 ^a
kavna kislina (mg/L)	0,8 ± 0,0 ^b	0,7 ± 0,01 ^b	0,7 ± 0,0 ^a
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,1 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,03 ^b	0,46 ± 0,1 ^b
ferulna kislina (mg/L)	0,5 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,03 ^b	0,5 ± 0,1 ^{ab}
HCK skupaj (mg/L)	42 ± 3 ^a	46 ± 2 ^b	48 ± 1 ^b
skupni fenoli (mg/L)	70 ± 3 ^a	84 ± 4 ^b	95 ± 8 ^b
MALVAZIJA	kontrola	dodatek 6 %	dodatek 12 %
fenolne spojine		jagod v mošt	jagod v mošt
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	0,9 ± 0,3 ^a	1,0 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,2 ^a
kaftarna kislina (mg/L)	32 ± 4 ^a	34,7 ± 0,7 ^{ab}	37 ± 2 ^b
GRP (mg/L)	12 ± 2 ^a	11,0 ± 0,2 ^a	10,3 ± 0,1 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	1,5 ± 0,2 ^a	1,68 ± 0,1 ^a	1,72 ± 0,1 ^a
kutarna kislina (mg/L)	1,7 ± 0,4 ^a	2,05 ± 0,1 ^{ab}	2,2 ± 0,1 ^a
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,1 ^a	0,28 ± 0,0 ^a	0,34 ± 0,1 ^a
fertarna kislina (mg/L)	2,9 ± 0,5 ^a	2,6 ± 0,1 ^a	2,52 ± 0,1 ^a
kavna kislina (mg/L)	1,30 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^a	1,2 ± 0,1 ^a
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^a
ferulna kislina (mg/L)	0,8 ± 0,1 ^a	0,8 ± 0,0 ^a	0,8 ± 0,1 ^a
HCK skupaj (mg/L)	54 ± 7 ^a	56 ± 1 ^a	58 ± 2 ^a
skupni fenoli (mg/L)	68 ± 1 ^a	76 ± 2 ^b	86 ± 2 ^c

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 34: Razmerja hidroksicimetnih kislin, skupnih fenolov in vsebnost flavonoidov v vinih letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 34: Ratios between hydroxycinnamic acids, total phenolics and flavonoids content in wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

ZELEN	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
HCK : skupni fenoli (-)	0,53	0,54	0,54
flavonoidi (mol/L)	0,39	0,41	0,45
kaftarna kislina : HCK (-)	0,79	0,80	0,80
REBULA	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
HCK : skupni fenoli (-)	0,32	0,30	0,28
flavonoidi (mol/L)	0,28	0,35	0,40
kaftarna kislina : HCK (-)	0,26	0,30	0,33
MALVAZIJA	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
HCK : skupni fenoli (-)	0,43	0,40	0,37
flavonoidi (mol/L)	0,23	0,27	0,32
kaftarna kislina : HCK (-)	0,59	0,62	0,64

Vino zelen 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednici 33 in 34)

V poskusu letnika 2009 smo kot postopek maceracije uporabljali dodatek 6 % in 12 % jagod med alkoholno fermentacijo, kar pomeni relativno dolg čas maceracije. Glede vsebnosti skupnih fenolov lahko potrdimo statistično značilne razlike med vsemi postopki. Postopek kontrole je vseboval najmanj skupnih fenolov (141 mg/L), največ pa postopek dodatka 12 % jagod v mošt (165 mg/L ali 17 % več). Zelen je tudi v letniku 2009 vseboval največ skupnih HCK (137-164 mg/L) od proučevanih sort. Skupna vsebnost HCK se je statistično značilno razlikovala med vsemi postopki v enakem razmerju kot skupni fenoli. Macerirana vina iz postopkov dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt so vsebovala 11 % in 18 % več skupnih HCK. Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina (109-131 mg/L). Vsebnost kaftarne kisline se je statistično značilno razlikovala med vsemi postopki v enakem razmerju kot skupni fenoli. Glede na razmerje skupnih fenolov in skupnih HCK sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po obeh postopkih dodatka jagod v mošt, nahajala primerljiva vsebnost flavonoidov. Če pa rezultate skupnih fenolov in skupnih HCK delimo z molskimi masami galne kisline 170,1 g/mol in kaftarne kisline 312 g/mol, lahko med seboj direktno primerjamo mole spojin. Tako predvidevamo manjšo vsebnost flavonoidov v postopku dodatka 6 % jagod v mošt. Postopek dodatka 6 % jagod v mošt se je torej glede na vsebnost fenolnih spojin med maceriranimi vini pokazal kot bolj primeren.

Vino rebula 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednici 33 in 34)

Vsebnosti skupnih fenolov pri sorti rebula so bile statistično značilno različne med vsemi postopki. Postopek kontrole je vseboval najmanj skupnih fenolov (70 mg/L), največ pa postopek dodatka 12 % jagod v mošt (95 mg/L ali 36 % več). Skupna vsebnost HCK (42-48 mg/L) se je statistično značilno razlikovala le med maceriranimi vini in postopkom kontrole. Macerirana vina iz postopkov dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt so vsebovala 10 % in 16 % več skupnih HCK. Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina predvsem kot GRP (angl. grape reactive product), torej oksidirana oblika kaftarne kisline (Singleton in sod., 1985). Glede na razmerje skupnih fenolov in skupnih HCK sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po postopku dodatka 12 % jagod v mošt, nahajalo tudi največ

flavonoidov. Postopek dodatka 6 % jagod v mošt se je glede na vsebnost fenolnih spojin med maceriranimi vini pokazal kot bolj primeren.

Vino malvazija 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt (preglednici 33 in 34)

Vsebnost skupnih fenolov pri sorti malvazija je izkazovala statistično značilne razlike med vsemi postopki. Postopek kontrole je vseboval najmanj skupnih fenolov (68 mg/L), največ pa postopek dodatka 12 % jagod v mošt (86 mg/L ali 26 % več). Skupna vsebnost HCK (54,1-58,2 mg/L) se statistično značilno ni razlikovala med postopki. Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina (32-37 mg/L). Vsebnost kaftarne kisline se je statistično značilno razlikovala med postopkom kontrole in postopkom dodatka 12 % jagod v mošt, v slednjem je bila za 17 % večja. Glede na razmerje skupnih fenolov in skupnih HCK sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po postopku dodatka 12 % jagod v mošt, nahajalo tudi največ flavonoidov. Postopek dodatka 6 % jagod v mošt se je glede na vsebnost fenolnih spojin med maceriranimi vini pokazal kot bolj primeren.

4.2.4 Vrednotenje zaznavnih aromatičnih spojin z uporabo aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV)

Na podlagi preglednic 16, 29, 30 in 31 smo v izračunali OAV za posamezne AS in jih sešteli glede na tip vonja. Rezultati za sorte zelen, rebula in malvazija so podani preglednicah 35, 36 in 37.

Za sorto zelen smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 2-metilpropanol, 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirac, etil heksanoat, izoamil acetat, 4-vinilgvajakol, linalool in citronelol.

Preglednica 35: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 35: Sums of odour activity values (OAV) for Zelen wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

opis vonja	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
sadjje	138 ± 2 ^a	134 ± 9 ^a	152 ± 6 ^b
cvetlice	7,7 ± 0,2 ^a	8,3 ± 0,2 ^b	9,0 ± 0,2 ^c
topilo, kemikalije	8,4 ± 0,1 ^a	9,4 ± 0,1 ^b	8,3 ± 0,0 ^a
zeleno	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
fenoli	2,0 ± 0,3 ^a	2,4 ± 0,1 ^{ab}	2,6 ± 0,2 ^b
maščobe	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
začimbe	2,0 ± 0,3 ^a	2,4 ± 0,1 ^{ab}	2,6 ± 0,2 ^b

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti zelen letnika 2009 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevek OAV za cvetlice in tudi najmanjšega za fenole in začimbe, ki pa je bil primerljiv s postopkom dodatka 6 % jagod v mošt;
- vina iz postopka dodatka 6 % jagod v mošt so vsebovala statistično značilno drugi največji seštevek OAV za cvetlice in največjega za topilo ali kemikalije;

- vina iz postopka dodatka 12 % jagod v mošt so vsebovala statistično značilno največji seštevek OAV za sadje, cvetlice, pa tudi največjega za fenole in začimbe, ki pa je bil primerljiv s postopkom dodatka 6 % jagod v mošt.

Za sorto rebula smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirrat, etil heksanoat, etil kaprilat, 2-feniletil acetat, izoamil acetat, 4-vinilgvajakol in citronelol.

Preglednica 36: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 36: Sums of odour activity values (OAV) for Ribolla Gialla wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

opis vonja	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
sadje	307 ± 34^a	333 ± 14^{ab}	358 ± 12^b
cvetlice	$6,4 \pm 0,2^b$	$5,6 \pm 0,3^a$	$5,5 \pm 0,3^a$
topilo, kemikalije	$8,5 \pm 0,3^a$	$8,4 \pm 0,1^a$	$8,4 \pm 0,2^a$
zeleno	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$
fenoli	$1,2 \pm 0,1^a$	$1,2 \pm 0,0^a$	$1,2 \pm 0,0^a$
maščobe	$1,6 \pm 0,2^a$	$1,5 \pm 0,1^a$	$1,6 \pm 0,0^a$
začimbe	$1,2 \pm 0,0^a$	$1,2 \pm 0,0^a$	$1,2 \pm 0,0^a$

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti rebula letnika 2009 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno največji seštevek za cvetlice in najmanjšega za sadje, ki pa je bil primerljiv s postopkom dodatka 6 % jagod;
- vina iz postopka dodatka 6 % jagod v mošt so vsebovala statistično značilno podoben seštevek OAV za sadje tako v postopku kontrole kot postopku dodatka 12 % jagod v mošt;
- vina iz postopka dodatka 12 % jagod v mošt so vsebovala statistično značilno največji seštevek OAV za sadje, primerljiv s postopkom dodatka 6 % jagod v mošt.

Za sorto malvazija smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirrat, etil heksanoat, etil kaprilat, izoamil acetat, 4-vinilgvajakol, linalool in citronelol.

Preglednica 37: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 37: Sums of odour activity values (OAV) for Malvasia Istriana wines vintage 2009 from berries addition in must treatments

opis vonja	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
sadje	181 ± 9^a	203 ± 6^a	211 ± 26^a
cvetlice	$6,7 \pm 0,3^a$	$7,0 \pm 0,6^a$	$8,1 \pm 0,2^b$
topilo, kemikalije	$7,7 \pm 0,2^a$	$7,4 \pm 0,3^a$	$7,5 \pm 0,1^a$
zeleno	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$
fenoli	$0,0 \pm 0,0^a$	$1,1 \pm 0,1^b$	$0,0 \pm 0,0^a$
maščobe	$1,1 \pm 0,2^a$	$1,1 \pm 0,0^a$	$1,1 \pm 0,1^a$
Začimbe	$0,0 \pm 0,0^a$	$1,1 \pm 0,1^b$	$0,0 \pm 0,0^a$

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti malvazija letnika 2009 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno manjši seštevek OAV za cvetlice v primerjavi s postopkom dodatka 6 % jagod v mošt;
- vina iz postopka dodatka 6 % jagod v mošt so vsebovala največji seštevek OAV za fenole in začimbe;
- vina iz postopka dodatka 12 % jagod v mošt so vsebovala statistično značilno večji seštevek OAV za cvetlice kot postopek kontrole. Navkljub večjim povprečnim vrednostim seštevka OAV za sadje v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt, se ti niso statistično razlikovali od postopka kontrole.

4.2.5 Senzorično ocenjevanje vina z rangiranjem

Preglednica 38: Rezultati senzoričnega ocenjevanja z rangiranjem v tri skupine za vina letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Table 38: Results of sensorial evaluations with three groups ranking for wines vintage 2009 from berries additions in must treatments

ZELEN senzorična parametra	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
vonj	2,3 ± 0,8 ^a	1,9 ± 0,9 ^a	1,8 ± 0,8 ^a
celokupni vtis	2,4 ± 0,8 ^b	1,6 ± 0,9 ^a	2,0 ± 0,6 ^{ab}
REBULA senzorična parametra	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
vonj	1,9 ± 0,9 ^a	2,1 ± 0,7 ^a	2,0 ± 0,9 ^a
celokupni vtis	2,3 ± 0,9 ^a	1,9 ± 0,7 ^a	1,8 ± 0,9 ^a
MALVAZIJA senzorična parametra	kontrola	dodatek 6 % jagod v mošt	dodatek 12 % jagod v mošt
vonj	2,3 ± 0,7 ^a	1,9 ± 0,9 ^a	1,8 ± 0,9 ^a
celokupni vtis	1,9 ± 0,8 ^a	1,8 ± 0,9 ^a	2,3 ± 0,8 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

1- najbolj všečno, 3- najmanj všečno.

Vina sort zelen, rebula in malvazija letnika 2009 so bila ocenjena 02.02.2010. Vina je ocenila razširjena komisija enajstih pokuševalcev. Ocenjevali so samo dva parametra, vonj in celokupni vtis vina. Ocena, ki jo je prejel postopek v okviru iste sorte, je podana v preglednici 38 kot povprečje devetih ocen. Manjša ocena je pomenila bolj všečno vino in obratno. Standardni odmik ocen maceriranih vin je v letniku 2009 manjši kot v letniku 2008, izjema so ocene kontrolnega postopka za sorto malvazija.

Za sorto zelen je bil vonj v postopku dodatka 12 % jagod v mošt ocenjen kot najboljši, vendar se ni statistično razlikoval od ostalih. Kot celokupni vtis je bil najbolje ocenjen postopek dodatka 6 % jagod v mošt, vendar se ni statistično značilno razlikoval od postopka dodatka 12 % jagod v mošt.

Za sorto rebula je bil vonj v postopku kontrole ocenjen kot najboljši, a se ni statistično značilno razlikoval od ostalih. Kot celokupni vtis je bil najbolje ocenjen postopek dodatka 12 % jagod v mošt, vendar se ni statistično razlikoval od ostalih.

Za sorto malvazija je bil vonj v postopku dodatka 12 % jagod v mošt ocenjen kot najboljši, a se ni statistično značilno razlikoval od ostalih postopkov. Kot celokupni vtis je bil najbolje ocenjen postopek dodatka 6 % jagod v mošt, vendar se ni statistično značilno razlikoval od ostalih.

4.3 VINIFIKACIJE 2009 – POSTOPKI ZAMRZOVANJA DROZGE IN GROZDJA

V letu 2009 smo izvedli tudi študijo vinifikacij treh sort zelena, rebule in malvazije, v katerih smo kontrolni postopek primerjali s postopkom zamrzovanja drozge in s postopkom zamrzovanja celega grozdja.

V nadaljevanju smo podali rezultate meritev osnovnih kemijskih parametrov, vsebnosti AS, vsebnosti fenolnih spojin in senzorično oceno za vina sort zelen, rebula in malvazija letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja. Rezultati so podani kot povprečne vrednosti \pm standardni odklik.

4.3.1 Osnovni kemijski parametri vina

Preglednica 39: Osnovni kemijski parametri vin letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 39: Basic chemical parameters of wines vintage 2009 from freezing of pomace and grapes treatments

ZELEN	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
osnovni kemijski parametri			
dejanski alkohol (vol.%)	11,1 \pm 0,1 ^b	10,9 \pm 0,1 ^a	11,0 \pm 0,1 ^{ab}
skupni suhi ekstrakt (g/L)	19,6 \pm 0,2 ^a	20,2 \pm 0,1 ^b	20,5 \pm 0,2 ^b
reducirajoči sladkorji (g/L)	1,4 \pm 0,1 ^a	1,4 \pm 0,1 ^a	2,2 \pm 0,1 ^b
pH (-)	3,02 \pm 0,01 ^a	3,35 \pm 0,03 ^c	3,27 \pm 0,01 ^b
skupne kisline (g vinske k./L)	7,3 \pm 0,1 ^c	6,1 \pm 0,1 ^b	5,9 \pm 0,1 ^a
hlapne kisline (g oetne k./L)	0,17 \pm 0,01 ^a	0,20 \pm 0,01 ^b	0,17 \pm 0,02 ^a
pepel (g/L)	1,61 \pm 0,03 ^a	2,21 \pm 0,03 ^c	2,10 \pm 0,02 ^b
metanol (mg/L)	27,1 \pm 0,7 ^b	24,6 \pm 0,2 ^a	34 \pm 2 ^c
REBULA	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
osnovni kemijski parametri			
dejanski alkohol (vol.%)	11,2 \pm 0,1 ^b	10,7 \pm 0,1 ^a	10,7 \pm 0,2 ^a
skupni suhi ekstrakt (g/L)	17,5 \pm 0,3 ^a	18,8 \pm 0,2 ^b	18,3 \pm 0,2 ^c
reducirajoči sladkorji (g/L)	1,4 \pm 0,1 ^b	1,4 \pm 0,1 ^b	1,2 \pm 0,1 ^a
pH (-)	3,29 \pm 0,02 ^a	3,40 \pm 0,02 ^b	3,42 \pm 0,04 ^b
skupne kisline (g vinske k./L)	5,5 \pm 0,1 ^b	5,4 \pm 0,1 ^b	4,9 \pm 0,1 ^a
hlapne kisline (g oetne k./L)	0,12 \pm 0,01 ^a	0,10 \pm 0,01 ^a	0,11 \pm 0,02 ^a
pepel (g/L)	1,45 \pm 0,04 ^a	1,81 \pm 0,05 ^c	1,75 \pm 0,03 ^b
metanol (mg/L)	34,0 \pm 0,8 ^b	15,6 \pm 0,8 ^a	36 \pm 2 ^b
MALVAZIJA	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
osnovni kemijski parametri			
dejanski alkohol (vol.%)	10,9 \pm 0,1 ^b	10,6 \pm 0,1 ^a	10,6 \pm 0,1 ^a
skupni suhi ekstrakt (g/L)	18,5 \pm 0,2 ^a	19,8 \pm 0,3 ^b	19,5 \pm 0,9 ^{ab}
reducirajoči sladkorji (g/L)	1,4 \pm 0,2 ^a	1,2 \pm 0,1 ^a	1,6 \pm 0,4 ^a
pH (-)	3,23 \pm 0,02 ^a	3,42 \pm 0,02 ^b	3,39 \pm 0,01 ^b
skupne kisline (g vinske k./L)	5,8 \pm 0,0 ^a	5,9 \pm 0,1 ^a	5,6 \pm 0,3 ^a
hlapne kisline (g oetne k./L)	0,11 \pm 0,01 ^a	0,12 \pm 0,02 ^a	0,13 \pm 0,02 ^a
pepel (g/L)	1,58 \pm 0,02 ^a	2,09 \pm 0,02 ^c	2,01 \pm 0,03 ^b
metanol (mg/L)	25,6 \pm 0,7 ^b	10 \pm 3 ^a	28 \pm 1 ^b

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Vino zelen 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 39)

V postopku zamrzovanja drozge smo določili statistično značilno manjšo vsebnost dejanskega alkohola v primerjavi s postopkom kontrole. V postopkih zamrzovanja drozge in grozdja smo določili tudi večji skupni suhi ekstrakt, manjšo vsebnost skupnih kislin,

višji pH in večjo vsebnost pepela. Največjo vsebnost metanola smo določili v postopku zamrzovanja grozdja (34 mg/L), a je bila precej manjša od največje dovoljene koncentracije 150 mg/L po veljavni slovenski zakonodaji (Pravilnik, 2004).

Vino rebula 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 39)

V postopkih zamrzovanja drozge in grozdja smo določili statistično značilno manjšo vsebnost dejanskega alkohola, večji skupni suhi ekstrakt, višji pH in večjo vsebnost pepela. Največ metanola smo določili v postopkih kontrole (34,0 mg/L) in zamrzovanja grozdja (35,4 mg/L), a vsebnost je bila precej manjša od največje dovoljene vsebnosti 150 mg/L po veljavni slovenski zakonodaji (Pravilnik, 2004).

Vino malvazija 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 39)

V postopku zamrzovanja drozge smo določili statistično značilno večji skupni suhi ekstrakt od postopka kontrole. V postopkih zamrzovanja drozge in grozdja smo določili statistično značilno manjšo vsebnost dejanskega alkohola, višji pH in večjo vsebnost pepela. Največjo vsebnost metanola smo določili v postopku zamrzovanja grozdja (27,7 mg/L), a je bila precej manjša od največje dovoljene koncentracije 150 mg/L po veljavni slovenski zakonodaji (Pravilnik, 2004). V maceriranih vinih iz postopka zamrzovanja drozge smo tudi pri sorti malvazija določili manjšo vsebnost metanola (10 mg/L) kot v postopku kontrole (26 mg/L).

4.3.2 Aromatične spojine

Preglednica 40: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih zelen letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 40: Aroma compounds content in Zelen wines vintage 2009 from freezing of pomace and grapes treatments

aromatične spojine	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
acetaldehid (mg/L)	-	-	-
etil acetat (mg/L)	38,8 ± 0,5 ^c	21,6 ± 0,3 ^a	23,8 ± 0,5 ^b
2-butanol (mg/L)	-	-	-
1-propanol (mg/L)	19,8 ± 0,1 ^b	15,7 ± 0,5 ^a	25 ± 2 ^c
2-metilpropanol (mg/L)	39 ± 2 ^b	40 ± 2 ^b	27,1 ± 0,8 ^a
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	48,5 ± 0,3 ^b	49 ± 2 ^b	43,4 ± 0,8 ^a
3-metilbutanol (mg/L)	194 ± 2	183 ± 3 ^a	182 ± 3 ^a
2-feniletanol (mg/L)	42 ± 2 ^a	41 ± 1 ^a	42,5 ± 0,2 ^a
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>343,3</i>	<i>328,7</i>	<i>320</i>
etil butirat (µg/L)	187 ± 5 ^c	126 ± 6 ^a	139 ± 3 ^b
etil heksanoat (µg/L)	415 ± 8 ^b	294 ± 17 ^a	432 ± 6 ^b
heksil acetat (µg/L)	69 ± 2 ^c	28 ± 1 ^a	47 ± 3 ^b
etil laktat (µg/L)	2370 ± 29 ^c	1217 ± 14 ^b	1257 ± 3 ^a
etil kaprilat (µg/L)	509 ± 32 ^b	415 ± 28 ^a	440 ± 16 ^a
etil kaprat (µg/L)	235 ± 5 ^b	199 ± 13 ^a	179 ± 15 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	100 ± 7 ^c	74 ± 2 ^a	87 ± 4 ^b
etil lavrat (µg/L)	20 ± 1 ^a	20 ± 1 ^a	21 ± 2 ^a
etil cinamat (µg/L)	-	-	-
etil palmitat (µg/L)	10 ± 2 ^a	9 ± 3 ^a	11 ± 1 ^a
izoamil acetat (µg/L)	1315 ± 16 ^c	779 ± 4 ^a	1138 ± 29 ^b
2-feniletil acetat (µg/L)	233 ± 2 ^c	131 ± 4 ^a	198 ± 3 ^b
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>5463</i>	<i>3292</i>	<i>3949</i>
1-heksanol (µg/L)	665 ± 10 ^a	743 ± 20 ^b	1929 ± 21 ^c
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	- ^a	- ^a	18 ± 0 ^b
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>665</i>	<i>743</i>	<i>1947</i>
4-vinilfenol (µg/L)	83 ± 5 ^{ab}	109 ± 24 ^b	66 ± 3 ^a
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	870 ± 140 ^a	891 ± 335 ^a	1066 ± 52 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>953</i>	<i>1000</i>	<i>1132</i>
linalool (µg/L)	33 ± 3 ^a	68 ± 4 ^b	69 ± 6 ^b
α-terpineol (µg/L)	65 ± 3 ^a	128 ± 6 ^b	169 ± 6 ^c
citronelol (µg/L)	23 ± 2 ^a	31 ± 1 ^b	31 ± 1 ^b
nerol (µg/L)	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>121</i>	<i>227</i>	<i>269</i>
benzil alkohol (µg/L)	12 ± 0 ^a	52 ± 3 ^b	58 ± 0 ^c
benzaldehyd (µg/L)	- ^a	2 ± 0 ^b	- ^a
β-ionon (µg/L)	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	1520 ± 18 ^b	1856 ± 18 ^c	1162 ± 39 ^a

a,b,c - statistično značilne razlike z LSD testom (p≤0,05).

Preglednica 41: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih rebula letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 41: Aroma compounds content in Ribolla Gialla wines vintage 2009 from freezing of pomace and grapes treatments

aromatične spojine	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
acetaldehid (mg/L)	-	-	-
etil acetat (mg/L)	39,4 ± 0,6 ^b	32 ± 1 ^a	54 ± 1 ^c
2-butanol (mg/L)	-	-	-
1-propanol (mg/L)	24,8 ± 0,7 ^a	27,5 ± 0,4 ^b	26,9 ± 0,5 ^b
2-metilpropanol (mg/L)	34 ± 2 ^b	35 ± 1 ^b	27 ± 1 ^a
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	45 ± 3 ^b	48 ± 1 ^b	37 ± 1 ^a
3-metilbutanol (mg/L)	176 ± 10 ^b	162 ± 5 ^b	127 ± 6 ^a
2-feniletanol (mg/L)	32 ± 3 ^b	29,3 ± 0,7 ^b	22,4 ± 0,4 ^a
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>311,8</i>	<i>301,8</i>	<i>240,3</i>
etil butirat (µg/L)	318 ± 37 ^b	265 ± 12 ^a	346 ± 18 ^b
etil heksanoat (µg/L)	721 ± 101 ^b	520 ± 10 ^a	739 ± 54 ^b
heksil acetat (µg/L)	210 ± 15 ^b	69 ± 3 ^a	544 ± 24 ^c
etil laktat (µg/L)	1184 ± 26 ^c	864 ± 33 ^b	722 ± 21 ^a
etil kaprilat (µg/L)	910 ± 109 ^b	756 ± 7 ^a	1003 ± 59 ^b
etil kaprat (µg/L)	319 ± 60 ^a	325 ± 7 ^a	379 ± 24 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	45 ± 3 ^b	57 ± 4 ^c	33 ± 2 ^a
etil lavrat (µg/L)	20 ± 1 ^a	26 ± 1 ^b	24 ± 4 ^b
etil cinamat (µg/L)	-	-	-
etil palmitat (µg/L)	15 ± 5 ^a	17 ± 1 ^b	12 ± 1 ^a
izoamil acetat (µg/L)	4371 ± 364 ^b	2771 ± 75 ^a	5264 ± 291 ^c
2-feniletil acetat (µg/L)	534 ± 37 ^b	317 ± 4 ^a	575 ± 49 ^b
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>8647</i>	<i>5987</i>	<i>9641</i>
1-heksanol (µg/L)	617 ± 8 ^b	303 ± 10 ^a	911 ± 28 ^c
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>617</i>	<i>303</i>	<i>911</i>
4-vinilfenol (µg/L)	466 ± 2 ^b	577 ± 11 ^c	317 ± 10 ^a
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	534 ± 6 ^a	640 ± 6 ^b	559 ± 25 ^a
<i>Seštevek (µg/L)</i>	<i>1000</i>	<i>1217</i>	<i>876</i>
linalool (µg/L)	7 ± 2 ^a	7 ± 1 ^a	7 ± 1 ^a
α-terpineol (µg/L)	-	-	-
citronelol (µg/L)	19 ± 4 ^a	27 ± 6 ^a	18 ± 4 ^a
nerol (µg/L)	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>26</i>	<i>34</i>	<i>25</i>
benzil alkohol (µg/L)	7 ± 1 ^a	13 ± 1 ^c	11 ± 1 ^b
benzaldehyd (µg/L)	2 ± 0 ^a	3 ± 0 ^b	2 ± 0 ^a
β-ionon (µg/L)	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	1250 ± 35 ^a	1832 ± 23 ^c	1059 ± 43 ^b

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 42: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih malvazija letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 42: Aroma compounds content in Malvasia Istriana wines vintage 2009 from freezing of pomace and grapes treatments

aromatične spojine	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
acetaldehid (mg/L)	-	-	-
etil acetat (mg/L)	26,9 ± 0,7 ^b	18 ± 1 ^a	27 ± 4 ^b
2-butanol (mg/L)	-	-	-
1-propanol (mg/L)	18 ± 2 ^b	13,2 ± 0,8 ^a	19 ± 2 ^b
2-metilpropanol (mg/L)	26 ± 1 ^b	28,0 ± 0,7 ^b	14 ± 3 ^a
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	46,0 ± 0,7 ^a	55,6 ± 0,6 ^b	45 ± 2 ^a
3-metilbutanol (mg/L)	178 ± 6 ^b	201 ± 3 ^c	155 ± 3 ^a
2-feniletanol (mg/L)	37 ± 1 ^b	36,6 ± 0,8 ^b	32 ± 1 ^a
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>305</i>	<i>334,4</i>	<i>265,5</i>
etil butirat (µg/L)	214 ± 7 ^b	140 ± 3 ^a	209 ± 14 ^b
etil heksanoat (µg/L)	532 ± 23 ^b	352 ± 15 ^a	643 ± 58 ^c
heksil acetat (µg/L)	206 ± 7 ^b	54 ± 11 ^a	291 ± 15 ^c
etil laktat (µg/L)	1466 ± 71 ^b	1182 ± 152 ^a	1084 ± 42 ^a
etil kaprilat (µg/L)	623 ± 14 ^b	482 ± 26 ^a	691 ± 96 ^b
etil kaprat (µg/L)	239 ± 7 ^b	183 ± 11 ^a	309 ± 35 ^c
dietil sukcinat (µg/L)	82 ± 1 ^{ab}	87 ± 3 ^b	76 ± 5 ^a
etil lavrat (µg/L)	22 ± 2 ^b	18 ± 0 ^a	26 ± 3 ^b
etil cinamat (µg/L)	-	-	-
etil palmitat (µg/L)	11 ± 1 ^a	14 ± 1 ^b	15 ± 2 ^b
izoamil acetat (µg/L)	1825 ± 110 ^b	1070 ± 15 ^a	1952 ± 161 ^b
2-feniletil acetat (µg/L)	190 ± 9 ^b	116 ± 1 ^a	195 ± 16 ^b
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>5410</i>	<i>3698</i>	<i>5491</i>
1-heksanol (µg/L)	1212 ± 30 ^b	689 ± 35 ^a	1446 ± 21 ^c
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	32 ± 1 ^b	26 ± 2 ^a	93 ± 2 ^c
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1244</i>	<i>715</i>	<i>1539</i>
4-vinilfenol (µg/L)	67 ± 1 ^a	132 ± 5 ^c	78 ± 0 ^b
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	379 ± 11 ^b	296 ± 29 ^a	518 ± 4 ^c
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>446</i>	<i>428</i>	<i>596</i>
linalool (µg/L)	24 ± 3 ^a	37 ± 3 ^b	41 ± 3 ^b
α-terpineol (µg/L)	- ^a	78 ± 13 ^b	87 ± 6 ^b
citronelol (µg/L)	25 ± 4 ^a	29 ± 7 ^a	28 ± 6 ^a
nerol (µg/L)	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>49</i>	<i>144</i>	<i>156</i>
benzil alkohol (µg/L)	5 ± 1 ^a	14 ± 1 ^b	14 ± 1 ^b
benzaldehyd (µg/L)	-	-	-
β-ionon (µg/L)	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	1396 ± 57 ^a	2094 ± 77 ^b	1372 ± 88 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 43: Razmerja hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola v vinih letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 43: Ratios between volatile phenols 4-vinyl guaiacol and 4-vinyl phenol in wines vintage 2009 from freezing of pomace and grapes treatments

ZELLEN	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	10,5	8,2	16,2
REBULA	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	1,2	1,1	1,7
MALVAZIJA	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	5,7	2,2	6,6

4.3.2.1 C₆ alkoholi in aldehidi

Vino zelen 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 40):

Pri sorti zelen smo v pričujoči študiji letnika 2009 določili bistveno manjše seštevke vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov kot v letniku 2008, z izjemo postopka zamrzovanja grozdja. Pri slednjem je seštevka C₆ alkoholov in aldehydov dosegel skoraj 2 mg/L. V tem postopku nismo odstranili pecljevine in iz med stiskanjem prisotnih zelenih delov grozda se je lahko ekstrahiralo več nenasičenih maščobnih kislin, torej prekurzorjev C₆ alkoholov in aldehydov (Rapp in sod., 1976; Crouzet, 1986; Roufet in sod., 1986). Največji delež je pripadal 1-heksanolu. Za vsebnost 1-heksanola smo določili statistično značilne razlike med postopki. Najmanjšo koncentracijo smo določili v postopku kontrole (665 µg/L), največjo pa v postopku zamrzovanja grozdja (1929 µg/L), kjer je tudi presešla senzorični prag zaznave 1300 µg/L (Moyano in sod., 2002). Od ostalih C₆ alkoholov in aldehydov smo določili samo še *cis*-3-heksen-1-ol v postopku zamrzovanja grozdja (18 µg/L), vendar je bila njegova vsebnost občutno manjša od praga senzorične zaznave 400 µg/L (Guth, 1997). Tudi v tem poskusu nismo potrdili prisotnosti *trans*-2-heksen-1-ola. Vpliv C₆ alkoholov in aldehydov na vonj vina sorte zelen smo potrdili za postopek zamrzovanja grozdja.

Vino rebula 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 41)

Pri sorti rebula smo v obravnavanih vinifikacijah določili seštevke vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov skladne s podatki iz literature (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Največji delež je pripadal 1-heksanolu. Za vsebnost 1-heksanola smo določili statistično značilne razlike med postopki. Največjo vsebnost smo kot pri sorti zelen določili v postopku zamrzovanja grozdja (911 µg/L), najmanjšo pa v postopku zamrzovanja drozge (303 µg/L). Prag senzorične zaznave za to spojino ni bil presežen v nobenem postopku. Pri sorti rebula nismo potrdili prisotnosti *cis*-3-heksen-1-ola in *trans*-2-heksen-1-ola v nobenem postopku. Vpliv C₆ alkoholov in aldehydov na vonj vina sorte rebula v tem poskusu ni bil potrjen.

Vino malvazija 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 42)

Pri sorti malvazija je seštevka vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov presegal 1 mg/L v postopkih kontrole in zamrzovanja grozdja. Na splošno je skupna vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov presegala povprečno določene v literaturi (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007, Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Največji delež je zopet pripadal 1-heksanolu. Njegova vsebnost se je statistično značilno razlikovala med

postopki. Največjo vsebnost smo kot predhodno pri zelenu in rebuli določili v postopku zamrzovanja grozdja (1446 µg/L). V tem postopku nismo odstranili pecljevine in iz med stiskanjem prisotnih zelenih delov grozda se je lahko ekstrahiralo več nenasičenih maščobnih kislin, torej prekurzorjev C₆ alkoholov in aldehydov (Rapp in sod., 1976; Crouzet, 1986; Roufet in sod., 1986). Od ostalih C₆ alkoholov in aldehydov smo določili samo še *cis*-3-heksen-1-ol. Njegova vsebnost se je statistično značilno razlikovala med postopki. Največjo vsebnost smo kot za 1-heksanol določili v postopku zamrzovanja grozdja (93 µg/L), najmanjšo pa v postopku zamrzovanja drozge (26 µg/L). Vsebnost *cis*-3-heksen-1-ol je bila občutno manjša od praga senzorične zaznave. Tudi v tem poskusu nismo potrdili prisotnosti *trans*-2-heksen-1-ola. Vpliv C₆ alkoholov in aldehydov na vonj vina sorte malvazija v tem poskusu je bil potrjen za postopek zamrzovanja grozdja.

4.3.2.2 Hlapni fenoli

Vino zelen 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednici 40 in 43)
Pri sorti zelen smo največji seštevek hlapnih fenolov določili pri postopku zamrzovanja grozdja. Kvantitativno smo določili največ 4-vinilgvajakola (870-1066 µg/L). Koncentracije 4-vinilgvajakola so vsaj osemkrat presegle koncentracijo 4-vinilfenola. Tako ni bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov, torej podobna koncentracija 4-vinilfenola in 4-vinilgvajakola (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). 4-vinilgvajakol je v vseh postopkih presegal senzorični prag zaznave 440 µg/L in je lahko s svojim vonjem po popru ali nageljnovih žbicah vplival na vonj vina (Williams in sod., 1980; Rocha in sod., 2005). Vsebnost 4-vinilgvajakola se statistično značilno ni razlikovala med postopki. Vsebnost 4-vinilfenola je bila statistično značilno največja v postopku zamrzovanja drozge (109 µg/L), a občutno manjša od praga senzorične zaznave 725 µg/L (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). Negativni vpliv hlapnih fenolov pri sorti zelen v tem poskusu ni bil potrjen.

Vino rebula 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednici 41 in 43)
Pri sorti rebula smo določili največji seštevek hlapnih fenolov v postopku zamrzovanja drozge. Koncentracije 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola so bile zelo podobne tako v postopku kontrole (534 µg/L in 466 µg/L) kot v postopku zamrzovanja drozge (640 µg/L in 577 µg/L). Tako je bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov. Vsebnost 4-vinilgvajakola je bila statistično značilno večja le v postopku zamrzovanja drozge (640 µg/L). Vsebnost 4-vinilgvajakola je v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave. 4-vinilfenola smo določili povprečno vsaj štirikrat več (317-577 µg/L) kot primerjalno pri sorti zelen. Statistično značilno največ smo ga določili v postopku zamrzovanja drozge (577 µg/L), vendar ni dosegal senzoričnega praga zaznave. Negativni vpliv hlapnih fenolov pri sorti rebula v tem poskusu ni bil potrjen.

Vino malvazija 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednici 42 in 43)
Sorta malvazija je v letniku 2009 primerjalno vsebovala manj hlapnih fenolov kot zelen in rebula. Največji seštevek hlapnih fenolov smo določili pri postopku zamrzovanja grozdja. Koncentracije 4-vinilgvajakola so vsaj dvakrat presegle koncentracijo 4-vinilfenola. Tako ni bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov. Koncentracija 4-vinilgvajakola se je statistično razlikovala med postopki. Največjo vsebnost smo določili v postopku zamrzovanja grozdja (518 µg/L), najmanjšo pa v postopku zamrzovanja drozge (296 µg/L). Prag senzorične zaznave je 4-vinilgvajakol presegel le v postopku zamrzovanja

grozdja. Določili smo primerljive koncentracije 4-vinilfenola (67-132 µg/L) kot pri sorti zelen in manjše kot pri sorti rebula. Statistično značilno največ smo ga določili v postopkih zamrzovanja drozge (132 µg/L), vendar občutno manj od senzoričnega praga zaznave. Negativni vpliv hlapnih fenolov pri sorti malvazija v tem poskusu ni bil potrjen.

4.3.2.3 Višji alkoholi

Vino zelen 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 40)

Pri sorti zelen smo največji seštevki višjih alkoholov določili v postopku kontrole (343 mg/L). V vseh postopkih so seštevki presegali prag 300 mg/L, pri kateri lahko višji alkoholi celo negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru seštevki višjih alkoholov niso presegali praga v nobenem postopku. Za sorto zelen smo v tem poskusu določili manjšo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih iz postopka zamrzovanja drozge (329 mg/L) in zamrzovanja grozdja (320 mg/L), kar je v nasprotju z večino prej opravljenih raziskav (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Le Sanchez Palomo in sod. (2007) so prikazali podoben rezultat. Statistično značilno največ 2-metilbutanola in 2-metilpropanola smo določili v postopkih kontrole (49 mg/L in 39 mg/L) in zamrzovanja drozge (49 mg/L in 40 mg/L). Med višjimi alkoholi smo kvantitativno največ določili 3-metilbutanola (182-194 mg/L), ki je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave 30 mg/L (Moreno in sod., 2005). Koncentracije 1-propanola in 2-metilpropanola niso dosegle pragov senzoričnih zaznav 314 mg/L (Moyano in sod., 2002) in 40 mg/L (Moreno in sod., 2005). Vsebnost 2-feniletanola (41-43 mg/L) se med postopki ni statistično značilno razlikovala. V vseh postopkih je presegal prag senzorične zaznave 10 mg/L (Moyano in sod., 2002). V tem poskusu smo za sorto zelen določil statistično značilno večje vsebnosti benzil alkohola v maceriranih vinih v primerjavi s kontrolnim postopkom (12 µg/L). Največja vsebnost je bila določena v postopku zamrzovanja grozdja (58 µg/L).

Vino rebula 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 41)

Pri sorti rebula smo največji seštevki višjih alkoholov določili v postopku kontrole (312 mg/L). V postopkih kontrole in zamrzovanja drozge so seštevki presegali prag 300 mg/L, pri kateri lahko višji alkoholi celo negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru seštevki višjih alkoholov niso presegali praga v nobenem postopku. Za sorto rebula smo v tem poskusu določili manjšo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih, predvsem v postopku zamrzovanja grozdja (240 mg/L). Statistično značilno več 3-metilbutanola, 2-metilbutanola in 2-metilpropanola smo določili v postopku kontrole (176 mg/L, 45 mg/L in 34 mg/L) in postopku zamrzovanja drozge (162 mg/L, 48 mg/L in 35 mg/L). Statistično značilno manj 1-propanola smo določili v postopku kontrole (25 mg/L). Med višjimi alkoholi smo kvantitativno največ določili 3-metilbutanola (127-176 mg/L). 3-metilbutanol je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave, 2-metilpropanol in 1-propanol pa v nobenem. Statistično značilno več 2-feniletanola smo določili v postopku kontrole (32 mg/L) in postopku zamrzovanja drozge (29 mg/L). V vseh postopkih je presegal prag senzorične zaznave. V tem poskusu smo tudi za sorto rebula določili statistično značilno večje vsebnosti benzil alkohola v maceriranih vinih zamrzovanja drozge (13 µg/L) in zamrzovanja grozdja (11 µg/L) v

primerjavi s kontrolnim (7 µg/L). Določene vsebnosti benzil alkohola so bile manjše kot pri sorti zelen.

Vino malvazija 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 42)
Pri sorti malvazija smo največji seštevek višjih alkoholov določili v postopku zamrzovanja drozge (334 mg/L). V postopkih kontrole in zamrzovanja drozge je seštevek presegal prag 300 mg/L, pri kateri lahko višji alkoholi celo negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru seštevki višjih alkoholov niso presegali praga v nobenem postopku. Za sorto malvazija v tem poskusu smo določili najmanjšo vsebnost višjih alkoholov v postopku zamrzovanja grozdja (265 mg/L). Statistično značilno največ 3-metilbutanola (201 mg/L) in 2-metilbutanola (56 mg/L) smo določili v postopku zamrzovanja drozge. Najmanj 2-metilpropanola smo določili v postopku zamrzovanja grozdja (14 mg/L), 1-propanola pa v postopku zamrzovanja drozge (13 mg/L). Med višjimi alkoholi smo kvantitativno največ določili 3-metilbutanola (155-201 mg/L), ki je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave. Vsebnosti 2-metilpropanola in 1-propanola niso dosegale posameznih pragov senzoričnih zaznav. Statistično značilno manj 2-feniletanola smo določili v postopku zamrzovanja grozdja (32 mg/L). V vseh postopkih je presegal prag senzorične zaznave. V tem poskusu smo tudi za sorto malvazija določili statistično značilno večje vsebnosti benzil alkohola v maceriranih vinih iz postopkov zamrzovanja drozge (14 µg/L) in zamrzovanja grozdja (14 µg/L) v primerjavi s kontrolnim (5 µg/L). Določene vsebnosti benzil alkohola so bile tudi pri malvaziji manjše kot pri sorti zelen.

4.3.2.4 Estri

Vino zelen 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 40)
V sorti zelen smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku kontrole (39 mg/L). Etil acetat je pri vseh postopkih presegal prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti zelen smo določil najmanjši seštevek estrov brez etil acetata pri postopku zamrzovanja drozge (3292 µg/L). Kvantitativno smo od preostalih estrov določili največ etil laktata (1217-2370 µg/L). Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina, smo ga odšteli od ostalih estrov. Tako dobljeni seštevek je bil največji za postopek kontrole, najmanjši pa za postopek zamrzovanja drozge. Tako lahko za sorto zelen potrdimo manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih iz postopkov zamrzovanja drozge in zamrzovanja grozdja, skladno z nekaterimi raziskavami (Peinado in sod., 2004a; Sanchez Palomo in sod., 2006). Druge raziskave takšnega vpliva niso potrdile (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Od tako imenovanih sadnih estrov so vina iz postopka kontrole vsebovala statistično značilno več heksil acetata (69 µg/L), etil kaprata (235 µg/L), etil kaprilata (509 µg/L), izoamil acetata (1315 µg/L) in 2-feniletil acetata (233 µg/L). Največ etil heksanoata so vsebovala vina iz postopkov kontrole (415 µg/L) in zamrzovanja grozdja (432 µg/L). Etil heksanoat in izoamil acetat sta v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave 5 µg/L in 30 µg/L. Heksil acetat, etil kaprilat, etil kaprat in 2-feniletil acetat pa pragov senzorične zaznave 670 µg/L, 580 µg/L, 510 µg/L in 250 µg/L niso dosegali v nobenem postopku (Moyano in sod., 2002; Peinado

in sod., 2004a; Moreno in sod., 2005; Rocha in sod., 2005; Moyano in sod., 2009). Statistično značilno največja koncentracija etil butirata je bila določena v postopku kontrole (187 µg/L) in je v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave 20 µg/L (Moyano in sod., 2009). Koncentracije ostalih estrov z daljšimi verigami, kot sta etil lavrat in dietil sukcinat, so bile občutno manjše. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Skladno z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Etil cinamat ni bil določen v nobenem postopku. Splošno so nezaželene večje koncentracije višjih alkoholov ob istočasno manjši vsebnosti estrov v vinih, ker imajo dokazano negativen senzorični vpliv (Ferreira in sod., 1995; Lukić in sod., 2008). Glede na razmerje seštevka estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov, teoretično ne moremo potrditi negativnega vpliva postopkov zamrzovanja drozge in grozdja pri sorti zelen. Vina v omenjenih postopkih sicer res vsebujejo manj estrov, a tudi manj višjih alkoholov.

Vino rebula 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 41)

V sorti rebula smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku zamrzovanja grozdja (54 mg/L). Etil acetat je pri vseh postopkih presegel prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti rebula smo določili najmanjši seštevka estrov brez etil acetata pri postopku zamrzovanja drozge (5987 µg/L). Kvantitativno smo od preostalih estrov določili največ izoamil acetata (2771-5264 µg/L) in etil laktata (722-1184 µg/L). Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina, smo ga odšteli od ostalih estrov. Tako dobljeni seštevka je bil največji za postopek zamrzovanja grozdja, najmanjši pa za postopek zamrzovanja drozge. Tako lahko za sorto rebula potrdimo občutno večjo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih iz postopka zamrzovanja grozdja in manjšo v vinih iz postopka zamrzovanja drozge. Od tako imenovanih sadnih estrov so vina iz postopka zamrzovanja grozdja vsebovala statistično značilno največ heksil acetata (544 µg/L) in izoamil acetata (5264 µg/L). Posebno vsebnosti izoamil acetata so bile izrazito večje kot v letniku 2008, kar je značilno za tako imenovana mlada vina. Vina v postopku zamrzovanja drozge pa so vsebovala statistično značilno najmanj etil heksanoata (520 µg/L), etil kaprilata (756 µg/L) in 2-feniletil acetata (317 µg/L). Etil heksanoat, etil kaprilat, 2-feniletil acetat in izoamil acetat so v vseh postopkih presegali senzorični prag zaznave, etil kaprat in heksil acetat pa v nobenem. Statistično značilno največja koncentracija etil butirata je bila določena v postopku kontrole (318 µg/L) in postopku zamrzovanja grozdja (346 µg/L). Njegova vsebnost je v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave. Koncentracije ostalih estrov z daljšimi verigami, kot sta etil lavrat in dietil sukcinat, so bile občutno manjše. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Skladno z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Etil cinamat kot pokazatelj karbonske maceracije ni bil določen v nobenem postopku. Glede na razmerje seštevka estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov, teoretično lahko potrdimo pozitiven vpliv predvsem postopka zamrzovanja grozdja pri sorti rebula, zaradi manjše vsebnosti višjih alkoholov in večje vsebnosti estrov primerjalno s kontrolnim postopkom.

Vino malvazija 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 42)

V sorti malvazija smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku kontrole (27 mg/L) in postopku zamrzovanja grozdja (27 mg/L). Etil acetat je pri vseh postopkih

presegel prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni preseгла 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti malvazija smo določili najmanjši seštevek estrov brez etil acetata pri postopku zamrzovanja drozge (3698 µg/L). Kvantitativno smo od preostalih estrov določili največ izoamil acetata (1070-1952 µg/L) in etil laktata (1084-1466 µg/L). Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina, smo ga odšteli od ostalih estrov. Tako dobljeni seštevek je bil največji za postopek zamrzovanja grozdja, najmanjši pa za postopek zamrzovanja drozge. Tako lahko za sorto malvazija potrdimo občutno večjo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih iz postopka zamrzovanja grozdja in manjšo v vinih iz postopka zamrzovanja drozge. Od tako imenovanih sadnih estrov so vina iz postopka zamrzovanja grozdja vsebovala statistično značilno največ etil heksanoata (643 µg/L), heksil acetata (291 µg/L) in etil kaprata (309 µg/L). Vina v postopku zamrzovanja drozge pa so vsebovala statistično značilno najmanj etil heksanoata (352 µg/L), heksil acetata (54 µg/L), etil kaprilata (482 µg/L), izoamil acetata (1070 µg/L) in 2-feniletal acetata (116 µg/L). Vsebnosti izoamil acetata so bile sicer večje kot v letniku 2008 pri isti sorti, vendar ne tako izrazito kot pri rebuli. Etil heksanoat in izoamil acetat sta v vseh postopkih preseğala senzorični prag zaznave, etil kaprilat pa le v postopku kontrole. Vsebnosti etil kaprata in heksil acetata niso dosegale pragov senzorične zaznave v tem poskusu. Statistično značilno najmanjša koncentracija etil butirata je bila določena v postopku zamrzovanja drozge (140 µg/L) in je v vseh postopkih preseğala senzorični prag zaznave. Koncentracije ostalih estrov z daljšimi verigami, kot sta etil lavrat in dietil sukcinat, so bile občutno manjše. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Skladno z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Etil cinamat ni bil določen v nobenem postopku. Glede na razmerje seštevkov estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov, teoretično lahko potrdimo pozitiven vpliv postopka zamrzovanja grozdja pri sorti malvazija, zaradi manjše vsebnosti višjih alkoholov in večje vsebnosti estrov v primerjavi s kontrolnim postopkom.

4.3.2.5 Aldehidi, ketoni, laktoni

Vino zelen 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 40)

Pri sorti zelen acetaldehida nismo določili zaradi večjega dodatka žveplovega dioksida kot v 2008 in verjetno tudi zato, ker so bile določitve izvedene prej kot v letniku 2008. Vsebnosti benzaldehida v sorti zelen so bile minimalne in manjše kot v letniku 2008, a še vedno v skladu z rezultati drugih raziskovalcev (Cabarroglu in sod., 1997; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007). Pozitivnega vpliva postopkov maceracije na vsebnost benzaldehida v letniku 2009 ne moremo potrditi. Statistično značilno največ γ -butirolaktona smo določili v postopku zamrzovanja drozge (1856 µg/L). Ta ugotovitev je sicer v nasprotju s podatkom iz literature, kjer so v maceriranih vinih dobili manj γ -butirolaktona (Selli in sod., 2006). Po sklepanju Rocha in sod. (2005), lahko že koncentracije nad 4-5 mg/L γ -butirolaktona vplivajo na vonj vina. Pri sorti zelen smo v vseh postopkih določili manjše koncentracije.

Vino rebula 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 41)

Pri sorti rebula acetaldehida nismo določili zaradi večjega dodatka žveplovega dioksida in tudi zato, ker so bile določitve izvedene prej kot v letniku 2008. Vsebnosti benzaldehida, ki smo ga določil v sorti rebula, so bile minimalne (2-3 µg/L), a še vedno v skladu z rezultati drugih raziskovalcev (Cabarroglu in sod., 1997; Sanchez Palomo in sod., 2006, 2007).

Pozitivnega vpliva postopkov maceracije na vsebnost benzaldehida v letniku 2009 ne moremo potrditi. Statistično značilno največ γ -butirolaktona smo določili v postopku zamrzovanja drozge (1832 $\mu\text{g/L}$). Vsebnost γ -butirolaktona je bila vsaj trikrat manjša kot pri rebuli letnika 2008. Vsebnost γ -butirolaktona je bila manjša od senzorične praga zaznave tudi po sklepanju Rocha in sod. (2005).

Vino malvazija 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 42)
Pri sorti malvazija acetaldehida nismo določili zaradi večjega dodatka žveplovega dioksida in tudi zato, ker so bile določitve izvedene prej kot v letniku 2008. Benzaldehida v tem poskusu pri sorti malvazija nismo določili. Statistično značilno največ γ -butirolaktona smo določili v postopku zamrzovanja drozge (2094 $\mu\text{g/L}$). Vsebnost γ -butirolaktona je bila manjša od senzorične praga zaznave tudi po sklepanju Rocha in sod. (2005).

4.3.2.6 Terpeni in C_{13} norizoprenoidi

Vino zelen 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 40)
V sorti zelen smo določili tri proste monoterpenske alkohole: linalool, α -terpineol in citronelol. V letu 2009 smo pri sorti zelen v postopkih kontrole in zamrzovanja določili skupno manjše vsebnosti terpenov kot v letniku 2008. Za vse terpene lahko potrdimo pozitiven vpliv maceracije v primerjavi s postopkom kontrole. Kot najuspešnejša tehnologija, glede na seštevek terpenov in vsebnost posameznih terpenov, se je pokazal postopek zamrzovanja grozdja. Vsebnosti linaloola so se statistično značilno razlikovale med postopki kontrole (33 $\mu\text{g/L}$) in postopki zamrzovanja drozge (68 $\mu\text{g/L}$) in grozdja (69 $\mu\text{g/L}$). V vseh postopkih je presegel prag senzorične zaznave 15 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Kvantitativno največ smo določili α -terpineola (65-169 $\mu\text{g/L}$), statistično značilno največ v postopku zamrzovanja grozdja (169 $\mu\text{g/L}$), vendar tudi v slednjem ni dosegel praga senzorične zaznave 250 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Vsebnost citronelola je bila statistično večja v postopkih maceracije zamrzovanja drozge (31 $\mu\text{g/L}$) in grozdja (31 $\mu\text{g/L}$). V vseh postopkih je citronelol presegel prag senzorične zaznave 18 $\mu\text{g/L}$ (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). β -ionona, kot edinega predstavnika C_{13} norizoprenoidov, nismo določili v nobenem postopku.

Vino rebula 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 41)
V sorti rebula smo določili samo dva prosta monoterpenska alkohola, linalool in citronelol. V letu 2009 smo pri sorti rebula v postopkih kontrole in zamrzovanja določili skupno manjše vsebnosti terpenov kot v letniku 2008. Za vsebnosti terpenov, glede na posamezne postopke, ne moremo potrditi pozitivnega vpliva maceracije. Kvantitativno največ smo določili citronelola (19-27 $\mu\text{g/L}$). Vsebnosti linaloola in citronelola se med postopki statistično značilno niso razlikovale. Citronelol je v vseh postopkih dosegel prag senzorične zaznave, linalool pa v nobenem. Sorta rebula je tudi v pričujočem poskusu letnika 2009 vsebovala manj terpenov kot zelen. Tako lahko potrdimo manjšo vsebnost terpenov pri tej sorti. β -ionona nismo določili v nobenem postopku.

Vino malvazija 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednica 42)
V sorti malvazija smo določil tri proste monoterpenske alkohole; linalool, α -terpineol in citronelol. V letu 2009 smo pri sorti malvazija v postopkih kontrole in zamrzovanja določili skupno manjše vsebnosti terpenov kot v letniku 2008. Za vse terpene lahko potrdimo pozitiven vpliv maceracije za postopka zamrzovanja drozge in grozdja. Kot

najuspešnejša tehnologija, glede na seštevke terpenov in vsebnost posameznih terpenov, se je pokazal postopek zamrzovanja grozdja, vendar je bila razlika s postopkom zamrzovanja drozge minimalna. Kvantitativno največ smo določili α -terpineola (78-87 $\mu\text{g/L}$), a le v postopkih maceracije. Vsebnosti linaloola (24-41 $\mu\text{g/L}$) in α -terpineola (0-87 $\mu\text{g/L}$) so se statistično značilno razlikovale med postopkom kontrole in postopki maceracije, v slednjih jih je bilo več. Vsebnost citronelola (25-29 $\mu\text{g/L}$) se med postopki statistično značilno ni razlikovala. Linalool in citronelol sta v vseh postopkih presegala prag senzorične zaznave, α -terpineol pa v nobenem. Sorta malvazija letnika 2009 je vsebovala več terpenov kot rebula, vendar manj kot zelen. β -ionona nismo določili v nobenem postopku.

4.3.3 Fenolne spojine

Preglednica 44: Vsebnost hidroksicimetnih kislin in skupnih fenolov v vinih letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 44: Hydroxycinnamic acids and total phenolics content in wines vintage 2009 from freezing of pomace and grapes treatments

ZELEN	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
fenolne spojine			
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	2,2 ± 0,3 ^a	3,7 ± 0,6 ^b	3,1 ± 0,3 ^b
kaftarna kislina (mg/L)	109 ± 5 ^a	125 ± 7 ^b	108 ± 3 ^a
GRP (mg/L)	12,3 ± 0,6 ^a	18 ± 5 ^b	8,5 ± 0,4 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	1,7 ± 0,1 ^a	4,8 ± 0,5 ^b	5,0 ± 0,2 ^b
kutarna kislina (mg/L)	4,8 ± 0,1 ^a	9,5 ± 1,1 ^c	8,13 ± 0,1 ^b
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,3 ± 0,1 ^a	0,4 ± 0,1 ^b	0,5 ± 0,1 ^b
fertarna kislina (mg/L)	3,4 ± 0,1 ^a	3,1 ± 0,3 ^a	3,0 ± 0,1 ^a
kavna kislina (mg/L)	1,5 ± 0,1 ^a	1,2 ± 0,2 ^a	1,7 ± 0,0 ^b
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,4 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,2 ^b
ferulna kislina (mg/L)	1,7 ± 0,3 ^a	2,12 ± 0,3 ^a	4,05 ± 0,0 ^b
HCK skupaj (mg/L)	137 ± 6 ^a	167 ± 14 ^b	142 ± 4 ^a
skupni fenoli (mg/L)	141 ± 7 ^a	169 ± 14 ^b	156 ± 12 ^{ab}
REBULA	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
fenolne spojine			
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,0 ^a	0,9 ± 0,5 ^b	0,2 ± 0,1 ^a
kaftarna kislina (mg/L)	11 ± 1 ^b	13 ± 1 ^c	4,0 ± 0,2 ^a
GRP (mg/L)	21 ± 1 ^a	31 ± 3 ^b	19,4 ± 0,3 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	3,4 ± 0,2 ^a	5,6 ± 0,5 ^b	3,6 ± 0,1 ^a
kutarna kislina (mg/L)	1,9 ± 0,3 ^b	4,7 ± 0,5 ^c	1,0 ± 0,2 ^a
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,2 ^a	0,2 ± 0,1 ^a
fertarna kislina (mg/L)	2,5 ± 0,2 ^b	2,0 ± 0,3 ^a	2,2 ± 0,2 ^{ab}
kavna kislina (mg/L)	0,8 ± 0,0 ^c	0,5 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^b
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,1 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,1 ^b	0,4 ± 0,0 ^b
ferulna kislina (mg/L)	0,5 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,1 ^a	0,72 ± 0,2 ^b
HCK skupaj (mg/L)	42 ± 3 ^b	59 ± 5 ^c	32,4 ± 0,6 ^a
skupni fenoli (mg/L)	70 ± 3 ^a	99 ± 1 ^c	88 ± 1 ^b
MALVAZIJA	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
fenolne spojine			
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	0,9 ± 0,3 ^a	0,9 ± 0,0 ^a	0,9 ± 0,2 ^a
kaftarna kislina (mg/L)	32 ± 4 ^b	17,5 ± 0,4 ^a	19 ± 3 ^a
GRP (mg/L)	12 ± 2 ^a	14 ± 1 ^{ab}	15,6 ± 0,9 ^b
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	1,5 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,1 ^{ab}	1,9 ± 0,1 ^b
kutarna kislina (mg/L)	1,7 ± 0,4 ^a	1,2 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,2 ^a
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,1 ^a	0,2 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,1 ^a
fertarna kislina (mg/L)	2,9 ± 0,5 ^a	2,5 ± 0,3 ^a	2,6 ± 0,2 ^a
kavna kislina (mg/L)	1,30 ± 0,1 ^b	1,0 ± 0,1 ^a	1,0 ± 0,2 ^a
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,1 ^a	0,4 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^a
ferulna kislina (mg/L)	0,8 ± 0,1 ^a	0,9 ± 0,4 ^a	1,1 ± 0,3 ^a
HCK skupaj (mg/L)	54 ± 7 ^b	40 ± 2 ^a	44 ± 4 ^{ab}
skupni fenoli (mg/L)	68 ± 1 ^a	80 ± 3 ^b	84 ± 5 ^b

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 45: Razmerja hidroksicimetnih kislin, skupnih fenolov in vsebnost flavonoidov v vinih letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 45: Ratios between hydroxycinnamic acids, total phenolics and flavonoids content in wines vintage 2009 from freezing of pomace and grapes treatments

ZELLEN	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
HCK : skupni fenoli (-)	0,53	0,54	0,50
flavonoidi (mol/L)	0,28	0,32	0,34
kaftarna kislina : HCK (-)	0,79	0,75	0,76
REBULA	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
HCK : skupni fenoli (-)	0,32	0,33	0,20
flavonoidi (mol/L)	0,28	0,39	0,41
kaftarna kislina : HCK (-)	0,26	0,22	0,12
MALVAZIJA	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
HCK : skupni fenoli (-)	0,43	0,28	0,29
flavonoidi (mol/L)	0,23	0,34	0,35
kaftarna kislina : HCK (-)	0,59	0,43	0,43

Vino zelen 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednici 44 in 45)

V poskusu letnika 2009 smo kot postopek maceracije preverili zamrzovanje drozge in celega grozdja pred stiskanjem. Glede vsebnosti skupnih fenolov lahko potrdimo statistično značilne razlike le med postopkoma kontrole in zamrzovanja drozge. Postopek kontrole je vseboval najmanj skupnih fenolov (141 mg/L), največ pa postopek zamrzovanja drozge (169 mg/L ali 21 % več). Tudi v pričujočem poskusu letnika 2009 je zelen vseboval največ skupnih HCK (137-167 mg/L). Skupna vsebnost HCK se je statistično značilno razlikovala le za postopek zamrzovanja drozge, kjer smo tudi določili njihovo največjo vsebnost 167 mg/L ali 22 % več skupnih HCK kot v postopku kontrole. Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina (108-125 mg/L), ki smo jo statistično značilno več določili le v postopku zamrzovanja drozge. Glede na razmerje skupnih fenolov in skupnih HCK sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po postopku zamrzovanja grozdja, nahajalo tudi največ flavonoidov, čeprav so vsebovala manj skupnih fenolov kot vina iz postopka zamrzovanja drozge. Če pa rezultate skupnih fenolov in skupnih HCK delimo z molskimi masami galne kisline 170,1 g/mol in kaftarne kisline 312 g/mol, lahko direktno primerjamo mole spojin. Tako določene vsebnosti flavonoidov so bile primerljive med obema postopkoma zamrzovanja.

Vino rebula 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednici 44 in 45)

Vsebnost skupnih fenolov pri sorti rebula je izkazovala statistično značilne razlike med vsemi postopki. Postopek kontrole je vseboval najmanj skupnih fenolov (70 mg/L), največ pa postopek zamrzovanja drozge (99 mg/L ali 41 %). Skupna vsebnost HCK se je statistično značilno razlikovala med vsemi postopki. Največjo vsebnost skupnih HCK smo določili v postopku zamrzovanja drozge (59 mg/L), najmanjšo pa v postopku zamrzovanja grozdja (32 mg/L). Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina tudi v oksidirani obliki GRP (19-31 mg/L). Glede na razmerje skupnih fenolov in skupnih HCK sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po postopku zamrzovanja grozdja, nahajalo tudi največ flavonoidov. Postopek zamrzovanja drozge se je glede na vsebnost fenolnih spojin med maceriranimi vini torej pokazal kot bolj primeren.

Vino malvazija 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja (preglednici 44 in 45) Vsebnost skupnih fenolov pri sorti malvazija je izkazovala statistično značilne razlike le med postopkom kontrole in obema postopkoma maceracije. Postopek kontrole je vseboval najmanj skupnih fenolov (68 mg/L), postopka zamrzovanja drozge in grozdja pa primerljivo več (80 mg/L ali 18 % in 84 mg/L ali 24 %). Skupna vsebnost HCK se je statistično značilno razlikovala le med postopkoma kontrole (54 mg/L) in zamrzovanja drozge (40 mg/L). Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina (18-32 mg/L). Vsebnost kaftarne kisline se je statistično značilno razlikovala le med postopkom kontrole in obema postopkoma maceracije. Glede na razmerje skupnih fenolov in skupnih HCK sklepamo, da se je v vinih, pridelanih po postopku zamrzovanja drozge, nahajalo največ flavonoidov, vendar je zaradi minimalnih razlik v vsebnostih posameznih skupin fenolnih spojin težje določiti primernejši postopek maceracije.

4.3.4 Vrednotenje zaznavnih aromatičnih spojin z uporabo aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV)

Na podlagi preglednic 16, 40, 41 in 42 smo izračunali OAV za posamezne AS in jih sešteli glede na tip vonja. Rezultati za sorte zelen, rebula in malvazija so podani preglednicah 46, 47 in 48.

Za sorto zelen smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirat, etil heksanoat, izoamil acetat, 1-heksanol, 4-vinilgvajakol, linalool in citronelol.

Preglednica 46: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 46: Sums of odour activity values (OAV) for Zelen wines vintage 2009 wines from freezing of pomace and grapes treatments

opis vonja	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
sadje	138 ± 2 ^b	93 ± 4 ^a	133 ± 2 ^b
cvetlice	7,7 ± 0,2 ^a	10,4 ± 0,4 ^b	10,6 ± 0,4 ^b
topilo, kemikalije	8,4 ± 0,1 ^b	7,5 ± 0,1 ^a	7,7 ± 0,1 ^a
zeleno	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	1,5 ± 0,0 ^b
fenoli	2,0 ± 0,3 ^a	2,0 ± 0,8 ^a	2,4 ± 0,1 ^a
maščobe	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
začimbe	2,0 ± 0,3 ^a	2,0 ± 0,8 ^a	2,4 ± 0,1 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti zelen letnika 2009 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevki OAV za cvetlice in največji za topilo ali kemikalije;
- vina iz postopka zamrzovanja drozge so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevki OAV za sadje in skupaj s postopkom zamrzovanja grozdja statistično značilno večji seštevki za cvetlice;
- vina iz postopka zamrzovanja grozdja so vsebovala statistično značilno večji seštevki OAV za sadje, primerljiv s postopkom kontrole, statistično značilno večji seštevki OAV za cvetlice, primerljiv s postopkom zamrzovanja drozge in statistično značilno največji seštevki za zeleno.

Za sorto rebula smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirrat, etil heksanoat, etil kaprilat, 2-feniletil acetat, izoamil acetat, 4-vinilgvajakol in citronelol.

Preglednica 47: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 47: Sums of odour activity values (OAV) for Ribolla Gialla wines vintage 2009 wines from freezing of pomace and grapes treatments

opis vonja	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
sadje	307 ± 34^b	211 ± 5^a	342 ± 21^b
cvetlice	$6,4 \pm 0,2^b$	$5,7 \pm 0,4^a$	$5,5 \pm 0,2^a$
topilo, kemikalije	$8,5 \pm 0,3^b$	$7,5 \pm 0,3^a$	$7,8 \pm 0,1^a$
zeleno	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$
fenoli	$1,2 \pm 0,1^a$	$1,5 \pm 0,0^b$	$1,3 \pm 0,1^a$
maščobe	$1,6 \pm 0,2^b$	$1,3 \pm 0,0^a$	$1,7 \pm 0,1^b$
začimbe	$1,2 \pm 0,0^a$	$1,5 \pm 0,1^b$	$1,3 \pm 0,1^a$

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti rebula letnika 2009 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno največji seštevki OAV za cvetlice in za topilo ali kemikalije;
- vina iz postopka zamrzovanja drozge so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevki OAV za sadje in maščobe ter največjega za fenole in začimbe;
- vina iz postopka zamrzovanja grozdja so vsebovala statistično značilno večji seštevki OAV za sadje, primerljiv s postopkom kontrole in statistično značilno manjši seštevki OAV za cvetlice, primerljiv s postopkom zamrzovanja drozge.

Za sorto malvazija smo določili $OAV > 1$ za sledeče AS: 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirrat, etil heksanoat, etil kaprilat, izoamil acetat, 1-heksanol, 4-vinilgvajakol, linalool in citronelol.

Preglednica 48: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 48: Sums of odour activity values (OAV) for Malvasia Istriana wines vintage 2009 wines from freezing of pomace and grapes treatments

opis vonja	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
sadje	181 ± 9^b	115 ± 4^a	207 ± 18^c
cvetlice	$6,7 \pm 0,3^a$	$7,7 \pm 0,3^b$	$7,6 \pm 0,6^b$
topilo, kemikalije	$7,7 \pm 0,2^b$	$7,9 \pm 0,0^b$	$7,0 \pm 0,4^a$
zeleno	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$1,1 \pm 0,0^b$
fenoli	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$1,2 \pm 0,0^b$
maščobe	$1,1 \pm 0,2^b$	$0,0 \pm 0,0^a$	$1,2 \pm 0,2^b$
začimbe	$0,0 \pm 0,0^a$	$0,0 \pm 0,0^a$	$1,2 \pm 0,0^b$

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti malvazija letnika 2009 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevek OAV za cvetlice in drugega največjega za sadje;
- vina iz postopka zamrzovanja drozge so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevek OAV za sadje in maščobe;
- vina iz postopka zamrzovanja grozdja so vsebovala statistično značilno največji seštevek OAV za sadje, zeleno, fenole in začimbe.

4.3.5 Senzorično ocenjevanje vina z rangiranjem

Preglednica 49: Rezultati senzoričnega ocenjevanja z rangiranjem v tri skupine za vina letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Table 49: Results of sensorial evaluations with three groups ranking for wines vintage 2009 from freezing of pomace and grapes treatments

ZELEN senzorična parametra	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
vonj	1,6 ± 0,7 ^a	1,8 ± 0,8 ^a	2,5 ± 0,8 ^b
celokupni vtis	2,3 ± 0,8 ^b	1,5 ± 0,7 ^a	2,3 ± 1,6 ^b
REBULA senzorična parametra	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
vonj	2,1 ± 0,5 ^b	2,8 ± 0,4 ^c	1,1 ± 0,3 ^a
celokupni vtis	2,3 ± 0,7 ^b	2,5 ± 0,5 ^b	1,2 ± 0,6 ^a
MALVAZIJA senzorična parametra	kontrola	zamrzovanje drozge	zamrzovanje grozdja
vonj	1,8 ± 0,7 ^a	2,4 ± 0,8 ^a	1,8 ± 0,9 ^a
celokupni vtis	2,1 ± 0,8 ^{ab}	2,4 ± 0,9 ^b	1,5 ± 0,7 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

1-najbolj všečno, 3-najmanj všečno.

Povprečje ocen je podano v preglednici 49. Za sorto zelen je bil vonj v postopku kontrole ocenjen kot najboljši, vendar se ni statistično značilno razlikoval od ostalih. Kot celokupni vtis je bil statistično značilno najboljše ocenjen postopek zamrzovanja drozge.

Za sorto rebula je bil vonj v postopku zamrzovanja grozdja statistično značilno ocenjen kot najboljši. Enako je bil kot celokupni vtis postopek zamrzovanja grozdja ocenjen kot najboljši.

Za sorto malvazija je bil vonj v postopkih kontrole in zamrzovanja grozdja ocenjen kot najboljši, a se ni statistično značilno razlikoval od ostalih postopkov. Kot celokupni vtis je bil najboljše ocenjen postopek zamrzovanja grozdja, vendar se je statistično značilno razlikoval le od postopka zamrzovanja drozge.

4.4 VINIFIKACIJE 2009 – POSTOPKI MACERACIJE DROZGE MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO IN DELNE KARBONSKE MACERACIJE

V letu 2009 smo izvedli tudi študijo vinifikacij rebule in malvazije, v katerih smo kontrolni postopek primerjali s postopkom maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in postopkom delne karbonske maceracije grozdnih jagod.

V nadaljevanju smo podali rezultate meritev osnovnih kemijskih parametrov, vsebnosti AS, vsebnosti fenolnih spojin in senzorično oceno za vin sorte rebula in malvazija letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delno karbonsko maceracijo. Rezultati so podani kot povprečne vrednosti \pm standardni odmik.

4.4.1 Osnovni kemijski parametri vina

Preglednica 50: Osnovni kemijski parametri vin letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Table 50: Basic chemical parameters of wines 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

REBULA osnovni kemijski parametri	kontrola	maceracija drozge med alk. ferm.	delna karbonska maceracija
dejanski alkohol (vol.%)	12,4 \pm 0,1 ^b	11,8 \pm 0,1 ^a	11,6 \pm 0,1 ^a
skupni suhi ekstrakt (g/L)	18,2 \pm 0,2 ^b	20,6 \pm 0,1 ^c	17,9 \pm 0,1 ^a
reducirajoči sladkorji (g/L)	2,0 \pm 0,12 ^b	1,7 \pm 0,24 ^b	1,3 \pm 0,15 ^a
pH (-)	3,47 \pm 0,01 ^b	3,61 \pm 0,02 ^c	3,38 \pm 0,1 ^a
skupne kisline (g vinske k./L)	4,7 \pm 0,0 ^a	4,9 \pm 0,0 ^b	5,4 \pm 0,0 ^c
hlapne kisline (g očetne k./L)	0,11 \pm 0,0 ^a	0,11 \pm 0,01 ^a	0,12 \pm 0,01 ^a
pepel (g/L)	1,92 \pm 0,03 ^a	2,34 \pm 0,05 ^b	1,85 \pm 0,04 ^a
metanol (mg/L)	16,2 \pm 0,5 ^a	97 \pm 2 ^c	45 \pm 3 ^b
MALVAZIJA osnovni kemijski parametri	kontrola	maceracija drozge med alk. ferm.	delna karbonska maceracija
dejanski alkohol (vol.%)	12,5 \pm 0,1 ^b	12,2 \pm 0,1 ^a	12,1 \pm 0,0 ^a
skupni suhi ekstrakt (g/L)	21,2 \pm 0,3 ^a	22,6 \pm 0,3 ^b	21,6 \pm 0,3 ^a
reducirajoči sladkorji (g/L)	2,8 \pm 0,3 ^b	2,9 \pm 0,1 ^b	1,9 \pm 0,1 ^a
pH (-)	3,14 \pm 0,01 ^a	3,40 \pm 0,01 ^c	3,22 \pm 0,01 ^b
skupne kisline (g vinske k./L)	6,2 \pm 0,1 ^a	6,3 \pm 0,0 ^a	6,2 \pm 0,0 ^a
hlapne kisline (g očetne k./L)	0,22 \pm 0,01 ^c	0,18 \pm 0,02 ^b	0,12 \pm 0,02 ^a
pepel (g/L)	1,84 \pm 0,04 ^a	2,37 \pm 0,03 ^b	1,72 \pm 0,13 ^a
metanol (mg/L)	40 \pm 2 ^a	112 \pm 26 ^b	36 \pm 3 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Vino rebula 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 50)

V postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in postopku delne karbonske maceracije smo določili statistično značilno manjšo vsebnost dejanskega alkohola. V postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo smo določili največji suhi skupni ekstrakt, najvišji pH in največjo vsebnost pepela. V slednjem smo določili tudi največjo vsebnost metanola, ki je primerljivo iz postopka kontrole presegala kar za 600 %. Ta vsebnost 97 mg/L metanola se je že približala največji dovoljeni vsebnosti 150 mg/L po veljavni slovenski zakonodaji (Pravilnik, 2004).

Vino malvazija 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 50)

V postopkih maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije smo določili statistično značilno manjšo vsebnost dejanskega alkohola. V postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo smo določili največji suhi skupni ekstrakt, najvišji pH in največjo vsebnost pepela. V slednjem smo določili tudi največjo vsebnost metanola, ki je primerljivo iz postopka kontrole presegala kar za 280 %. Ta vsebnost 112 mg/L metanola se je že približala maksimalni dovoljeni vsebnosti 150 mg/L po veljavni slovenski zakonodaji (Pravilnik, 2004).

4.4.2 Aromatične spojine

Preglednica 51: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih rebula letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Table 51: Aroma compounds content in Ribolla Gialla wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

aromatične spojine	kontrola	maceracija drozge med alk.ferm.	delna karbonska maceracija
acetaldehid (mg/L)	-	-	-
etil acetat (mg/L)	38 ± 2 ^c	31,9 ± 0,7 ^b	28,0 ± 0,2 ^a
2-butanol (mg/L)	-	-	-
1-propanol (mg/L)	23 ± 3 ^a	23 ± 1 ^a	21 ± 1 ^a
2-metilpropanol (mg/L)	24,6 ± 0,2 ^a	43,9 ± 0,9 ^b	41 ± 6 ^b
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	48,8 ± 0,7 ^a	78,1 ± 0,5 ^c	64,1 ± 0,7 ^b
3-metilbutanol (mg/L)	189 ± 3 ^a	235 ± 3 ^c	213 ± 3 ^b
2-feniletanol (mg/L)	53 ± 1 ^a	70 ± 1 ^c	62 ± 1 ^b
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>338,4</i>	<i>450</i>	<i>401,1</i>
etil butirat (µg/L)	342 ± 7 ^c	208 ± 9 ^b	143 ± 2 ^a
etil heksanoat (µg/L)	722 ± 33 ^c	414 ± 12 ^b	304 ± 9 ^a
heksil acetat (µg/L)	136 ± 6 ^c	43 ± 1 ^b	10 ± 1 ^a
etil laktat (µg/L)	722 ± 22 ^a	741 ± 29 ^a	1042 ± 251 ^b
etil kaprilat (µg/L)	870 ± 48 ^c	459 ± 13 ^b	314 ± 33 ^a
etil kaprat (µg/L)	318 ± 27 ^c	172 ± 15 ^b	118 ± 17 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	54 ± 1 ^a	62 ± 3 ^a	64 ± 17 ^a
etil lavrat (µg/L)	28 ± 1 ^c	8 ± 1 ^b	4 ± 0 ^a
etil cinamat (µg/L)	-	-	-
etil palmitat (µg/L)	18 ± 1 ^b	10 ± 1 ^a	8 ± 4 ^a
izoamil acetat (µg/L)	3182 ± 60 ^c	2158 ± 63 ^b	1598 ± 21 ^a
2-feniletil acetat (µg/L)	563 ± 44 ^b	264 ± 16 ^a	262 ± 3 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>6955</i>	<i>4539</i>	<i>3867</i>
1-heksanol (µg/L)	574 ± 9 ^b	821 ± 25 ^c	192 ± 1 ^a
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>577</i>	<i>828</i>	<i>192</i>
4-vinilfenol (µg/L)	1194 ± 6 ^b	899 ± 186 ^a	702 ± 19 ^a
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	642 ± 4 ^b	787 ± 76 ^c	423 ± 14 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1836</i>	<i>1686</i>	<i>1125</i>
linalool (µg/L)	8 ± 1 ^a	22 ± 1 ^c	14 ± 1 ^b
α-terpineol (µg/L)	- ^a	46 ± 3 ^c	33 ± 5 ^b
citronelol (µg/L)	26 ± 1 ^a	53 ± 2 ^b	26 ± 3 ^a
nerol (µg/L)	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>34</i>	<i>121</i>	<i>73</i>
benzil alkohol (µg/L)	7 ± 1 ^a	32 ± 5 ^c	15 ± 1 ^b
benzaldehyd (µg/L)	-	-	-
β-ionon (µg/L)	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	729 ± 4 ^a	1825 ± 15 ^c	1556 ± 190 ^b

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 52: Vsebnost aromatičnih spojin v vinih malvazija letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Table 52: Aroma compounds content in Malvasia Istriana wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

aromatične spojine	kontrola	maceracija drozge med alk.ferm.	delna karbonska maceracija
acetaldehid (mg/L)	-	-	-
etil acetat (mg/L)	25,3 ± 0,6 ^a	28,6 ± 0,9 ^a	36 ± 4 ^b
2-butanol (mg/L)	-	-	-
1-propanol (mg/L)	22 ± 5 ^a	41 ± 6 ^b	19 ± 2 ^a
2-metilpropanol (mg/L)	16,0 ± 0,6 ^a	21 ± 2 ^{ab}	23 ± 4 ^b
2-propenil alkohol (mg/L)	-	-	-
1-butanol (mg/L)	-	-	-
2-metilbutanol (mg/L)	55 ± 3 ^a	74,0 ± 0,9 ^b	73,1 ± 0,8 ^b
3-metilbutanol (mg/L)	220 ± 2 ^a	216 ± 5 ^a	227 ± 2 ^b
2-feniletanol (mg/L)	51 ± 1 ^a	56,0 ± 0,6 ^c	53,2 ± 0,7 ^b
<i>seštevek (mg/L)</i>	<i>364</i>	<i>408</i>	<i>395,3</i>
etil butirat (µg/L)	231 ± 8 ^b	105 ± 4 ^a	107 ± 1 ^a
etil heksanoat (µg/L)	416 ± 33 ^c	219 ± 4 ^a	266 ± 10 ^b
heksil acetat (µg/L)	45 ± 3 ^c	13 ± 2 ^b	5 ± 1 ^a
etil laktat (µg/L)	1679 ± 55 ^b	1173 ± 29 ^a	1944 ± 14 ^c
etil kaprilat (µg/L)	424 ± 27 ^c	211 ± 4 ^a	268 ± 17 ^b
etil kaprat (µg/L)	247 ± 51 ^b	123 ± 2 ^a	149 ± 6 ^a
dietil sukcinat (µg/L)	106 ± 12 ^a	125 ± 4 ^b	119 ± 4 ^{ab}
etil lavrat (µg/L)	16 ± 6 ^a	10 ± 1 ^a	12 ± 1 ^{ab}
etil cinamat (µg/L)	-	-	-
etil palmitat (µg/L)	15 ± 4 ^a	17 ± 2 ^a	16 ± 1 ^a
izoamil acetat (µg/L)	1412 ± 80 ^b	633 ± 20 ^a	704 ± 11 ^a
2-feniletil acetat (µg/L)	131 ± 18 ^b	62 ± 3 ^a	77 ± 2 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>4722</i>	<i>2691</i>	<i>3667</i>
1-heksanol (µg/L)	1019 ± 38 ^b	1225 ± 18 ^c	656 ± 2 ^a
<i>cis</i> -3-heksen-1-ol (µg/L)	16 ± 1 ^a	21 ± 1 ^b	16 ± 0 ^a
<i>trans</i> -2-heksen-1-ol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>1035</i>	<i>1246</i>	<i>672</i>
4-vinilfenol (µg/L)	124 ± 27 ^a	153 ± 22 ^b	82 ± 4 ^a
4-etilgvajakol (µg/L)	-	-	-
4-vinilgvajakol (µg/L)	270 ± 42 ^b	252 ± 42 ^b	144 ± 15 ^a
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>415</i>	<i>405</i>	<i>226</i>
linalool (µg/L)	40 ± 7 ^a	223 ± 26 ^b	64 ± 13 ^a
α-terpineol (µg/L)	108 ± 15 ^a	407 ± 31 ^c	235 ± 84 ^b
citronelol (µg/L)	21 ± 2 ^a	59 ± 6 ^c	36 ± 5 ^b
nerol (µg/L)	-	-	-
geraniol (µg/L)	-	-	-
<i>seštevek (µg/L)</i>	<i>169</i>	<i>689</i>	<i>335</i>
benzil alkohol (µg/L)	6 ± 1 ^a	58 ± 5 ^c	17 ± 2 ^b
benzaldehyd (µg/L)	-	-	-
β-ionon (µg/L)	-	-	-
γ-butirolakton (µg/L)	1145 ± 75 ^a	2419 ± 37 ^b	3284 ± 60 ^c

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 53: Razmerja hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola v vinih letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Table 53: Ratios between volatile phenols 4-vinyl guaiacol and 4-vinyl phenol in wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

REBULA	kontrola	maceracija drozge med alk.ferm.	delna karbonska maceracija
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	0,5	0,9	0,6
MALVAZIJA	kontrola	maceracija drozge med alk.ferm.	delna karbonska maceracija
4-vinilgvajakol : 4-vinilfenol (-)	2,2	1,7	1,8

4.4.2.1 C₆ alkoholi in aldehidi

Vino rebula 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 51)

Pri sorti rebula smo v pričujoči študiji letnika 2009 določili seštevke vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov, ki so primerljivi z že določenimi za isto sorto v obeh letnikih. Izjemoma smo za postopek delne karbonske maceracije določili najmanjši seštevke C₆ alkoholov in aldehydov (192 µg/L) primerjalno z vsemi sortami in letniki. V tem poskusu smo pri sorti rebula določili samo 1-heksanol. Za vsebnosti 1-heksanola smo določili statistično značilne razlike med postopki. Največja koncentracija je bila določena v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (821 µg/L), najmanjša pa v postopku delne karbonske maceracije (192 µg/L). V nobenem postopku ni presegel senzoričnega praga zaznave 1300 µg/L (Moyano in sod., 2002). V tem poskusu nismo potrdili prisotnosti *cis*-3-heksen-1-ola in *trans*-2-heksen-1-ola. Vpliva C₆ alkoholov in aldehydov na vonj vina sorte rebula v tem poskusu nismo potrdili.

Vino malvazija 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 52)

Pri sorti malvazija je seštevke vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov presegal 1 mg/L v postopkih kontrola in maceracija drozge med alkoholno fermentacijo. Splošno je skupna vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov presegala povprečno določene v literaturi (Sanchez Palomo in sod., 2005; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Najmanjši seštevke smo kot pri rebuli določili v postopku delne karbonske maceracije (672 µg/L). Največji delež je pripadal 1-heksanolu (656-1225 µg/L). Njegova vsebnost se je statistično značilno razlikovala med postopki. Največjo vsebnost smo kot predhodno pri rebuli določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (1225 µg/L), najmanjšo pa v postopku delne karbonske maceracije (656 µg/L). Praga senzorične zaznave 1-heksanol ni dosegel v nobenem postopku. Od ostalih C₆ alkoholov in aldehydov smo določili samo še *cis*-3-heksen-1-ol (16-21 µg/L). Njegova vsebnost se je statistično značilno razlikovala le v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, kjer je bila največja. Vsebnost *cis*-3-heksen-1-ol je bila občutno manjša od praga senzorične zaznave. Tudi v tem poskusu nismo potrdili prisotnosti *trans*-2-heksen-1-ola. Vpliv C₆ alkoholov in aldehydov na vonj vina sorte malvazija v tem poskusu ni bil potrjen.

4.4.2.2 Hlapni fenoli

Vino rebula 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednici 51 in 53)

Pri sorti rebula smo največji seštevek hlapnih fenolov določili pri postopku kontrole. Kvantitativno več smo določili 4-vinilfenola (702-1194 µg/L) kot 4-vinilgvajakola (423-787 µg/L) v vseh postopkih. Podobne koncentracije 4-vinilfenola in 4-vinilgvajakola, torej prvi pogoj za negativni vpliv hlapnih fenolov, smo določili za postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (Chatonnet in sod., 1992a, 1993).

4-vinilgvajakol je v postopkih kontrole (642 µg/L) in maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (787 µg/L) presegal senzorični prag zaznave 440 µg/L in je lahko s svojim vonjem po popru ali nageljnovih žbicah vplival na vonj vina (Williams in sod., 1980; Rocha in sod., 2005). Vsebnost 4-vinilgvajakola se je statistično značilno razlikovala med postopki, največja je bila v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in najmanjša v postopku delne karbonske maceracije (423 µg/L). Vsebnost 4-vinilfenola je bila statistično značilno večja le v postopku kontrole. Vsebnost 4-vinilfenola je v postopkih kontrole (1194 µg/L) in maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (899 µg/L) presegala senzorični prag zaznave 725 µg/L in torej negativno vplivala na vonj vina (Chatonnet in sod., 1992a, 1993). Negativni vpliv hlapnih fenolov pri sorti rebula v tem poskusu je bil tako pričakovan predvsem za postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, glede na največjo vsebnost 4-vinilfenola pa tudi v postopku kontrole.

Vino malvazija 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednici 52 in 53)

Sorta malvazija je vsebovala manj hlapnih fenolov kot sorta rebula v tem poskusu. Pri sorti malvazija smo največji seštevek hlapnih fenolov določili v postopku kontrole. Seštevki hlapnih fenolov so bili podobni že določenim v drugih poskusih z malvazijo letnika 2009. Koncentracije 4-vinilgvajakola (144-270 µg/L) so vsaj dvakrat presegale koncentracijo 4-vinilfenola v postopkih kontrole (124 µg/L) in delne karbonske maceracije (82 µg/L). Tako ni bil izpolnjen prvi pogoj za negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov. Koncentracija 4-vinilgvajakola je bila statistično značilno večja v postopkih kontrole (270 µg/L) in maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (252 µg/L). Praga senzorične zaznave 4-vinilgvajakol ni presegel v nobenem postopku.

4-vinilfenola (82-124 µg/L) smo določili občutno manj kot pri sorti rebula. Statistično značilno največ smo ga določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (124 µg/L), vendar tudi v tem primeru pod pragom senzorične zaznave. Negativni vpliv hlapnih fenolov pri sorti malvazija v tem poskusu ni bil potrjen.

4.4.2.3 Višji alkoholi

Vino rebula 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 51)

Pri sorti rebula smo največji seštevek višjih alkoholov določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (450 mg/L). V vseh postopkih so seštevki presegali prag 300 mg/L, pri katerem lahko višji alkoholi negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru so seštevki višjih alkoholov presegali prag v

postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo celo za 50 mg/L, v postopku delne karbonske maceracije pa za samo 1 mg/L. Predvsem pri postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo lahko predvidevamo negativni vpliv višjih alkoholov na sorto rebula v tem poskusu. Določili smo večjo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih, ker je v nasprotju z večino prej opravljenih raziskav (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Le Sanchez Palomo in sod. (2007) so prikazali podoben rezultat. Statistično značilno največ 3-metilbutanola in 2-metilbutanola smo določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (235 mg/L in 78 mg/L) in najmanj v postopku kontrole (189 mg/L in 49 mg/L). 2-metilbutanola smo določili statistično značilno manj le v postopku kontrole. Med višjimi alkoholi smo kvantitativno določili največ 3-metilbutanola (189-235 mg/L), ki je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave 30 mg/L (Moreno in sod., 2005). Koncentracije 2-metilpropanola so presegle prag senzorične zaznave 40 mg/L (Moreno in sod., 2005) v postopkih maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (44 mg/L) in delne karbonske maceracije (41 mg/L). Koncentracije 1-propanola (21-23 mg/L) so bile manjše od praga senzorične zaznave 314 mg/L (Moyano in sod., 2002). Vsebnost 2-feniletanola se je med postopki statistično značilno razlikovala, največ smo ga določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (70 mg/L) in najmanj v postopku kontrole (53 mg/L). V vseh postopkih je presegal prag senzorične zaznave 10 mg/L (Moyano in sod., 2002). V postopkih maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije smo sploh določili največje vsebnosti 2-feniletanola v vseh poskusih. V tem poskusu smo za sorto rebula določili statistično značilno večje vsebnosti benzil alkohola v maceriranih vinih. Največja vsebnost 32 µg/L je bila določena v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo.

Vino malvazija 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 52)

Pri sorti malvazija smo največji seštevek višjih alkoholov določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (408 mg/L). V vseh postopkih so seštevki presegali prag 300 mg/L, pri katerem lahko višji alkoholi celo negativno vplivajo na sensoriko vina (Guymon in Heitz, 1952; Usseglio Tomasset, 1975). Rapp in Mandery (1986) sta ta prag premaknila na 400 mg/L. V tem primeru so seštevki višjih alkoholov presegali ta prag v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo za 8 mg/L. Tako lahko v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo predvidevamo negativni vpliv višjih alkoholov na sorto malvazija v tem poskusu. Določili smo večjo vsebnost višjih alkoholov v maceriranih vinih, kar je v nasprotju z večino prej opravljenih raziskav (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Peinado in sod., 2004a; Selli in sod., 2006). Le Sanchez Palomo in sod. (2007) so prikazali podoben rezultat. Statistično značilno več 3-metilbutanola (227 mg/L) smo določili v vinih iz postopka delne karbonske maceracije. 2-metilbutanola smo določili statistično značilno manj v postopku kontrole (55 mg/L). Med višjimi alkoholi smo kvantitativno največ določili 3-metilbutanola (216-227 mg/L). 3-metilbutanol je v vseh postopkih večkratno presegel senzorični prag zaznave. Koncentracije 2-metilpropanola in 1-propanola niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Vsebnost 2-feniletanola se je med postopki statistično značilno razlikovala, največ smo ga določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (56 mg/L) in najmanj v postopku kontrole (51 mg/L). V vseh postopkih je presegal prag senzorične zaznave. V tem poskusu smo za sorto malvazija določili statistično značilno večje vsebnosti benzil

alkohola v maceriranih vinih. Največja vsebnost 58 µg/L je bila določena v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo.

4.4.2.4 Estri

Vino rebula 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 51)

V sorti rebula smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku kontrole (38 mg/L). Etil acetat je pri vseh postopkih presegel prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti rebula smo določili najmanjši seštevek estrov brez etil acetata pri postopku delne karbonske maceracije (3867 µg/L) in največji za postopek kontrole (6955 µg/L). Kvantitativno smo od preostalih estrov določili največ izoamil acetata (1598-3182 µg/L) in etil laktata (722-1042 µg/L). Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina, smo ga odšteli od ostalih estrov. Tako dobljeni seštevek je bil največji za postopek kontrole, najmanjši pa za postopek delne karbonske maceracije. Tako lahko za sorto rebula v tem poskusu potrdimo manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih, skladno z nekaterimi raziskavami (Peinado in sod., 2004a; Sanchez Palomo in sod., 2006). Druge raziskave takšnega vpliva niso potrdile (Tamborra, 1992; Cabaroglu in sod., 1997; Selli in sod., 2006; Sanchez Palomo in sod., 2007; Rodriguez Bencomo in sod., 2008). Od tako imenovanih sadnih estrov, so vina iz postopka kontrole vsebovala statistično značilno največ etil heksanoata (722 µg/L), heksil acetata (136 µg/L), etil kaprata (318 µg/L), etil kaprilata (870 µg/L), izoamil acetata (3182 µg/L) in 2-feniletil acetata (563 µg/L). Nasprotno so vina iz postopka delne karbonske maceracije vsebovala najmanj etil heksanoata (304 µg/L), heksil acetata (10 µg/L), etil kaprata (118 µg/L), etil kaprilata (314 µg/L) in izoamil acetata (1598 µg/L). Etil heksanoat in izoamil acetat sta v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave 5 µg/L in 30 µg/L. 2-feniletil acetat je prag senzorične zaznave presegel 250 µg/L le v postopku kontrole. Heksil acetat, etil kaprilat in etil kaprat pa pragov senzorične zaznave 670 µg/L, 580 µg/L in 510 µg/L niso dosegali v nobenem postopku (Moyano in sod., 2002; Peinado in sod., 2004a; Moreno in sod., 2005; Rocha in sod., 2005; Moyano in sod., 2009). Statistično značilno največja koncentracija etil butirata je bila določena v postopku kontrole (342 µg/L) in je v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave 20 µg/L (Moyano in sod., 2009). Koncentracije ostalih estrov z daljšimi verigami, kot sta etil lavrat in dietil sukcinat, so bile občutno manjše. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Skladno z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Etil cinamat ni bil določen v nobenem postopku. Splošno so nezaželene večje koncentracije višjih alkoholov ob istočasno manjši vsebnosti estrov v vinih, kar ima dokazano negativen senzorični vpliv (Ferreira in sod., 1995; Lukić in sod., 2008). Glede na razmerje seštevkov estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov, lahko teoretično potrdimo negativni vpliv postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije pri sorti rebula v tem poskusu.

Vino malvazija 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 52)

V sorti malvazija smo določili statistično značilno največ etil acetata v postopku delne karbonske maceracije (36 mg/L). Etil acetat je pri vseh postopkih presegel prag senzorične zaznave 15 mg/L (Moyano in sod., 2002). V nobenem postopku koncentracija etil acetata ni presegla 150 mg/L in zato ni imel negativnega senzoričnega vpliva na vino (Ough in Amerine, 1980). Pri sorti malvazija smo določili najmanjši seštevek estrov brez etil acetata pri postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (2691 µg/L) in največji za postopek kontrole (4722 µg/L). Kvantitativno smo od preostalih estrov določili največ izoamil acetata (633-1412 µg/L) in etil laktata (1173-1944 µg/L). Ker etil laktat nima posebnega senzoričnega vpliva na vina, smo ga odšteli od ostalih estrov. Tako dobljeni seštevek je bil največji za postopek kontrole, najmanjši pa za postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo. Tako lahko za sorto malvazija v tem poskusu potrdimo manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata v maceriranih vinih, skladno z nekaterimi raziskavami (Peinado in sod., 2004a; Sanchez Palomo in sod., 2006). Od tako imenovanih sadnih estrov so vina iz postopka kontrole vsebovala statistično značilno največ etil heksanoata (416 µg/L), heksil acetata (45 µg/L), etil kaprata (247 µg/L), etil kaprilata (424 µg/L), izoamil acetata (1412 µg/L) in 2-feniletil acetata (131 µg/L). Nasprotno so vina iz postopka maceracije drozge med alkoholno fermentacijo vsebovala najmanj etil heksanoata (219 µg/L) in etil kaprilata (211 µg/L). Etil heksanoat in izoamil acetat sta v vseh postopkih presegala senzorični prag zaznave, 2-feniletil acetat, heksil acetat, etil kaprilat in etil kaprat pa v nobenem. Statistično značilno večja koncentracija etil butirata je bila določena le v postopku kontrole (231 µg/L). V vseh postopkih je presegala senzorični prag zaznave. Koncentraciji etil lavrata in dietil sukcinata sta bili občutno manjši. V nobenem od postopkov njihove koncentracije niso dosegale pragov senzoričnih zaznav. Skladno z literaturo niso imele posebnega vpliva na vonj vina. Etil cinamat kot pokazatelj karbonske maceracije ni bil določen v nobenem postopku. Splošno so nezaželene večje koncentracije višjih alkoholov ob istočasno manjši vsebnosti estrov v vinih, kar ima dokazano negativen senzorični vpliv (Ferreira in sod., 1995; Lukić in sod., 2008). Glede na razmerje seštevka estrov (brez etil acetata in etil laktata) in višjih alkoholov, teoretično lahko potrdimo negativni vpliv postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije pri sorti malvazija v tem poskusu.

4.4.2.5 Aldehidi, ketoni, laktoni

Vino rebula 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 51)

Pri sorti rebula acetaldehida nismo določili zaradi večjega dodatka žveplovega dioksida in tudi zato, ker so bile analize izvedene prej kot v letniku 2008. Benzaldehida v tem poskusu pri sorti rebula nismo določili. Statistično značilno največ γ -butirolaktona smo določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (1825 µg/L). Ta ugotovitev je sicer v nasprotju s podatkom iz literature, kjer so v maceriranih vinih dobili manj γ -butirolaktona (Selli in sod., 2006). Vsebnost γ -butirolaktona je bila vsaj dvakrat manjša kot pri rebuli letnika 2008. Po sklepanju Rocha in sod. (2005) lahko že koncentracije nad 4-5 mg/L γ -butirolaktona vplivajo na vonj vina. Pri sorti rebula smo v vseh postopkih določili manjše koncentracije.

Vino malvazija 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 52)

Pri sorti malvazija acetaldehida nismo določili zaradi večjega dodatka žveplovega dioksida in tudi zato, ker so bile analize izvedene prej kot v letniku 2008. Benzaldehida v tem poskusu pri sorti malvazija nismo določili. Statistično značilno največ γ -butirolaktona smo določili v postopku delne karbonske maceracije (3284 $\mu\text{g/L}$). Vsebnost γ -butirolaktona je bila manjša od senzoričnega praga zaznave tudi po sklepanju Rocha in sod. (2005).

4.4.2.6 Terpeni in C_{13} norizoprenoidi

Vino rebula 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 51)

V sorti rebula smo samo v tem poskusu določili tri proste monoterpenske alkohole: linalool, α -terpineol in citronelol. Za linalool in α -terpineol smo tudi prvič lahko potrdili pozitiven vpliv maceracije v primerjavi s postopkom kontrole. Glede na seštevke (121 $\mu\text{g/L}$) in vsebnosti posameznih terpenov se je pokazal postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo kot najbolj uspešen za ekstrakcijo pri sorti rebula tako v letu 2008 kot 2009. Vsebnosti linaloola (8-22 $\mu\text{g/L}$) so se statistično značilno razlikovale med postopki kontrole in maceracij. Največ smo ga določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (22 $\mu\text{g/L}$). V tem postopku je tudi presegel prag senzorične zaznave 15 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Statistično značilno največ smo določili α -terpineola v vinih iz postopka maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (46 $\mu\text{g/L}$). α -terpineol v nobenem postopku ni dosegel praga senzorične zaznave 250 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Vsebnost citronelola je bila statistično značilno večja le v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (53 $\mu\text{g/L}$). V vseh postopkih je citronelol presegel prag senzorične zaznave 18 $\mu\text{g/L}$ (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). β -ionona, kot edinega predstavnika C_{13} norizoprenoidov, nismo določili v nobenem postopku.

Vino malvazija 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednica 52)

V sorti malvazija smo določili tri proste monoterpenske alkohole: linalool, α -terpineol, in citronelol. Za vse terpene lahko potrdimo pozitiven vpliv maceracije za postopka maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije. Kot najuspešnejša tehnologija glede na seštevke terpenov (689 $\mu\text{g/L}$) in vsebnost posameznih terpenov se je pokazal postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, kjer smo določili kar štirikrat večjo vsebnost skupnih terpenov v primerjavi s postopkom kontrole. Tudi za sorto malvazija se je postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo izkazal kot najuspešnejši za ekstrakcijo terpenov v letnikih 2008 in 2009. Vsebnost linaloola (40-223 $\mu\text{g/L}$) je v vseh postopkih presegala prag senzorične zaznave. Vsebnost linaloola je bila statistično značilno večja le v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (223 $\mu\text{g/L}$), a hkrati največja za sorto malvazija v vseh vinifikacijah 2008 in 2009. Vsaj petkrat je presegla vsebnosti, določene v postopku kontrole. Statistično značilno več α -terpineola smo določili v postopkih maceracije. Vsebnosti α -terpineola so se statistično značilno razlikovale med vsemi postopki, največ smo ga določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (407 $\mu\text{g/L}$) in najmanj v postopku kontrole (108 $\mu\text{g/L}$). V postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo je celo presegel prag senzorične zaznave 250 $\mu\text{g/L}$ (Guth, 1997). Tudi vsebnosti citronelola so se med

postopki statistično značilno razlikovale, največ smo ga določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (59 µg/L) in najmanj v kontrolnem postopku (21 µg/L). Linalool in citronelol sta v vseh postopkih presegla prag senzorične zaznave. β-ionona nismo določili v nobenem postopku.

4.4.3 Fenolne spojine

Preglednica 54: Vsebnost hidroksicimetnih kislin in skupnih fenolov v vinih letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Table 54: Hydroxycinnamic acids and total phenolics content in wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

REBULA fenolne spojine	kontrola	maceracija drozge med alk.ferm.	delna karbonska maceracija
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	1,05 ± 0,0 ^a	1,44 ± 0,2 ^b	1,5 ± 0,0 ^b
kaftarna kislina (mg/L)	20,0 ± 0,2 ^a	35,5 ± 0,6 ^b	38,3 ± 0,7 ^c
GRP (mg/L)	27,3 ± 0,4 ^c	13,2 ± 0,2 ^b	9,8 ± 0,5 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	4,8 ± 0,1 ^{ab}	7,7 ± 0,1 ^c	3,9 ± 0,1 ^a
kutarna kislina (mg/L)	3,2 ± 0,2 ^a	13,8 ± 0,2 ^c	7,3 ± 0,1 ^b
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,4 ± 0,1 ^a	0,36 ± 0,1 ^a	0,31 ± 0,0 ^a
fertarna kislina (mg/L)	1,8 ± 0,1 ^a	1,8 ± 0,1 ^a	1,7 ± 0,1 ^a
kavna kislina (mg/L)	0,7 ± 0,0 ^a	0,7 ± 0,1 ^a	0,7 ± 0,0 ^a
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,3 ± 0,1 ^a	0,6 ± 0,1 ^b	0,34 ± 0,0 ^a
ferulna kislina (mg/L)	0,5 ± 0,1 ^a	0,8 ± 0,1 ^b	0,4 ± 0,0 ^a
HCK skupaj (mg/L)	60,0 ± 0,9 ^a	76 ± 1 ^c	64 ± 1 ^b
skupni fenoli (mg/L)	182 ± 11 ^a	569 ± 11 ^b	175 ± 14 ^a
MALVAZIJA fenolne spojine	kontrola	maceracija drozge med alk.ferm.	delna karbonska maceracija
<i>cis</i> -kaftarna kislina (mg/L)	1,3 ± 0,3 ^a	3,1 ± 0,4 ^b	1,3 ± 0,1 ^a
kaftarna kislina (mg/L)	35 ± 8 ^b	42 ± 8 ^b	20,2 ± 0,6 ^a
GRP (mg/L)	13 ± 4 ^b	6 ± 1 ^a	3,5 ± 0,5 ^a
<i>cis</i> -kutarna kislina (mg/L)	1,3 ± 0,1 ^a	4,1 ± 0,1 ^b	1,2 ± 0,1 ^a
kutarna kislina (mg/L)	2,4 ± 0,3 ^b	5,7 ± 0,8 ^c	1,0 ± 0,1 ^a
<i>cis</i> -fertarna kislina (mg/L)	0,2 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,0 ^c	0,4 ± 0,0 ^b
fertarna kislina (mg/L)	1,9 ± 0,1 ^a	2,4 ± 0,1 ^b	2,0 ± 0,1 ^a
kavna kislina (mg/L)	0,9 ± 0,1 ^b	1,41 ± 0,1 ^c	0,7 ± 0,0 ^a
<i>p</i> -kumarna kislina (mg/L)	0,3 ± 0,1 ^a	0,6 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,1 ^a
ferulna kislina (mg/L)	0,8 ± 0,1 ^b	0,9 ± 0,1 ^b	0,4 ± 0,1 ^a
HCK skupaj (mg/L)	57 ± 11 ^b	67 ± 9 ^b	31 ± 1 ^a
skupni fenoli (mg/L)	76 ± 5 ^a	141 ± 11 ^b	72 ± 2 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Preglednica 55: Razmerja hidroksicimetnih kislin, skupnih fenolov in vsebnost flavonoidov v vinih letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Table 55: Ratios between hydroxycinnamic acids, total phenolics and flavonoids content in wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

REBULA	kontrola	maceracija drozge med alk.ferm.	delna karbonska maceracija
HCK : skupni fenoli (-)	0,18	0,07	0,20
flavonoidi (mol/L)	0,88	3,10	0,82
kaftarna kislina : HCK (-)	0,33	0,47	0,60
MALVAZIJA	kontrola	maceracija drozge med alk.ferm.	delna karbonska maceracija
HCK : skupni fenoli (-)	0,41	0,26	0,23
flavonoidi (mol/L)	0,26	0,62	0,32
kaftarna kislina : HCK (-)	0,62	0,63	0,66

Vino rebula 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednici 54 in 55)

V poskusu letnika 2009 smo kot postopek maceracije preverili maceracijo med alkoholno fermentacijo in delno karbonsko maceracijo grozdnih. Glede vsebnosti skupnih fenolov lahko potrdimo statistično značilne razlike le med postopkom maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in ostalima dvema. Postopek delne karbonske maceracije je vseboval povprečno najmanj skupnih fenolov (175 mg/L), največ pa postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (569 mg/L). Slednji je tako vseboval trikrat več skupnih fenolov od postopka kontrole. Takšna vsebnost fenolnih spojin v tem postopku je senzorično že vplivala na zaznavo grenkobe in trpkosti ter celo barvo vina. Vsebnost HCK se je statistično značilno razlikovala med postopki, največjo vsebnost smo določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo (76 mg/L) in najmanjšo v postopku kontrole (60 mg/L). Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina (20-38 mg/L). Vsebnost kaftarne kisline se je statistično značilno razlikovala med vsemi postopki v enakem razmerju kot pri skupnih HCK. Glede na razmerje skupnih fenolov (mol/L) in skupnih HCK (mol/L) sklepamo, da se je v vinih pridelanih po postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, nahajalo tudi daleč največ flavonoidov. Postopek delne karbonske maceracije se je glede na predvideno vsebnost flavonoidov med maceriranimi vini pokazal kot bolj primeren.

Vino malvazija 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (preglednici 54 in 55)

Glede vsebnosti skupnih fenolov lahko potrdimo statistično značilno večjo vsebnost le za postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo. Slednji je vseboval 134 mg/L ali 83 % več skupnih fenolov kot postopek kontrole. Skupna vsebnost HCK (31-67 mg/L) je bila statistično značilno manjša le v postopku delne karbonske maceracije. Med posameznimi HCK je prevladovala kaftarna kislina (20-35 mg/L). Tudi vsebnost kaftarne kisline je bila statistično značilno manjša le v postopku delne karbonske maceracije. Postopek delne karbonske maceracije se je, v primerjavi s postopkom maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, pokazal kot bolj primeren glede na pričakovano vsebnost flavonoidov.

4.4.4 Vrednotenje zaznavnih aromatičnih spojin z uporabo aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV)

Na podlagi preglednic 16, 51 in 52 smo izračunali OAV za posamezne AS in jih sešteli glede na tip vonja. Rezultati za sorti rebula in malvazija so podani preglednicah 56 in 57. Za sorto rebula smo določili OAV>1 za sledeče AS: 2-metilpropanol, 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirat, etil heksanoat, etil kaprilat, 2-feniletil acetat, izoamil acetat, 4-vinilgvajakol, 4-vinilfenol, linalool in citronelol.

Preglednica 56: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Table 56: Sums of odour activity values (OAV) for Ribolla Gialla wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

opis vonja	kontrola	maceracija drozge med alk. ferm.	delna karbonska maceracija
sadje	271,6 ± 8,6 ^c	167,2 ± 4,8 ^b	123,0 ± 2,1 ^a
cvetlice	9,1 ± 0,2 ^b	12,5 ± 0,1 ^c	8,7 ± 0,3 ^a
topilo, kemikalije	8,8 ± 0,2 ^a	11,1 ± 0,1 ^c	10,0 ± 0,1 ^b
zeleno	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
fenoli	3,1 ± 0,0 ^b	3,0 ± 0,4 ^b	0,0 ± 0,0 ^a
maščobe	1,5 ± 0,1 ^b	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
začimbe	1,4 ± 0,0 ^b	1,8 ± 0,2 ^c	0,0 ± 0,0 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti rebula letnika 2009 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno največji seštevki OAV za sadje in maščobe ter najmanjši seštevki za topilo ali kemikalije;
- vina iz postopka maceracije drozge med alkoholno fermentacijo so vsebovala statistično značilno največji seštevki OAV za cvetlice, topilo ali kemikalije in začimbe;
- vina iz postopka delne karbonske maceracije so vsebovala statistično značilno najmanjši seštevki OAV za sadje, cvetlice, fenole in začimbe.

Za sorto malvazija smo določili OAV>1 za sledeče AS: 3-metilbutanol, 2-feniletanol, etil acetat, etil butirat, etil heksanoat, izoamil acetat, linalool, α -terpineol in citronelol.

Preglednica 57: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alk. ferm. in delne karbonske maceracije

Table 57: Sums of odour activity values (OAV) for Malvasia Istriana wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

opis vonja	kontrola	maceracija drozge med alk. ferm.	delna karbonska maceracija
sadje	143,5 ± 9,3 ^c	71,9 ± 1,7 ^a	84,4 ± 2,2 ^b
cvetlice	9,4 ± 0,4 ^a	25,4 ± 1,9 ^c	12,5 ± 0,7 ^b
topilo, kemikalije	9,0 ± 0,1 ^a	9,1 ± 0,1 ^a	10,0 ± 0,3 ^b
zeleno	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
fenoli	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
maščobe	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
začimbe	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

Pri sorti malvazija letnika 2009 smo v tem poskusu določili glavne značilnosti posameznih postopkov:

- vina iz postopka kontrole so vsebovala statistično značilno največji seštevek OAV za sadje ter najmanjši seštevek za cvetlice;
- vina iz postopka maceracije drozge med alkoholno fermentacijo so vsebovala statistično značilno največji seštevek OAV za cvetlice in najmanjši za sadje;
- vina iz postopka delne karbonske maceracije so vsebovala statistično značilno največji seštevek OAV za topilo ali kemikalije.

4.4.5 Senzorično ocenjevanje vina z rangiranjem

Preglednica 58: Rezultati senzoričnega ocenjevanja z rangiranjem v tri skupine za vina letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delno karbonsko maceracijo

Table 58: Results of sensorial evaluations with three groups ranking for wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

REBULA senzorična parametra	kontrola	maceracija drozge med alk. ferm.	delna karbonska maceracija
vonj	1,5 ± 0,8 ^a	2,7 ± 0,5 ^b	1,8 ± 0,6 ^a
celokupni vtis	1,5 ± 0,8 ^a	2,3 ± 0,9 ^b	2,2 ± 0,6 ^{ab}
MALVAZIJA senzorična parametra	kontrola	maceracija drozge med alk. ferm.	delna karbonska maceracija
vonj	1,5 ± 0,8 ^a	2,3 ± 0,8 ^b	2,3 ± 0,7 ^b
celokupni vtis	1,5 ± 0,8 ^a	2,3 ± 0,8 ^b	2,2 ± 0,8 ^{ab}

a, b, c – statistično značilne razlike z LSD testom ($p \leq 0,05$).

1-najbolj všečno, 3-najmanj všečno.

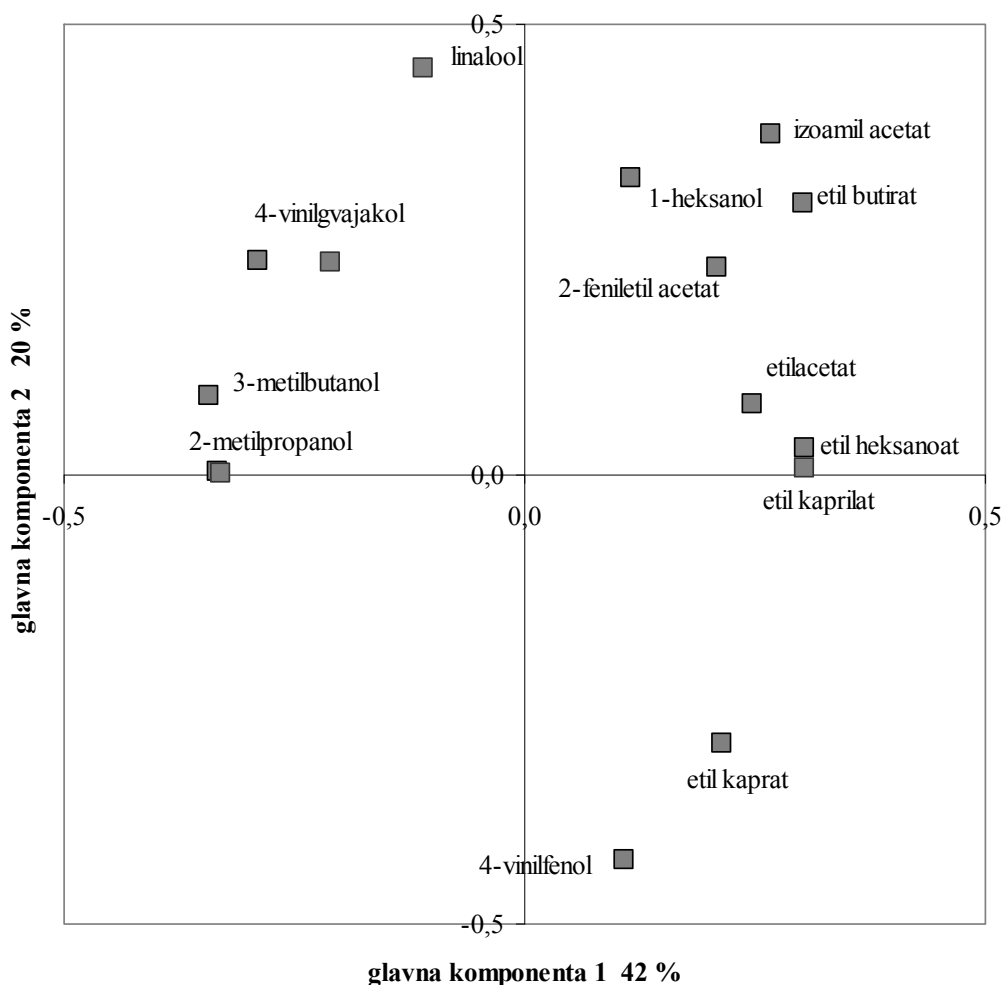
Povprečje ocen je podano v preglednici 58. Za sorto rebula je bil vonj v postopku kontrole ocenjen kot najboljši, a se ni statistično razlikoval od postopka delne karbonske maceracije. Kot celokupni vtis je bil postopek kontrole ocenjen kot najboljši, a se ni statistično značilno razlikoval od postopka delne karbonske maceracije.

Za sorto malvazija je bil kot statistično značilno najboljši ocenjen vonj v postopku kontrole. Kot celokupni vtis je bil postopek kontrole ocenjen kot najboljši, a se je statistično značilno razlikoval le od postopka maceracije drozge med alkoholno fermentacijo.

4.5 ANALIZA AROMATIČNIH SPOJIN VINA Z METODO GLAVNIH KOMPONENT (PCA)

4.5.1 PCA vinifikacij 2008

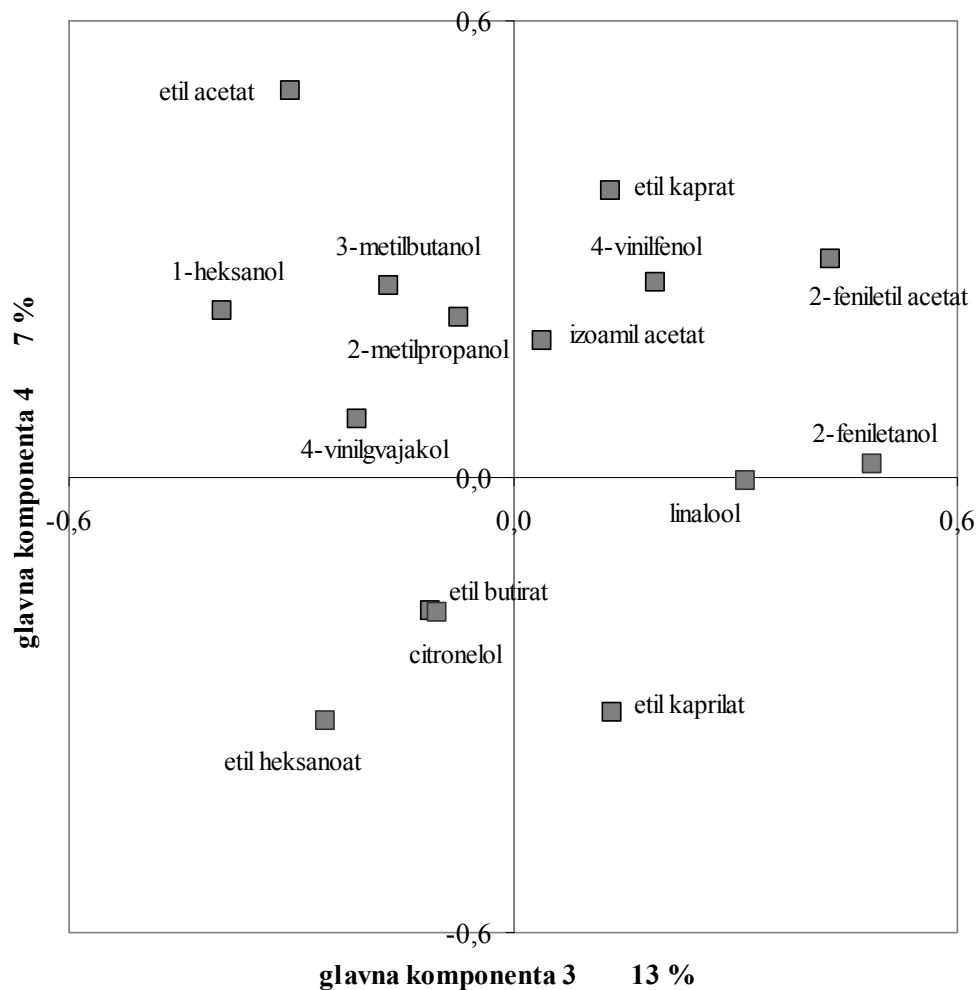
Rezultati PCA so prikazani na slikah 1-3, v prilogah E1-E3 pa so podani povprečja analiziranih spremenljivk, korelacijski koeficienti in grafična določitev glavnih komponent. Prve štiri glavne komponente so razložile 82 % variabilnosti (42 %, 20 %, 13 % in 7 %). Vsaka glavna komponenta predstavlja neodvisen vzrok variabilnosti. Sosednje AS so v pozitivni korelaciji, AS, ki so med seboj pravokotne (90°) so neodvisne, in AS, ki so si nasproti (180°) so v negativni korelaciji. Vse glavne komponente so linearne kombinacije AS, pri čemer AS, katere pravokotna projekcija na določeno glavno komponento je največja, prevladujoče opredeljuje to glavno komponento.



Slika 1: Projekcija spremenljivk, določenih s prvima dvema glavnima komponentama v ravnini - vinifikacije 2008

Figure 1: Projection of the variables in the plane defined by the first two main components - vinifications 2008

Na slika 1 smo prikazali projekcijo spremenljivk v ravnini, definirano s prvima dvema glavnima komponentama. Tako smo lahko jasno določili skupino spremenljivk, katerih pravokotna projekcija na prvo glavno komponento je največja. V to skupino smo vključili etil kaprilat, etil acetat in etil heksanoat. Te spremenljivke so v negativni korelaciji z 2-metilpropanolom, 3-metilbutanolom in citronelolom, ki ležijo relativno daleč od prve glavne komponente na nasprotni strani. Spremenljivke, katerih pravokotna projekcija na drugo glavno komponento je največja, so izoamil acetat, 1-heksanol, 2-feniletalacetat, 2-feniletanol in linalool. Na nasprotni strani druge glavne komponente pa smo določili 4-vinilfenol in etil kaprat. Spremenljivke, ki ležijo blizu druga drugi, so bile v visoki pozitivni korelaciji, kot na primer etil heksanoat in etil kaprilat ali 2-metilpropanol in citronelol.

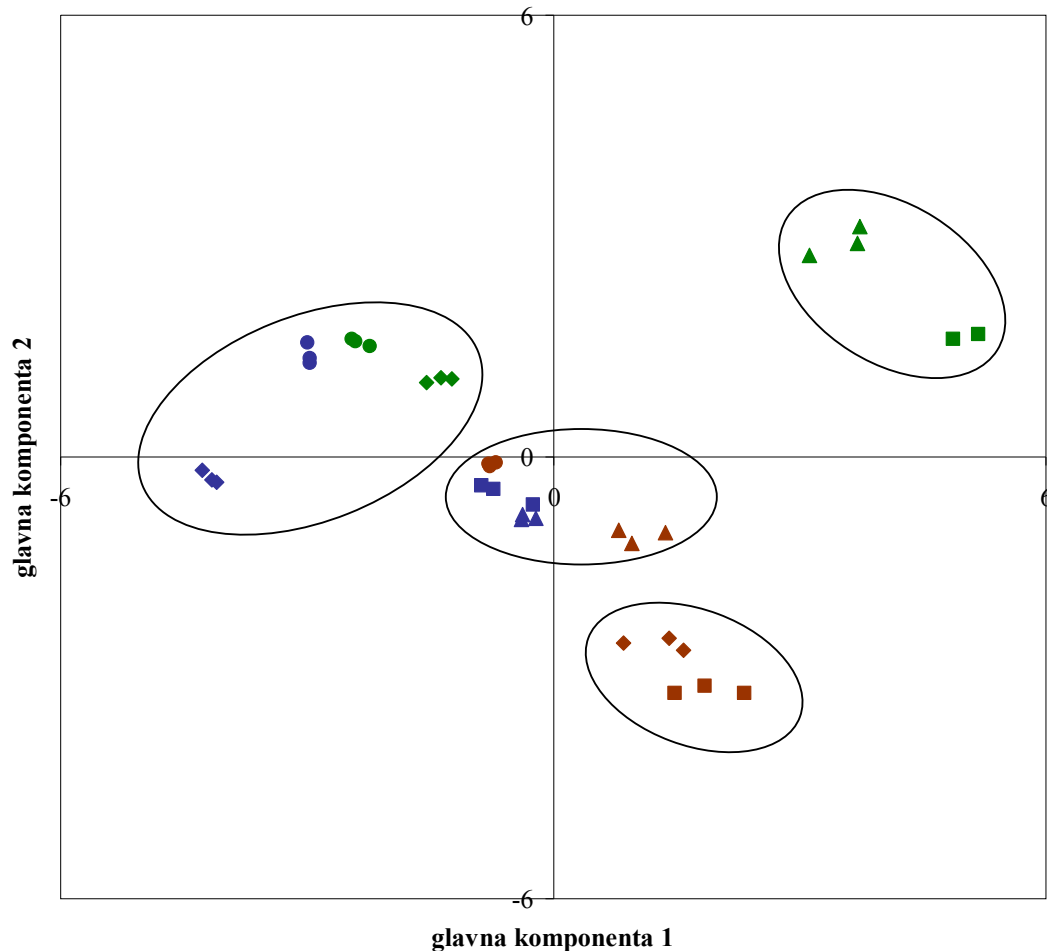


Slika 2: Projekcija spremenljivk v ravnini, določenih s tretjo in četrto glavno komponento - vinifikacije 2008

Figure 2: Projection of the variables in the plane defined by the principal components three and four - vinifications 2008

Slika 2 prikazuje projekcijo spremenljivk v ravnini, določeni s tretjo in četrto glavno komponento. 2-feniletalacetat, 2-feniletanol in linalool vplivajo na glavno komponento 3,

etil kaprilat, 4-vinilfenol, etil acetat in 2-metilpropanol pa na glavno komponento 4. Na nasprotni strani tretje komponente smo določili 1-heksanol, na nasprotni strani četrte pa etil heksanoat in etil kaprilat. Ostale spremenljivke so ležale preblizu izhodišču in niso pomembno vplivale na obe komponenti.



Slika 3: Projekcija podatkov o vinih pridelanih po različnih postopkih v ravnini določeni s prvima dvema glavnima komponentama - vinifikacije 2008 (legenda: □ - kontrola, ◇ - hladna maceracija, △ - dodatek 7 % jagod v mošt, ○ - zamrzovanje drozge ali grozdja, zelen, rebula, malvazija)

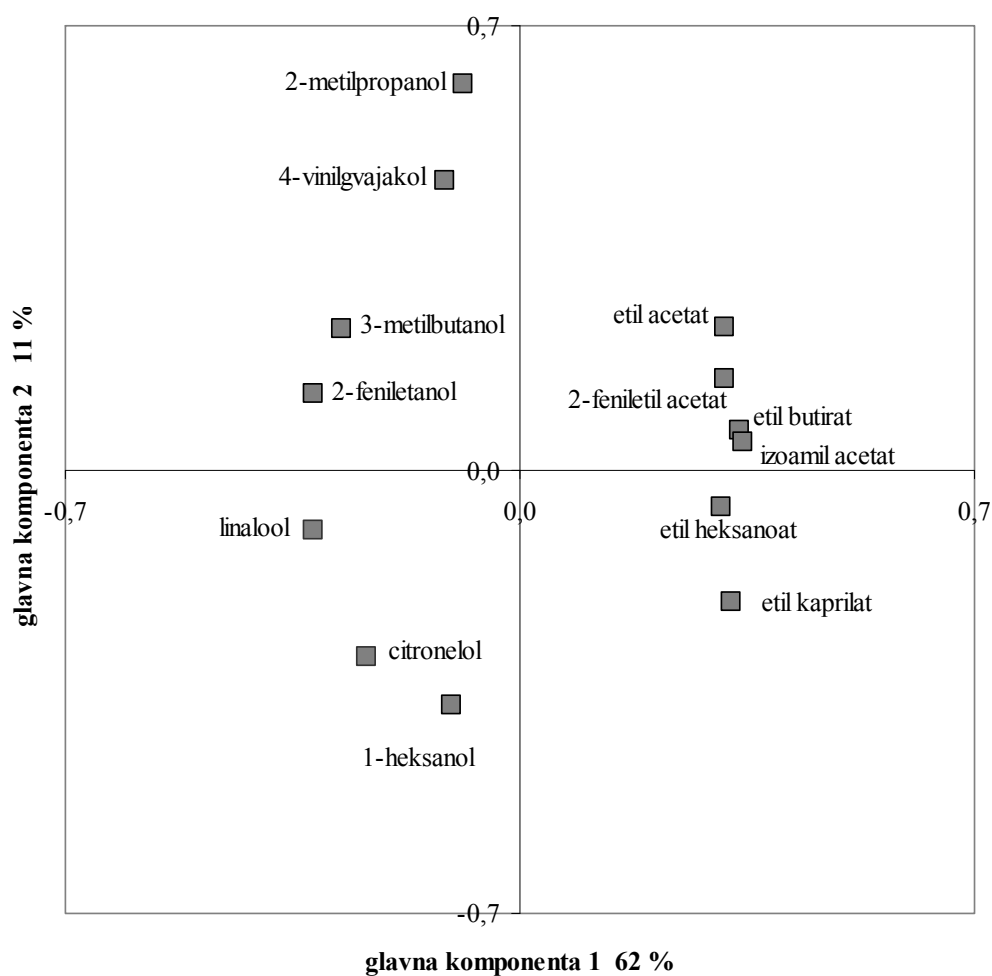
Figure 3: Projection of wines produced by different procedures in the plane defined by the first two main components-vinifications 2008 (legend: □ - control, ◇ - cold maceration, △ - addition of 7 % berries in must, ○ - freezing of pomace or grapes, Zelen, Ribolla Gialla, Malvasia Istriana)

Dobljene osnovne podatke o AS (priloge) smo uporabili za razvrščanje vzorcev v skupine s statistično metodo PCA (slika 3). Za test smo zopet uporabili iste OAV>1 posameznih AS. Slika 3 prikazuje tri oziroma štiri ločene skupine točk. Predvsem na levi polovici slike se nahajata sorti zelen in malvazija iz postopkov hladne maceracije in zamrzovanja, kjer ležijo predvsem 2-feniletanol, 3-metilbutanol, 2-metilpropanol in citronelol. Na desni polovici slike se nahaja sorta zelen iz postopkov kontrole in dodatka jagod v mošt, kjer ležijo predvsem etil butirac, 2-feniletil acetat in etil acetat. Tretjo skupino točk predstavlja sorta rebula iz postopkov kontrole in hladne maceracije, kjer leži etil kaprat. Četrta skupina

točk, ki leži okrog izhodišča slike in jo predstavljajo sorta malvazija iz postopkov kontrole in dodatka jagod v mošt ter sorta rebula iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja, je bila precej heterogena.

4.5.2 PCA vinifikacij 2009 – postopki dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja

Rezultati PCA so prikazani na slikah 4-6, v prilogah F1-F3 pa so podani povprečja analiziranih spremenljivk, korelacijski koeficienti in grafična določitev glavnih komponent. Prve štiri glavne komponente so razložile 88 % skupne variabilnosti (62 %, 11 %, 10 % in 5 %).

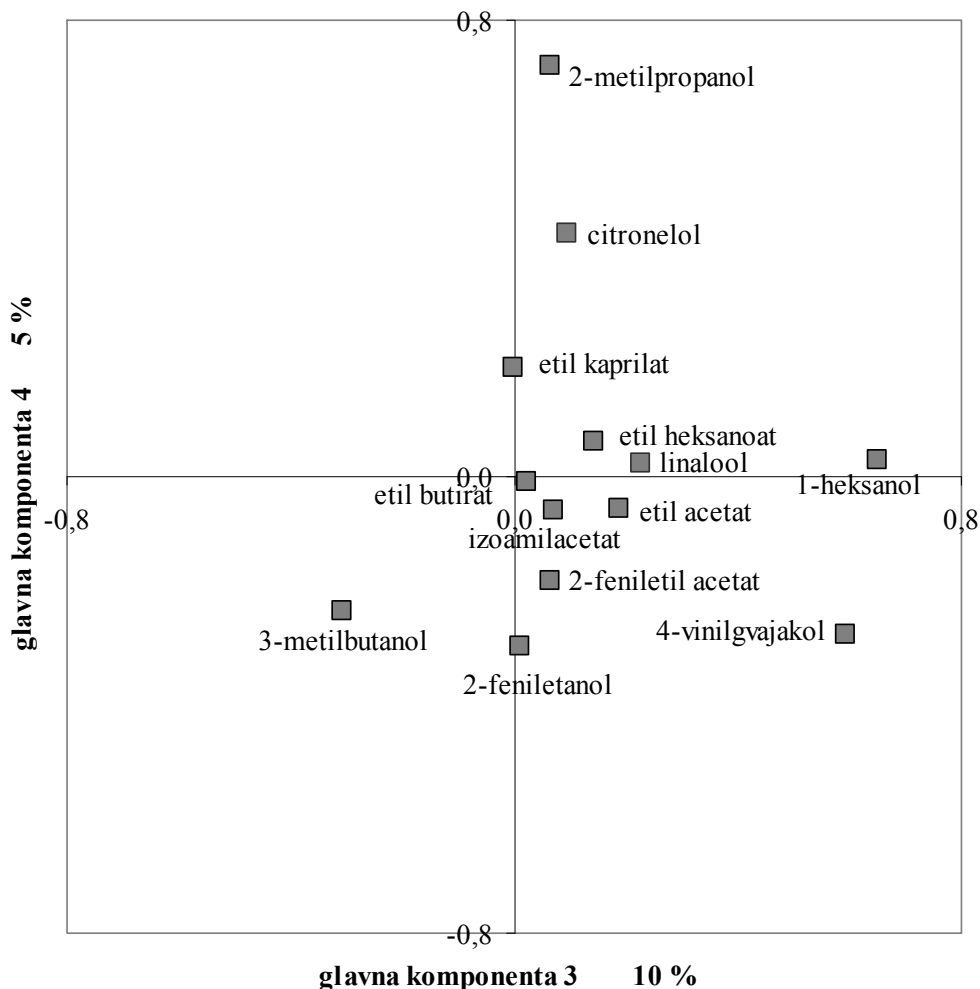


Slika 4: Projekcija spremenljivk, določenih s prvima dvema glavnima komponentama v ravnini - vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja

Figure 4: Projection of the variables in the plane defined by the first two main components - vinifications 2009 from berries addition in must and freezing of pomace and grapes procedures

Na sliki 4 smo prikazali projekcijo spremenljivk v ravnini, definirano s prvima dvema glavnima komponentama. Tako smo lahko določili skupino spremenljivk, katerih

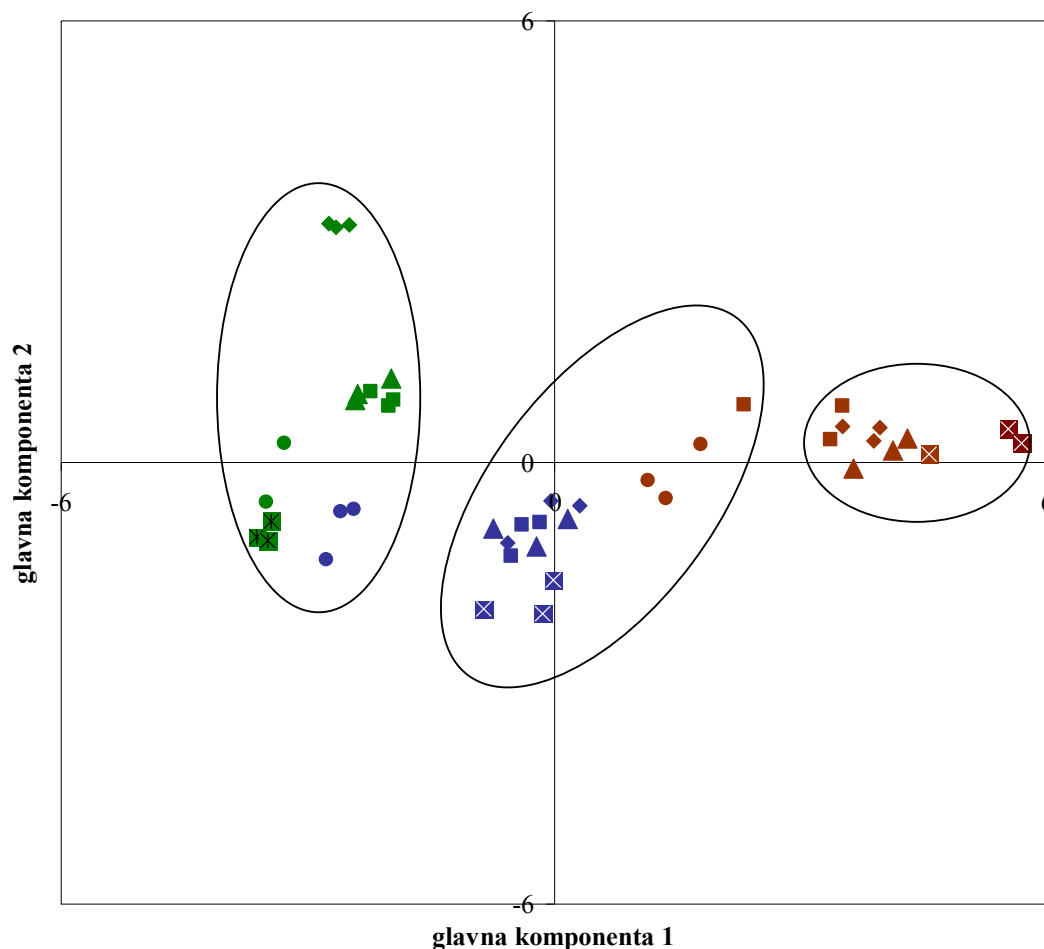
pravokotna projekcija na prvo glavno komponento je največja. V to skupino smo vključili etil butirát, izoamil acetát, etil heksanoát, 2-feniletíl acetát in etil acetát. Te spremenljivke so v negativni korelaciji z 2-feniletanolom in linaloolom, ki ležita relativno daleč od prve glavne komponente na nasprotni strani. Spremenljivki, katerih pravokotna projekcija na drugo glavno komponento je največja, sta 4-vinilgvajakol in 2-metilpropanol. Na nasprotni strani druge glavne komponente pa smo določili 1-heksanol in citronelol. Spremenljivke, ki ležijo blizu druga drugi, so bile v visoki pozitivni korelaciji, kot na primer etil butirát in izoamil acetát.



Slika 5: Projekcija spremenljivk v ravnini, določenih s tretjo in četrto glavno komponento - vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja

Figure 5: Projection of the variables in the plane defined by the principal components three and four - vinifications 2009 from berries addition in must and freezing of pomace and grapes procedures

Slika 5 prikazuje projekcijo spremenljivk v ravnini, določeni s tretjo in četrto glavno komponento. 1-heksanol in 4-vinilgvajakol vplivata na glavno komponento 3, citronelol in 2-metilpropanol pa na glavno komponento 4. Na nasprotni strani 3-metilbutanol vpliva negativno tako na tretjo kot četrto komponento. Ostale spremenljivke so ležale preblizu izhodišču in niso pomembno vplivale na obe komponenti.



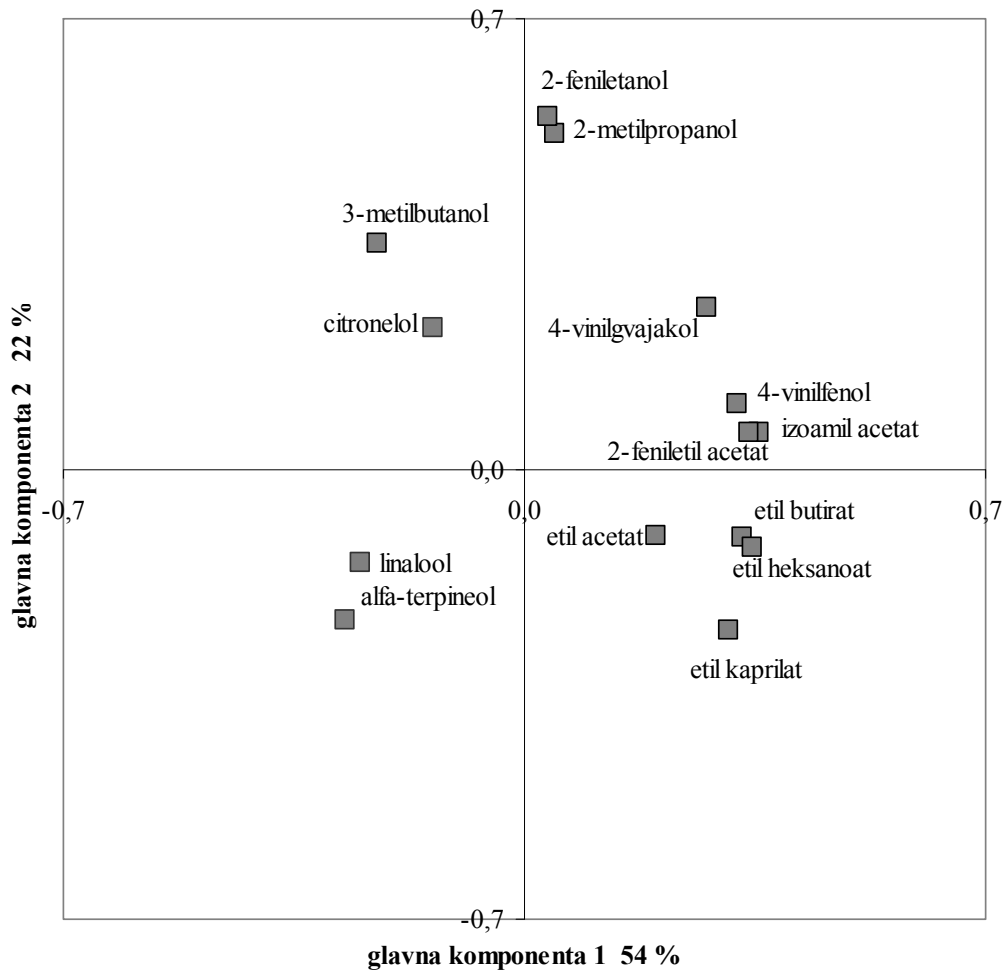
Slika 6: Projekcija podatkov o vinih, pridelanih po različnih postopkih, v ravnini določeni s prvima dvema glavnima komponentama - vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja (legenda: □ - kontrola, ◇ - dodatek 6 % jagod v mošt, △ - dodatek 12 % jagod v mošt, ○ - zamrzovanje drozge, zamrzovanje grozdja - ☒, zelen, rebula, malvazija)

Figure 6: Projection of wines produced by different procedures in the plane defined by the first two main components - vinifications 2009 from berries addition in must and freezing of pomace and grapes procedures (legend: □ - control, ◇ - addition of 6 % berry in must, △ - addition of 12 % berry in must, ○ - freezing of pomace, ☒ - freezing of grapes, Zelen, Ribolla Gialla, Malvasia Istriana)

Dobljene osnovne podatke o AS smo uporabili za razvrščanje vzorcev v skupine s statistično metodo PCA (slika 6). Za test smo zopet uporabili iste $OAV > 1$ posameznih AS. Na desni polovici slike se nahaja sorta rebula iz vseh postopkov z izjemo zamrzovanja drozge, kjer prevladujejo izoamil acetat, etil butirat in 2-feniletil acetat. Levo se nahaja sorta zelen iz vseh postopkov in malvazija iz postopka zamrzovanja drozge, kjer ležijo 2-feniletanol, 3-metilbutanol, 4-vinilgvajakol in linalool. Na sredini slike se nahajajo sorta malvazija iz preostalih postopkov in rebula iz postopka zamrzovanja drozge. Za to skupino sklepamo, da je bila precej heterogena. Posebno na sorti rebula je razviden vpliv postopkov glede na prvo in tudi tretjo glavno komponento, po kateri na postopek zamrzovanja grozdja izrazito vpliva 1-heksanol.

4.5.3 PCA vinifikacij 2009 – postopki maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Rezultati PCA so prikazani na slikah 7-9, v prilogah G1-G3 pa so podani povprečja analiziranih spremenljivk, korelacijski koeficienti in grafična določitev glavnih komponent. Prve štiri glavne komponente so razložile 95 % variabilnosti (54 %, 22 %, 14 % in 5 %).

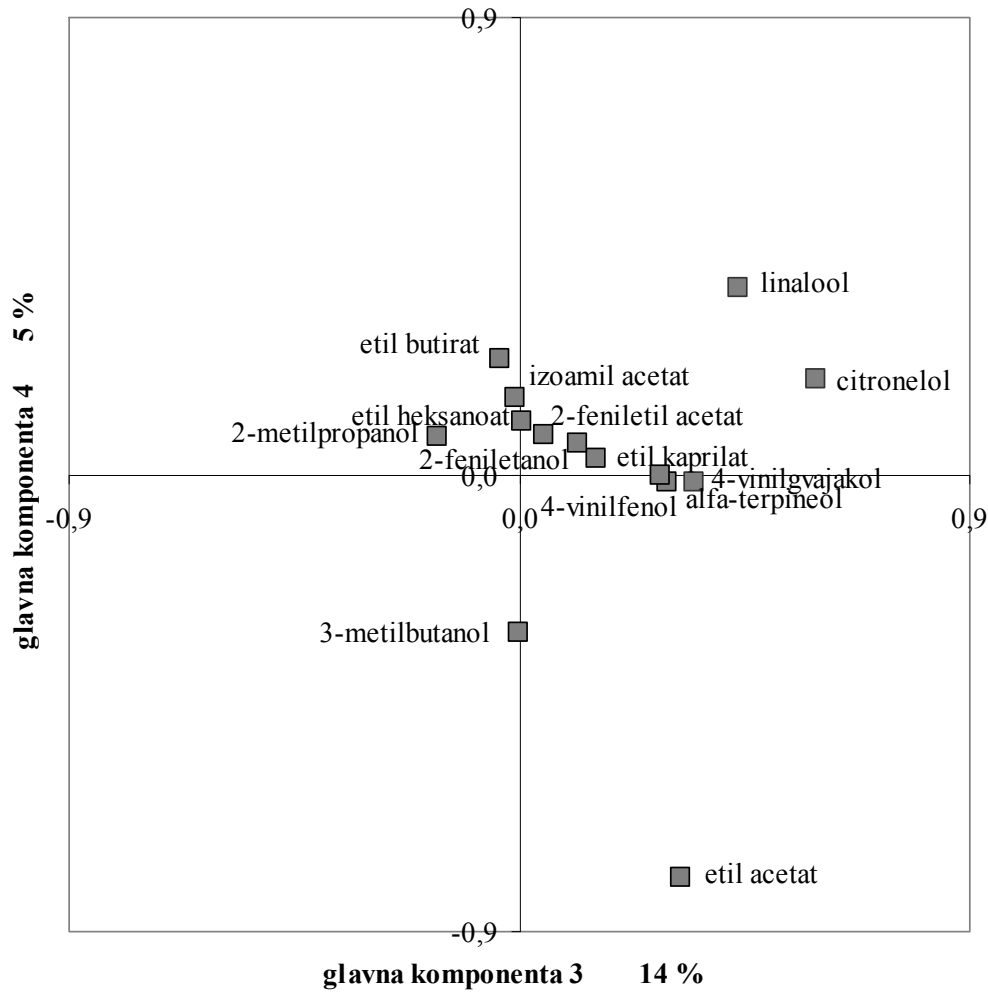


Slika 7: Projekcija spremenljivk, določenih s prvima dvema glavnima komponentama v ravnini - vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Figure 7: Projection of the variables in the plane defined by the first two main components - vinifications 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

Na sliki 7 smo prikazali projekcijo spremenljivk v ravnini, definirano s prvima dvema glavnima komponentama. Tako smo določili skupino spremenljivk, katerih pravokotna projekcija na prvo glavno komponento je največja. V to skupino smo vključili etil butirat,

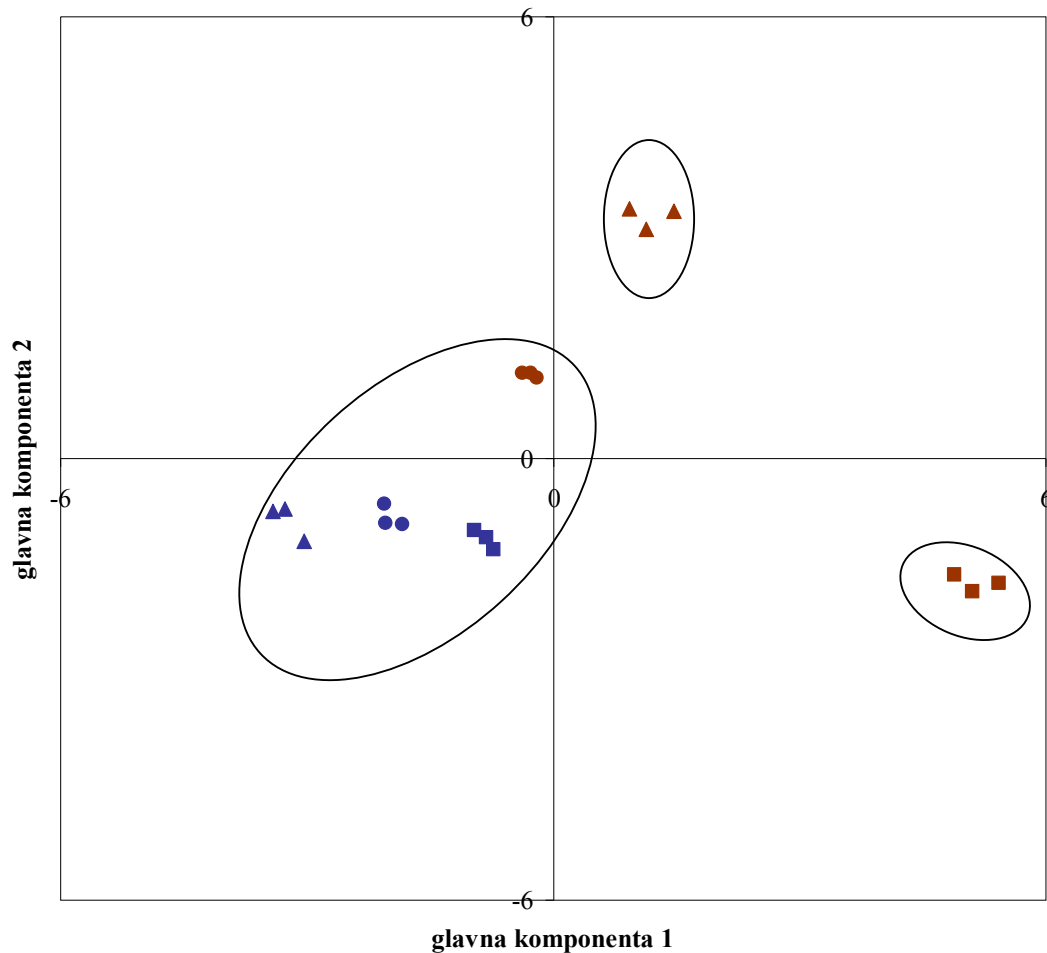
izoamil acetat, etil heksanoat, 2-feniletil acetat in 4-vinilfenol. Spremenljivke, katerih pravokotna projekcija na drugo glavno komponento je največja, so 2-feniletanol, 3-metilbutanol in 2-metilpropanol. 4-vinilgvajakol pozitivno vpliva na obe komponenti. Spremenljivke, ki ležijo blizu druga drugi, so bile v visoki pozitivni korelaciji, kot na primer izoamil acetat in 2-feniletil acetat ali etil butirat in etil heksanoat.



Slika 8: Projekcija spremenljivk v ravnini, določenih s tretjo in četrto glavno komponento - vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Figure 8: Projection of the variables in the plane defined by the principal components three and four - vinifications 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

Slika 8 prikazuje projekcijo spremenljivk v ravnini, določeni s tretjo in četrto glavno komponento. Le citronelol dovolj vpliva na glavno komponento 3, linalool vpliva tako na komponento 3 kot 4. Na nasprotni strani etil acetat negativno vpliva na komponento 4. Ostale spremenljivke so ležale preblizu izhodišču in niso pomembno vplivale na obe komponenti.



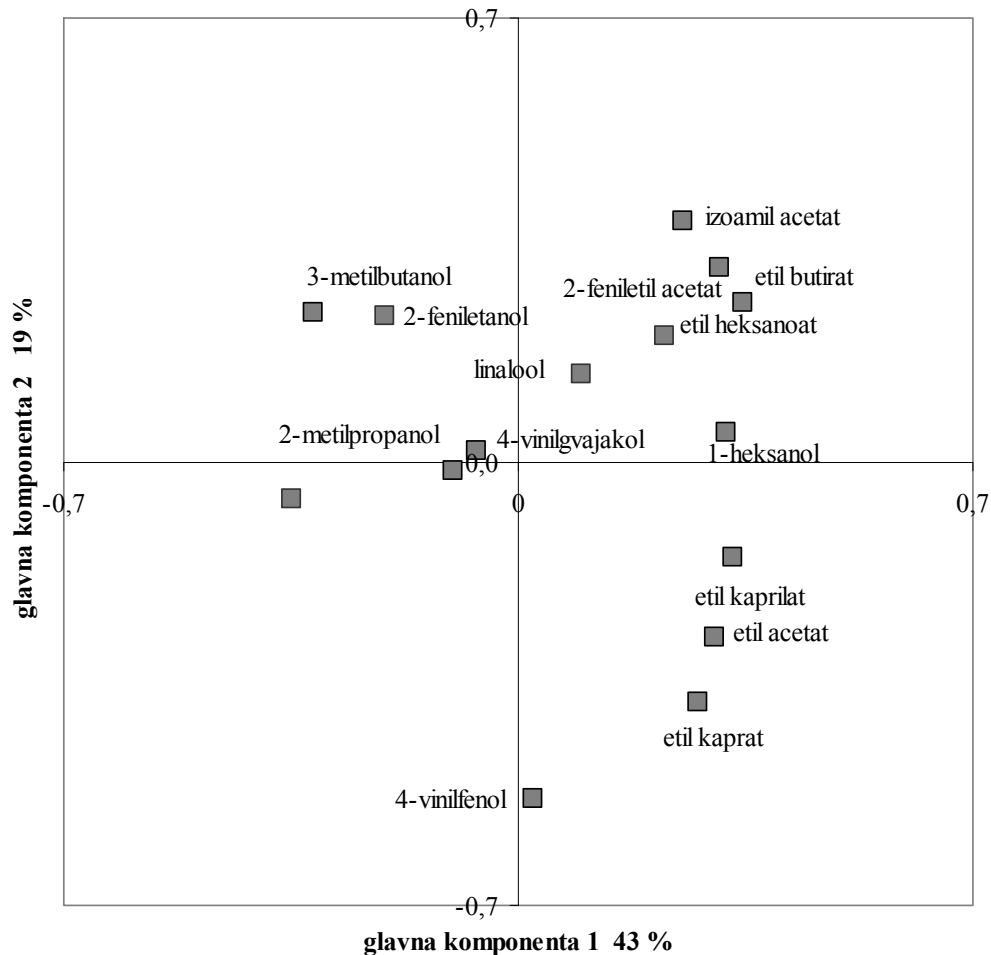
Slika 9: Projekcija podatkov o vinih, pridelanih po različnih postopkih, v ravnini določeni s prvima dvema glavnima komponentama - vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije (legenda: □ - kontrola, △ - maceracija drozge med alkoholno fermentacijo, ○ - delna karbonska maceracija, rebula, malvazija)

Figure 9: Projection of wines produced by different procedures in the plane defined by the first two main components - vinifications 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures (legend: □ - control, △ - pomace maceration during alcoholic fermentation, ○ - partial carbonic maceration, Ribolla Gialla, Malvasia Istriana)

Dobljene osnovne podatke o AS (priloge) smo uporabili za razvrščanje vzorcev v skupine s statistično metodo PCA (slika 9). Za test smo zopet uporabili iste OAV>1 posameznih AS. Slika 9 prikazuje tri ločene skupine točk. Na desni polovici slike se nahaja sorta rebula iz postopka kontrole, kjer ležita predvsem etil butirat in etil heksanoat. Desno zgoraj drugo skupino točk predstavlja sorta rebula iz postopka maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, kjer leži 4-vinilgvajakol. Tretjo skupino točk okrog izhodišča slike predstavljajo sorta malvazija iz vseh postopkov in rebula iz postopka delne karbonske maceracije. Ker se nahaja preblizu izhodišču, je torej precej heterogena.

4.5.4 PCA vinifikacij 2008 in 2009 – postopki kontrole

Izvedli smo tudi primerjavo postopkov kontrole za sorte zelen, rebula in malvazija letnikov 2008 in 2009. Rezultati PCA so prikazani na slikah 10-12, v prilogah H1-H3 pa so podani povprečja analiziranih spremenljivk, korelacijski koeficienti in grafična določitev glavnih komponent. Prve štiri glavne komponente so razložile 91 % skupne variabilnosti (43 %, 19 %, 17 % in 12 %).

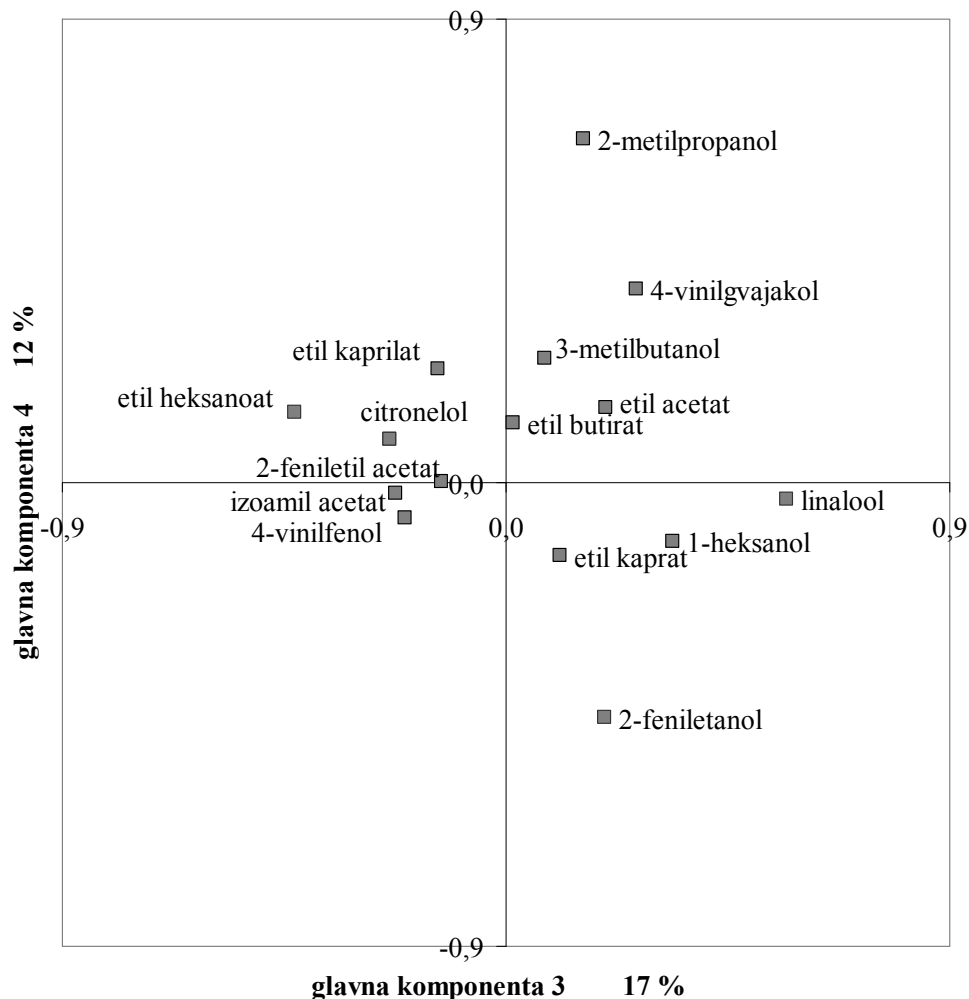


Slika 10: Projekcija spremenljivk, določenih s prvima dvema glavnima komponentama v ravnini - vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole

Figure 10: Projection of the variables in the plane defined by the first two main components - vinifications 2008 and 2009 from control procedures

Na sliki 10 smo prikazali projekcijo spremenljivk v ravnini, definirano s prvima dvema glavnima komponentama. Tako smo določili skupino spremenljivk, katerih pravokotna projekcija na prvo glavno komponento je največja. V to skupino smo vključili predvsem 1-heksanol pa tudi etil butirat in etil kaprilat. Te spremenljivke so v negativni korelaciji s citronelolom, ki leži relativno daleč od prve glavne komponente na nasprotni strani. Med spremenljivkami, katerih pravokotna projekcija na drugo glavno komponento je največja,

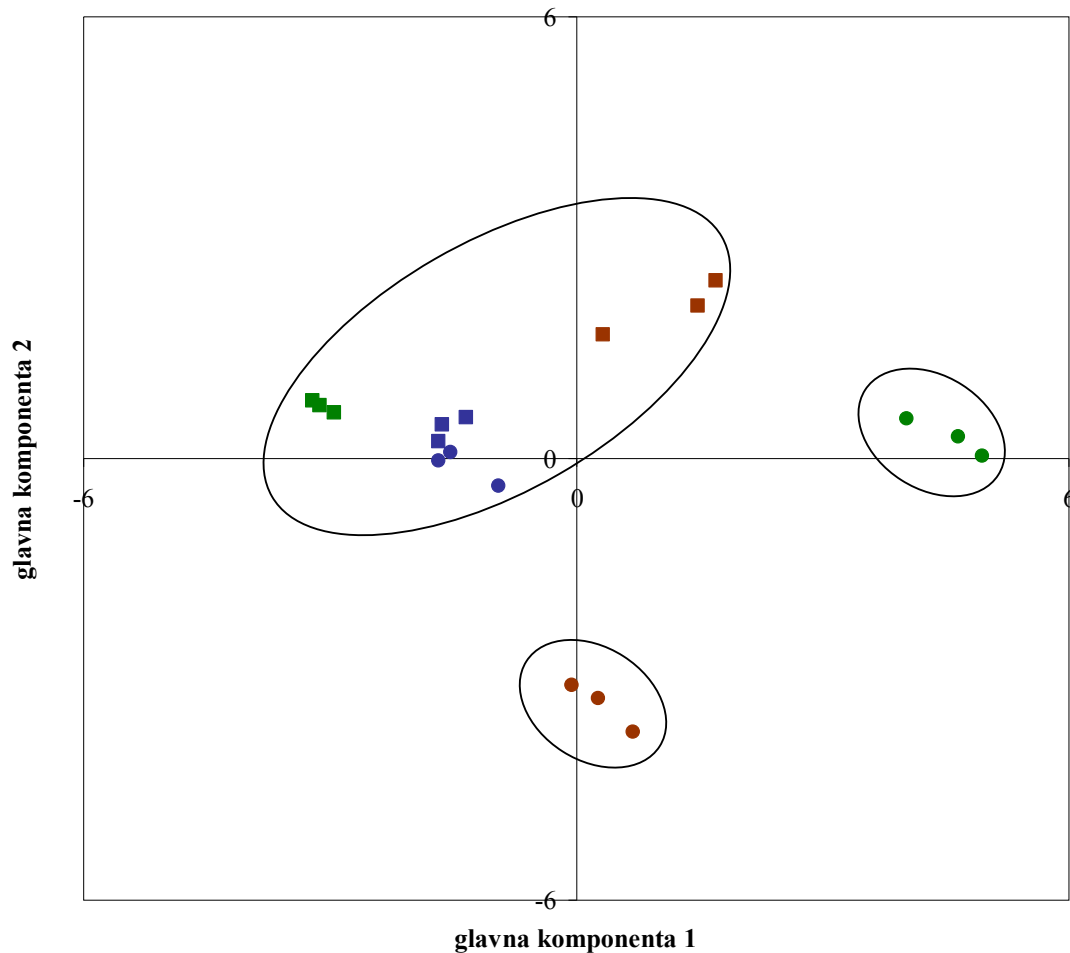
izstopa izoamil acetat. Na nasprotni strani druge glavne komponente pa smo določili 4-vinilfenol in etil kaprat. Spremenljivke, ki ležijo blizu druga drugi, so bile v visoki pozitivni korelaciji, kot na primer etil butirat in 2-feniletil acetat.



Slika 11: Projekcija spremenljivk v ravnini, določenih s tretjo in četrto glavno komponento - vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole

Figure 11: Projection of the variables in the plane defined by the principal components three and four - vinifications 2008 and 2009 from control procedures

Slika 11 prikazuje projekcijo spremenljivk v ravnini, določeni s tretjo in četrto glavno komponento. Linalool in 1-heksanol vplivata na glavno komponento 3, 2-metilpropanol in 4-vinilgvajakol pa na glavno komponento 4. Na nasprotni strani tretje komponente smo določili etil heksanoat, na nasprotni strani četrte pa 2-feniletanol.



Slika 12: Projekcija podatkov o vinih, pridelanih po različnih postopkih, v ravnini določeni s prvima dvema glavnima komponentama - vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole (legenda: ○ - kontrola 2008, □ - kontrola 2009, zelen, rebula, malvazija)
Figure 12: Projection of wines produced by different procedures in the plane defined by the first two main components - vinifications 2008 and 2009 from control procedures (legend: ○ - control 2008, □ - control 2009, Zelen, Ribolla Gialla, Malvasia Istriana)

Dobljene osnovne podatke o AS (priloge) smo uporabili za razvrščanje vzorcev v skupine s statistično metodo PCA (slika 12). Za test smo zopet uporabili iste OAV>1 posameznih AS. Slika 12 prikazuje tri ločene skupine točk. Predvsem na zgornjem delu slike se nahajajo sorte zelen letnika 2009, rebula letnika 2009 in malvazija letnikov 2008 in 2009. Predvsem sorta rebula letnika 2009 leži na področju etil heksanoata, malvazija obeh letnikov pa na področju 2-metilpropanola in 4-vinilgvajakola. Glede na tretjo in četrto glavno komponento pa skupina leži na področju izoamil acetata, 4-vinilfenola, etil heksanoata, citronelola, etil butirata, 3-metilbutanola in 4-vinilgvajakola. Na desni polovici slike se nahaja sorta zelen letnika 2008, kjer glede na tretjo glavno komponento leži predvsem linalool. Tretjo skupino točk predstavljaja na spodnjem delu slike rebula letnika 2008, kjer glede na drugo komponento leži predvsem 4-vinilfenol. Tako za sorto zelen kot rebula lahko potrdimo, da smo v obeh letnikih pridelali z istimi postopki kontrole vina z različnim aromatskim profilom. Velja pa tudi omeniti, da smo analize AS letnika 2009

izvajali 2 meseca po koncu alkoholne fermentacije, za letnik 2008 pa skoraj 8 mesecev po koncu alkoholne fermentacije.

4.6 RAZPRAVA

4.6.1 Vinifikacije 2008

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto zelen ugotovili:

- da so bili rezultati postopka kontrole bolj podobni tistim v postopku dodatka jagod v mošt in da so bili rezultati postopka hladne maceracije bolj podobni tistim v postopku zamrzovanja drozge z izjemo fenolov;
- v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge smo določili manjšo vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov kot v postopkih kontrole in dodatka jagod v mošt, v slednjih so ti tudi vplivali na vonj vina po zelenem;
- v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge smo določili večjo vsebnost hlapnih fenolov in predvsem v postopku zamrzovanja drozge tudi vpliv na vonj po fenolih in začimbah, ki pa ni bil negativen;
- več višjih alkoholov smo določili v postopkih maceracije, vonj po topilu ali kemikalijah pa je bil v postopkih kontrole in dodatka jagod v mošt bolj izražen zaradi večje vsebnosti etil acetata in ne samo višjih alkoholov;
- v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge smo določili manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata in s tem manjši vpliv na vonj po sadju in maščobah;
- več terpenov v vseh postopkih maceracije, zaradi terpenov in 2-feniletanola smo največji vpliv na vonj po cvetlicah določili v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge;
- večjo vsebnost skupnih fenolov v maceriranih vinih: v postopku zamrzovanja drozge največ in v postopku hladne maceracije najmanj;
- postopka hladne maceracije in dodatka jagod v mošt bi se teoretično, glede vpliva na okus vina, zaradi manjših vsebnosti flavonoidov izkazala kot bolj primerna od postopka zamrzovanja grozdja;
- večji skupni suhi ekstrakt, večjo vsebnost pepela in višji pH smo določili v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge, v slednjem tudi manj dejanskega alkohola in skupnih kislin.

Senzorično je bil najbolj ocenjen vonj v postopku dodatka jagod v mošt, kjer smo tudi določili največji vpliv vonja po sadju in presenetljivo po topilih ali kemikalijah. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka hladne maceracije.

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto rebula ugotovili:

- v le v postopku zamrzovanja grozdja smo verjetno zaradi oteženega pecljanja zamrznjenega grozdja določili večjo vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov, ki je tudi vplivala na vonj po zelenem;
- v postopkih kontrole in hladne maceracije smo določili največ hlapnih fenolov, ki bi lahko tudi negativno vplivali na vonj vina;

- večja vsebnost višjih alkoholov v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja grozdja se je odražala v intenzivnejšem vplivu na vonj po topilih ali kemikalijah v primerjavi s postopkoma kontrole in dodatka jagod v mošt;
- v postopku dodatka jagod v mošt smo določili največ estrov brez etil acetata in etil laktata in tako največji vpliv na vonj po sadju, najmanj estrov brez etil acetata in etil laktata pa smo določili v postopku zamrzovanja grozdja;
- terpeni so zaradi manjših vsebnosti v sorti rebula vplivali na vonj po cvetlicah predvsem v postopku zamrzovanja grozdja, najpomembnejši vpliv na ta vonj pa smo določili v postopku hladne maceracije zaradi večjih vsebnosti 2-feniletanola in 2-feniletetil acetata;
- največjo vsebnost skupnih fenolov med maceriranimi vini smo določili v postopku dodatka jagod v mošt in najmanjšo v postopku hladne maceracije;
- postopka hladne maceracije in dodatka jagod v mošt bi se teoretično, glede vpliva na okus vina, zaradi manjših vsebnosti flavonoidov izkazala kot bolj primerna od postopka zamrzovanja grozdja;
- v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge smo določili manjšo vsebnost dejanskega alkohola in skupnih kislin, večjo vsebnost pepela in višji pH, v postopku zamrzovanja grozdja pa tudi večji skupni suhi ekstrakt.

Najboljšo senzorično oceno za vonj je dobilo vino iz postopka hladne maceracije, kjer smo sicer določili največji vpliv vonja po cvetlicah, a presenetljivo tudi predvideli negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka dodatka jagod v mošt.

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto malvazija ugotovili:

- da so bili, podobno kot pri sorti zelen, rezultati postopka kontrole bolj podobni tistim v postopku dodatka jagod v mošt in da so bili rezultati postopka hladne maceracije bolj podobni tistim v postopku zamrzovanja grozdja z izjemo fenolov;
- le v postopku zamrzovanja grozdja smo verjetno zaradi oteženega pecljanja zamrznjenega grozdja določili večjo vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov, ki je tudi vplivala na vonj po zelenem;
- večjo vsebnost hlapnih fenolov smo določili v vseh maceriranih vinih in predvsem v postopku zamrzovanja grozdja tudi večji vpliv na vonj po fenolih in začimbah, ki pa ni bil negativen;
- večja vsebnost višjih alkoholov v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge se je odražala v večjem vplivu na vonj po topilih ali kemikalijah v primerjavi s postopkoma kontrole in dodatka jagod v mošt;
- v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge smo določili manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata in s tem manjši vpliv na vonj po sadju in maščobah;
- v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge smo določili več terpenov in skupaj z 2-feniletanolom tudi večji vpliv na vonj po cvetlicah;
- v vseh postopkih maceracije smo določili večjo in primerljivo vsebnost skupnih fenolov;

- postopka hladne maceracije in dodatka jagod v mošt bi se teoretično, glede vpliva na okus vina, zaradi manjših vsebnosti flavonoidov izkazala kot bolj primerna od postopka zamrzovanja grozdja;
- v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge smo določili manjšo vsebnost dejanskega alkohola in večjo vsebnost pepela in višji pH, v postopku zamrzovanja grozdja večji skupni suhi ekstrakt in v postopku hladne maceracije manj skupnih kislin.

Senzorično je bil najbolje ocenjen vonj v postopku kontrole, kjer smo določili večji vpliv vonja po sadju kot v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja drozge, a tudi manjši vpliv vonja po cvetlicah in po topilu kot v omenjenih postopkih. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka zamrzovanja grozdja.

Senzorične ocene vina smo težje komentirali zaradi manjšega števila pokuševalcev. Pri sortah zelen in malvazija so bila kot vina z najboljšim vonjem ocenjena postopka kontrole in dodatka jagod v mošt. Oba postopka se razlikujeta od hladne maceracije in zamrzovanja drozge predvsem po večjem vplivu vonja po sadju. Pri sorti rebula so pokuševalci izbrali postopek hladne maceracije z največjim vplivom vonja po cvetlicah, a tudi verjetnim negativnim senzoričnim vplivom hlapnih fenolov. Pri ocenjevanju vin celokupnega vtisa vin so pokuševalci za sorte zelen, rebula in malvazija kot najboljše izbrali postopke maceracije (hladno maceracijo, dodatek jagod v mošt in zamrzovanje grozdja), nikoli pa postopka kontrole. Tako smo potrdili, da večje vsebnosti skupnih fenolov v maceriranih vinih niso zaznavno vplivale na zaznavi grenkobe ali trpkosti vina.

4.6.2 Vinifikacije 2009 – postopki dodatka jagod v mošt

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto zelen ugotovili:

- v postopku kontrole smo v okviru C₆ alkoholov in aldehydov določili sicer večjo vsebnost 1-heksanola, a brez vpliva na vonj vina;
- v postopku dodatka 6 % jagod v mošt in predvsem v postopku dodatka 12 % jagod v mošt smo določili večjo vsebnost hlapnih fenolov ter vpliv 4-vinilgvajakola na vonj po fenolih in začimbah, ki pa ni bil negativen;
- več višjih alkoholov smo določili v postopku kontrole, vonj po topilu ali kemikalijah pa je bil v postopku dodatka 6 % jagod bolj izražen zaradi večje vsebnosti 2-metilpropanola;
- predvsem v postopku dodatka 6 % jagod v mošt smo določili manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata, a vpliv na vonj po sadju je bil največji v postopku dodatka 12 % jagod v mošt zaradi večje vsebnosti etil heksanoata in etil butirata;
- več terpenov smo določili v postopkih dodatka 6 % jagod v mošt in predvsem dodatka 12 % jagod v mošt ter s tem pozitiven vpliv terpenov na vonj po cvetlicah v obeh postopkih;
- večjo vsebnost skupnih fenolov v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt;
- postopek dodatka 6 % jagod v mošt se je tudi glede vpliva na okus vina teoretično zaradi manjše vsebnosti flavonoidov od obeh postopkov maceracije pokazal kot bolj primeren;

- v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt smo določili manjšo vsebnost skupnih kislin in višji pH, v postopku kontrole pa najmanj metanola.

Senzorično je bil najbolje ocenjen vonj v postopku dodatka 12 % jagod v mošt, kjer smo določili največji vpliv vonja po sadju in vonja po cvetlicah. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka dodatka 6 % jagod v mošt.

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto rebula ugotovili:

- podobno vsebnost C₆ alkoholov in aldehydov v vseh postopkih brez vpliva na vonj vina;
- v postopku kontrole največjo vsebnost 4-vinilfenola brez negativnega vpliva na vonj vina ter primerljiv vpliv 4-vinilgvajakola na vonj po fenolih in začimbah med vsemi postopki;
- več višjih alkoholov smo določili v postopku kontrole, vonj po topilu ali kemikalijah pa je bil primerljivo izražen v vseh postopkih;
- v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt smo določili manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata, a vpliv na vonj po sadju je bil največji prav v postopku dodatka 12 % jagod v mošt zaradi večje vsebnosti etil heksanoata in etil butirata;
- manjša vsebnost terpenov v sorti rebula se je odrazila tako, da smo v postopku kontrole določili največji vpliv na vonj po cvetlicah tudi zaradi večjih vsebnosti 2-feniletanola in 2-feniletil acetata;
- postopka dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt pri sorti rebula ne vplivata bistveno na izboljšanje aromatičnosti vina;
- večjo vsebnost skupnih fenolov v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt,
- postopek dodatka 6 % jagod v mošt se je tudi glede vpliva na okus vina teoretično zaradi manjše vsebnosti flavonoidov od obeh postopkov maceracije pokazal kot bolj primeren;
- v postopku dodatka 12 % jagod v mošt smo določili manjšo vsebnost dejanskega alkohola in večjo vsebnost skupnega suhega ekstrakta le v primerjavi s postopkom kontrole.

Senzorično je bil najbolje ocenjen vonj v postopku kontrole, kjer smo določili največji vpliv vonja po cvetlicah in največjega po sadju. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka dodatka 12 % jagod v mošt.

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto malvazija določili:

- v postopku kontrole in dodatka 6 % jagod v mošt glede vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov sicer večjo vsebnost 1-heksanola, a brez vpliva na vonj vina;
- od hlapnih fenolov le v postopku dodatka 6 % jagod v mošt vpliv 4-vinilgvajakola na vonj po fenolih in začimbah;
- več višjih alkoholov smo določili v postopku kontrole, a vonj po topilu ali kemikalijah je bil primerljivo izražen v vseh postopkih;
- v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt smo določili večjo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata predvsem zaradi večjih koncentracij etil heksanoata

in izoamil acetata, a vpliv na vonj po sadju je bil primerljivo izražen v vseh postopkih;

- več terpenov v postopkih dodatka 6 % jagod v mošt in predvsem dodatka 12 % jagod v mošt ter s tem pozitiven vpliv terpenov na vonj po cvetlicah v obeh postopkih;
- večjo vsebnost skupnih fenolov v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt;
- postopek dodatka 6 % jagod v mošt se je tudi glede vpliva na okus vina teoretično zaradi manjše vsebnosti flavonoidov od obeh postopkov maceracije pokazal kot bolj primeren;
- v postopkih dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt smo določili večjo vsebnost pepela in višji pH, v postopku kontrole pa najmanj metanola.

Senzorično je bil najbolje ocenjen vonj v postopku dodatka 12 % jagod v mošt, kjer smo določili največji vpliv vonja po cvetlicah. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka dodatka 6 % jagod v mošt.

Vina v tem poskusu so bila senzorično ocenjena zgodaj, saj so bila pridelana kot vina za hitro porabo. Pri sortah zelen in malvazija je bil najbolje ocenjen vonj v postopkih dodatka 12 % jagod v mošt. V teh vinih smo določili največji vpliv vonja po sadju, v malvaziji sicer statistično neznačilno. Prav tako smo v teh vinih določili največji vpliv na vonj po cvetlicah. Pri sorti rebula je bil najbolje ocenjen postopek kontrole. Pri sorti rebula so bile verjetno zaradi izrazito večjih vsebnosti estrov in prevladujočega vonja po sadju razlike med postopki težko zaznavne. Pri ocenjevanju vin kot celokupni vtis so poskuševalci za sorte zelen, rebula in malvazija kot najboljše izbrali postopke maceracije dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt in nikoli postopka kontrole. Tako smo potrdili, da večje vsebnosti skupnih fenolov v maceriranih vinih niso opazno vplivale na zaznavi grenkobe ali trpkosti vina.

4.6.3 Vinifikacije 2009 – postopki zamrzovanja drozge in grozdja

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto zelen ugotovili:

- v postopku zamrzovanja grozdja glede vsebnosti C_6 alkoholov in aldehydov največjo vsebnost 1-heksanola, ki se je samo v tem postopku izrazila kot vonj po zelenem;
- primerljivo vsebnost hlapnih fenolov ter vpliv 4-vinilgvajakola na vonj po fenolih in začimbah med postopki;
- več višjih alkoholov smo določili v postopku kontrole, tudi najbolj izražen vonj po topilu ali kemikalijah je bil določen v tem postopku zaradi največje vsebnosti 3-metilbutanola;
- v postopku zamrzovanja drozge smo določili manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata predvsem zaradi manjših vsebnosti etil heksanoata in izoamil acetata, posledično smo določili najmanjši vpliv na vonj po sadju v tem postopku;
- več terpenov v postopkih zamrzovanja drozge in predvsem zamrzovanja grozdja ter s tem pozitiven vpliv terpenov na vonj po cvetlicah v obeh postopkih;
- večjo vsebnost skupnih fenolov v postopku zamrzovanja drozge;

- postopek zamrzovanja drozge se je glede vpliva na okus vina teoretično zaradi manjšega deleža flavonoidov glede na razmerje skupnih HCK in skupnih fenolov od obeh postopkov maceracije pokazal kot bolj primeren navkljub večji vsebnosti skupnih fenolov;
- v postopkih zamrzovanja drozge in grozdja smo določili večjo vsebnost skupnega suhega ekstrakta in pepela, manj skupnih kislin in višji pH, v postopku zamrzovanja drozge tudi najmanj metanola.

Senzorično je bil najbolje ocenjen vonj v postopku kontrole, kjer smo določili vpliv vonja po sadju, primerljiv le s postopkom zamrzovanja grozdja, največji vpliv vonja po toplih ali kemikalijah ter najmanjši vpliv vonja po cvetlicah. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka zamrzovanja drozge.

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto rebula ugotovili:

- v postopku zamrzovanja grozdja glede vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov največjo vsebnost 1-heksanola, a brez vpliva na vonj vina;
- v postopku zamrzovanja drozge sicer največjo vsebnost 4-vinilfenola brez negativnega vpliva na vonj vina ter največji vpliv 4-vinilgvajakola na vonj po fenolih in začimbah v istem postopku;
- več višjih alkoholov smo določili v postopku kontrole, tudi najbolj izražen vonj po topilu ali kemikalijah je bil v tem postopku zaradi največje vsebnosti 3-metilbutanola;
- v postopku zamrzovanja drozge smo določili manjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata predvsem zaradi manjših vsebnosti etil heksanoata, heksil acetata, etil kaprilata in izoamil acetata, posledično smo določili najmanjši vpliv na vonj po sadju pa tudi po maščobah v tem postopku;
- manjša vsebnost terpenov v sorti rebula se je odrazila tako, da smo v postopku kontrole določili največji vpliv na vonj po cvetlicah tudi zaradi večjih vsebnosti 2-feniletanola in 2-feniletil acetata;
- večjo vsebnost skupnih fenolov v postopkih zamrzovanja drozge in grozdja;
- postopek zamrzovanja drozge se je glede vpliva na okus vina teoretično zaradi manjšega deleža flavonoidov glede na razmerje skupnih HCK in skupnih fenolov od obeh postopkov maceracije pokazal kot bolj primeren navkljub večji vsebnosti skupnih fenolov;
- v postopkih zamrzovanja drozge in grozdja smo določili večjo vsebnost skupnega suhega ekstrakta in pepela ter manjšo vsebnost dejanskega alkohola in višji pH, manj skupnih kislin smo določili le v postopku zamrzovanja grozdja, v postopku zamrzovanja drozge pa tudi najmanj metanola.

Senzorično je bil najbolje ocenjen vonj v postopku zamrzovanja grozdja, kjer smo določili večji vpliv vonja po sadju kot v postopku zamrzovanja drozge in manjši vpliv vonja po cvetlicah od postopka kontrole. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz istega postopka zamrzovanja grozdja.

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto malvazija ugotovili:

- v postopku zamrzovanja grozdja glede vsebnosti C_6 alkoholov in aldehydov največjo vsebnost 1-heksanola, ki se je samo v tem postopku izrazila kot vonj po zelenem;
- v postopku zamrzovanja drozge sicer največjo vsebnost 4-vinilfenola brez negativnega vpliva na vonj vina ter največji vpliv 4-vinilgvajakola na vonj po fenolih in začimbah v postopku zamrzovanja grozdja;
- več višjih alkoholov smo določili v postopku zamrzovanja drozge, tudi najbolj izražen vonj po topilu ali kemikalijah je bil določen v tem postopku zaradi največje vsebnosti 3-metilbutanola;
- v postopku zamrzovanja drozge smo določili najmanjšo in v postopku zamrzovanja grozdja največjo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata predvsem zaradi večjih vsebnosti etil heksanoata, heksil acetata, etil kaprilata in izoamil acetata v slednjem, posledično smo določili največji vpliv na vonj po sadju in tudi po maščobah v postopku zamrzovanja grozdja;
- več terpenov v postopkih zamrzovanja drozge in predvsem zamrzovanja grozdja ter s tem pozitiven vpliv terpenov na vonj po cvetlicah v obeh postopkih;
- večjo vsebnost skupnih fenolov v postopkih zamrzovanja drozge in grozdja z majhnimi razlikami med postopki;
- v postopkih zamrzovanja drozge in grozdja smo določili manjšo vsebnost dejanskega alkohola, večjo vsebnost pepela in višji pH, v postopku zamrzovanja drozge pa tudi najmanj metanola.

Senzorično sta bila bolje ocenjena vonj v postopku kontrole in zamrzovanja grozdja, v obeh smo določili večji vpliv vonja po sadju kot v postopku zamrzovanja drozge. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka zamrzovanja grozdja.

Vina v tem poskusu so bila senzorično ocenjena zgodaj, saj so bila pridelana kot vina za hitro porabo. Pri sorti zelen so pokuševalci najbolje ocenili vonj vina iz postopka kontrole, v katerem smo določili, za razliko od postopka zamrzovanja grozdja, manjši vpliv na vonj po cvetlicah, primerljiv vpliv na vonj po sadju in večji vpliv na vonj po topilih ali kemikalijah. Pri sorti rebula so pokuševalci kot najboljši, tako vonj kot celokupni vtis, določili postopek zamrzovanja grozdja. Pri sorti malvazija so najboljši vonj določili tako v postopku kontrole kot postopku zamrzovanja grozdja. Pri ocenjevanju vin kot celokupni vtis, so pokuševalci za sorte zelen, rebula in malvazija kot najboljše izbrali postopke maceracije zamrzovanja drozge ali grozdja in nikoli postopka kontrole. Tako smo potrdili, da večje vsebnosti skupnih fenolov v maceriranih vinih niso opazno vplivale na zaznave grenkobe ali trpkosti vina.

4.6.4 Vinifikacije 2009 – postopki maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto rebula ugotovili:

- glede vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo največjo vsebnost 1-heksanola, a brez vpliva na vonj vina;
- v postopkih kontrole in maceracije drozge med alkoholno fermentacijo smo določili vsebnosti 4-vinilfenola nad senzoričnim pragom zaznave in v obeh postopkih smo zato napovedali negativen vpliv na vonj vina. V istih postopkih smo določili tudi vpliv 4-vinilgvajakola na vonj po fenolih in začimbah;
- največ višjih alkoholov smo določili v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, v katerem je bil tudi najbolj izražen vonj po topilu ali kemikalijah zaradi največje vsebnosti 3-metilbutanola, sledil mu je postopek delne karbonske maceracije;
- v postopku delne karbonske maceracije smo določili najmanjšo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata predvsem zaradi manjših vsebnosti etil butirata, etil heksanoata, heksil acetata, etil kaprilata in izoamil acetata, nasprotno smo v postopku kontrole določili največje vsebnosti istih AS in posledično največji vpliv na vonj po sadju, pa tudi po maščobah v tem postopku;
- navkljub manjši vsebnosti terpenov v sorti rebula se je postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo izkazal kot uspešen za povečanje vpliva na vonj po cvetlicah zaradi obsežnejše ekstrakcije terpenov in hkrati večje vsebnosti 2-feniletanola;
- izredno povečanje vsebnosti skupnih fenolov v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo;
- postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo se je glede vpliva na okus vina teoretično zaradi daleč največje vsebnosti flavonoidov pokazal kot najmanj primeren;
- v postopkih maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije smo določili manjšo vsebnost dejanskega alkohola in višji pH, celo več skupnih kislin, predvsem pa v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo večjo vsebnost metanola.

Senzorično je bil najbolje ocenjen vonj v postopku kontrole, kjer smo določili največji vpliv vonja po sadju in maščobah ter najmanjši vpliv vonja po cvetlicah. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka kontrole.

Na osnovi rezultatov primerjav vsebnosti AS, fenolov, osnovnih kemijskih parametrov, seštevka OAV, smo za sorto malvazija ugotovili:

- v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo glede vsebnosti C₆ alkoholov in aldehydov največjo vsebnost 1-heksanola, a še brez vpliva na vonj vina;
- v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo smo določili največjo vsebnost 4-vinilfenola, v postopku delne karbonske maceracije pa najmanjšo vsebnost 4-vinilgvajakola, vendar hlapni fenoli v nobenem postopku niso vplivali na vonj vina;

- več višjih alkoholov smo določili v postopkih maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije, v slednjem je bil tudi najbolj izražen vonj po topilu ali kemikalijah zaradi največje vsebnosti 3-metilbutanola;
- v postopku kontrole smo določili največjo vsebnost estrov brez etil acetata in etil laktata predvsem zaradi večjih vsebnosti etil butirata, etil heksanoata, heksil acetata, etil kaprilata in izoamil acetata ter posledično največji vpliv na vonj po sadju v tem postopku;
- oba postopka maceracije in še posebno postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo sta se izkazala kot uspešna za povečanje vpliva na vonj po cvetlicah zaradi obsežnejše ekstrakcije terpenov;
- postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo se je glede vpliva na okus vina teoretično zaradi največje vsebnosti flavonoidov pokazal kot najmanj primeren;
- v postopkih maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije smo določili manjšo vsebnost dejanskega alkohola in višji pH, dodatno v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo tudi večji skupni suhi ekstrakt, večjo vsebnost pepela in večjo vsebnost metanola.

Senzorično je bil najbolje ocenjen vonj v postopku kontrole, kjer smo določili največji vpliv vonja po sadju in najmanjši vpliv vonja po cvetlicah. Z najboljšim celokupnim vtisom je bilo ocenjeno vino iz postopka kontrole.

Senzorična ocena je za obe sorti potrdila najboljši vonj in celokupni vtis v postopkih kontrole. Na obeh sortah, še bolj izrazito pa pri rebuli, so bili opazni negativni vplivi večjih vsebnosti skupnih fenolov v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo. Ti so se izkazali v povečani trpkosti in grenkobi ter porjavenju barve vin, pridelanih po tem postopku. Nega vin po postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo se ponavadi nadaljuje v lesni posodi, oziroma v stiku s kvasovkami, ki radikalno spremenijo tudi senzorične zaznave vonja in okusa. Za ustrežnejšo senzorično oceno takšnega tipa vina bi potrebovali še vsaj leto zorenja v ustreznih razmerah. Postopek delne karbonske maceracije po senzoričnih ocenah ni dosegal kontrolnega postopka.

5 ZAKLJUČKI IN SKLEPI

Na osnovi rezultatov opravljenih raziskav smo prišli do naslednjih pomembnih zaključkov.

Potrdili smo primernost analiznih metod za določevanje vsebnosti aromatičnih spojin (AS), ki se v vinu nahajajo v koncentracijah mg/L in µg/L. Z obsežnejšo validacijo metode plinske kromatografije z masnospektrometričnim detektorjem in ekstrakcijo tekoče-tekoče (LLE-GC-MS) smo pridobili analizno orodje primerno za sočasno določevanje različnih skupin AS, navkljub relativno dolgi ekstrakciji z organskim topilom pred določanjem.

V vinih sort zelen, rebula in malvazija smo določili večino iz literature znanih pomembnejših aromatičnih spojin, kot so C₆ alkoholi in aldehidi, hlapni fenoli, višji alkoholi, estri, C₁₃ norizoprenoidi in terpeni. Predvsem za vina sort zelen in rebula še nismo razpolagali s podatki o tako širokem naboru AS. Tako smo v vinih iz vinifikacij letnika 2008 in 2009 vseh treh sortah določili skupine AS, ki so pomembne tako iz analiznega kot senzoričnega stališča. Z vrednotenjem senzorično zaznavnih AS in vpeljavo pojma aktivna vonjalna vrednost (OAV) smo lahko razvrstili posamezne AS, ne samo po analizni vsebnosti, temveč tudi po vplivu na vonj vina.

Z določanjem vsebnosti AS, fenolov in osnovnih kemijskih parametrov v vinih, smo dokazali vpliv izbranih postopkov maceracije pri vseh treh sortah. Prvič smo lahko ovrednotili doprinos posameznih postopkov pridelave vina na AS istočasno iz analitskega in senzoričnega stališča. Spremembe vsebnosti in razmerij AS zaradi postopkov maceracij smo dokazali pri vseh sortah tudi z uporabo zelo preprostih postopkov, kot je dodatek jagod v mošt med alkoholno fermentacijo. Ker se za večino izvedenih postopkov maceracij ne potrebuje dodatne kletarske opreme in je njihova izvedba dokaj preprosta za vinarje, imajo rezultati pričujočega dela uporabno vrednost.

Iz primerjave vin iz postopkov kontrole, hladne maceracije, dodatka 7 % jagod v mošt in zamrzovanja drozge (zelen) ali celega grozdja (rebula, malvazija) letnika 2008, lahko zaključimo:

- na osnovi podatkov o AS in njihovih OAV za sorti zelen in malvazija lahko potrdimo podobnost med postopkoma kontrole in dodatka 7 % jagod v mošt ter podobnost med postopkoma hladne maceracije in zamrzovanja;
- med postopki maceracije sta se postopka hladne maceracije in zamrzovanja pokazala kot bolj uspešna za ekstrakcijo predvsem terpenov v vino in posledično vplivala na vonj po cvetlicah;
- v postopkih hladne maceracije in zamrzovanja pri sortah zelen in malvazija se je tvorilo več hlapnih fenolov, ki so vplivali na vonj po fenolih in začimbah;
- pri sortah rebula in malvazija je postopek zamrzovanja grozdja sprostil največ 1-heksanola in vplival na vonj po zelenem;
- postopka kontrole in dodatka 7 % jagod v mošt sta pozitivno vplivala na vonj po sadju in maščobah, zaradi večje vsebnosti senzorično pomembnih estrov etil heksanoata, etil kaprilata, izoamil acetata in etil butirata, predvsem pri sortah zelen in malvazija;
- ker smo v sorti rebula določili manjšo vsebnost terpenov kot v sortah zelen in malvazija, smo največji vpliv na vonj po cvetlicah v postopku hladne maceracije določili zaradi večjih vsebnosti 2-feniletanola in 2-feniletil acetata;

- pri sorti rebula smo določili večje koncentracije hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola tako v postopku kontrole kot v postopku hladne maceracije, zato možen negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov ni bil omejen samo na macerirana vina;
- postopek zamrzovanja se je izkazal kot najbolj vpliven postopek maceracije zaradi največjih vsebnosti terpenov in višjih alkoholov pri vseh sortah, C₆ alkoholov in aldehydov pri sortah rebula in malvazija in hlapnih fenolov pri sortah zelen in malvazija;
- vsebnost skupnih fenolov je bila sicer večja v vinih iz postopkov maceracije, a senzorično nezaznavna;
- pokuševalci so za parametra vonj in celokupni vtis kot bolj všečna vina ocenili macerirana vina, le pri sorti zelen so za najboljši vonj izbrali kontrolni postopek.

Iz primerjave vin iz postopkov kontrole, dodatka 6 % jagod v mošt in dodatka 12 % jagod v mošt letnika 2009, lahko zaključimo:

- za sorti zelen in rebula smo določili pozitiven vpliv postopka dodatka 12 % jagod v mošt na vonj po sadju v primerjavi s postopkom kontrole zaradi večje vsebnosti senzorično pomembnih estrov etil heksanoata in etil butirata;
- za sorti zelen in malvazija smo pri postopku dodatka 12 % jagod v mošt določili boljšo ekstrakcijo primarnih AS v primerjavi s postopkom kontrole in s tem predvsem pozitiven vpliv na vonj po cvetlicah;
- pri sorti rebula je postopek kontrole izkazoval pozitiven vpliv na vonj po cvetlicah zaradi največjih vsebnosti 2-feniletanola in 2-feniletil acetanta, ne pa večje vsebnosti terpenov;
- postopek dodatka 12 % jagod v mošt se je za sorti zelen in malvazija izkazal kot bolj vpliven postopek maceracije zaradi največjih sprememb v razmerjih predvsem višjih alkoholov, terpenov in deloma hlapnih fenolov v primerjavi s postopkom kontrole;
- postopka dodatka 6 % in 12 % jagod v mošt pri sorti rebula nista bistveno spremenila aromatike vina, le v slednjem smo določili pozitiven vpliv na vonj po sadju;
- vsebnost skupnih fenolov se je povečala v vinih iz postopkov maceracije, a je bila senzorično nezaznavna;
- pokuševalci so za parametra vonj in celokupni vtis kot bolj všečna ocenili macerirana vina, le pri sorti rebula so za najboljši vonj izbrali kontrolni postopek.

Iz primerjave vin iz postopkov kontrole, zamrzovanja drozge in zamrzovanja grozdja letnika 2009, lahko zaključimo:

- za sorte zelen, rebula in malvazija smo določili pozitiven vpliv postopka zamrzovanja grozdja na vonj po sadju v primerjavi s postopkom zamrzovanja drozge, zaradi večje vsebnosti senzorično pomembnih estrov etil heksanoata, etil kaprilata, izoamil acetata in etil butirata;
- vpliv postopka zamrzovanja grozdja na vonj po sadju je bil s postopkom kontrole vsaj primerljiv (zelen) ali celo večji (rebula, malvazija);
- pri sortah malvazija in zelen je postopek zamrzovanja grozdja sprostil največ 1-heksanola in vplival na vonj po zelenem;

- pri sortah zelen in malvazija sta oba postopka maceracije imela večji vpliv na vonj po cvetlicah kot postopek kontrole zaradi obsežnejše ekstrakcije terpenov;
- pri sorti rebula se je ponovno vsebnost 2-feniletanola in 2-feniletil acetata izkazala kot odločilna za največji vpliv na vonj po cvetlicah v postopku kontrole;
- z izjemo postopka zamrzovanja drozge pri sorti malvazija smo določili večji vpliv na vonj po topilih ali kemikalijah vedno pri postopku kontrole zaradi večje vsebnosti višjih alkoholov;
- postopek zamrzovanja grozdja se je izkazal kot uspešen v primerjavi s kontrolnim postopkom zaradi primerljivega ali celo večjega vpliva na vonj po sadju zaradi ustrezne vsebnosti estrov, manjšega vpliva na vonj po topilu ali kemikalijah zaradi manjše vsebnosti višjih alkoholov in pozitivnega vpliva na vonj po cvetlicah in zelenem (zelen, malvazija) zaradi obsežnejše ekstrakcije primarnih AS;
- vsebnost skupnih fenolov se je povečala v vinih iz postopkov maceracije, a je bila senzorično nezaznavna;
- v postopkih zamrzovanja drozge smo pri vseh treh sortah določili celo manjše vsebnosti metanola kot pri kontrolnem postopku;
- pokuševalci so za parameter celokupni vtis kot bolj všečna izbrali macerirana vina, za parameter vonj so pri sorti zelen izbrali kontrolni postopek, pri rebuli postopek zamrzovanja grozdja, pri malvaziji pa zaradi enakega povprečja tako postopka kontrole kot zamrzovanja grozdja.

Iz primerjave vin iz postopkov kontrole, maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije letnika 2009 lahko zaključimo:

- za sorti rebula in malvazija smo določili pozitiven vpliv postopka kontrole na vonj po sadju zaradi največje vsebnosti senzorično pomembnih estrov etil heksanoata, etil kaprilata, izoamil acetata in etil butirata, pri obeh postopkih maceracije je bila njihova vsebnost občutno manjša;
- postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo se je izkazal kot najbolj uspešen postopek za ekstrakcijo primarnih AS terpenov in C₆ alkoholov in aldehydov, ki pa so se izrazile samo v vplivu na vonj po cvetlicah;
- pri sorti rebula smo določili večje koncentracije hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola tako v postopku kontrole kot v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo, zato možen negativni senzorični vpliv hlapnih fenolov ni bil omejen samo na macerirana vina;
- postopek delne karbonske maceracije se je glede vpliva na vonj po sadju in cvetlicah pri sorti malvazija izkazal kot vmesna stopnja med obema drugima postopkoma, pri sorti rebula pa enako velja za vonj po topilih;
- pri obeh sortah smo v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo določili največje vsebnosti fenolnih spojin, ki so predvsem za rebulo presegle vsebnosti značilne za bela vina in so senzorično negativno vplivala na vina;
- vsebnost metanola se je v vinih po postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo izrazito povečala tako v primerjavi s postopkom kontrole kot tudi z drugimi postopki maceracije v predhodnih vinifikacijah;
- pokuševalci so za parametra vonj in celokupni vtis kot boljše ocenili vina iz kontrolnega postopka in ne macerirana vina.

Metoda glavnih komponent (PCA) z uporabo AS, ki so presegale prag senzorične zaznave, se je izkazala kot primerna za ločevanje vin, pridelanih v okviru posamezne vinifikacije na osnovi sort ali postopkov in včasih celo sort in postopkov skupaj, vendar le v okviru istega letnika. PCA primerjave istih sort ter različnih letnikov niso potrdile podobnosti rezultatov za sorti zelen in rebula.

Na osnovi rezultatov opravljenih raziskav torej lahko potrdimo naše delovne hipoteze:

- da so v vinih sort zelen, rebula in malvazija za oblikovanje vonja odločilne predvsem primarne in sekundarne AS v različnih razmerjih;
- da s postopki maceracije lahko v okviru iste sorte občutno spremenimo razmerja tako med primarnimi kot med sekundarnimi AS;
- da s postopki maceracije lahko pridelamo vina, ki se razlikujejo v okviru iste sorte glede vsebnosti fenolnih spojin in osnovnih kemijskih parametrov vina;
- da vsi postopki maceracije niso primerni za vse tri sorte;
- in da smo na osnovi končnih rezultatov vsebnosti AS in fenolnih spojin določili primernost posameznega postopka pridelave za uporabo v vinarstvu.

6 POVZETEK

6.1 POVZETEK

S postopki predelave grozdja pred alkoholno fermentacijo odločilno vplivamo na sestavo in kakovost belih vin. Eden najbolj poznanih postopkov je maceracija, podaljšan stik trdnega in tekočega dela grozdne jagode v kontroliranih razmerah. S tehnološkega stališča je maceracija že dolgo poznan proces, ki se je tradicionalno pogosteje uporabljal, a z novimi spoznanji ponovno pridobiva pomembno vlogo v pridelavi vina. Poleg že znanih vplivov na osnovne kemijske parametre vina, je dokazan tudi vpliv maceracije na aromatične spojine (AS). Maceracija na splošno poveča vsebnost primarnih prostih in vezanih oblik AS v moštu, kar pa ne pomeni tudi več prostih oblik v tako pridelanih vinih. Maceracija tudi spremeni sestavo mošta in tako vpliva na tvorbo sekundarnih fermentacijskih AS. Kot negativni vpliv maceracije na vino se izpostavlja večja vsebnost skupnih fenolnih spojin in hlapnih fenolov. Vpliv maceracije je bil največkrat proučevan prav v aromatičnih vinih, v katerih so prevladujoče primarne AS iz grozdja. Tržni trendi in zanimanje za nearomatične sorte so vzpodbudili raziskave tudi na vinih, v katerih ni prevladujočih primarnih AS. Tako je vonj vina teh sort sestavljen predvsem iz različnih primarnih in sekundarnih skupin AS, med katerimi prevladujejo višji alkoholi, estri, C₆ alkoholi in aldehidi, hlapni fenoli, terpeni in C₁₃ norizoprenoidi.

Glavni cilj izvedenih vinifikacij v letih 2008 in 2009 je bila določitev končne vsebnosti prostih AS v vinih, ki jih lahko pridelamo z enostavnimi postopki predelave grozdja, brez posebne dodatne opreme v vinski kleti. Pri tem smo proučevali vplive različnih postopkov maceracij, kot so hladna maceracija, dodatek grozdnih jagod v mošt med alkoholno fermentacijo, zamrzovanje grozdja ali drozge, maceracija drozge med alkoholno fermentacijo in delna karbonska maceracija. Rezultate postopkov maceracije smo vedno primerjali s kontrolnim postopkom za bela vina, torej klasično hitro predelavo belega grozdja. Vinifikacije smo izvajali na treh tradicionalno in tržno pomembnih sortah vinorodne dežele Primorska pri sortah zelen, rebula in malvazija. Predvsem za prvi dve sorti najdemo zelo malo podatkov o vsebnosti AS. Kvantitativno določitev 38 AS je omogočila kombinacija treh analiznih metod: HS-SPME-GC-MS, GC-FID in LLE-GC-MS. V okviru slednje je bila izvedena tudi obsežna validacija, ki je potrdila primernost za določanje vseh AS v postopku, z izjemo etil palmitata. Ovrednotenje senzorično pomembnejših AS na osnovi praga senzorične zaznave in združevanja AS po podobnih vplivih na vonj z vpeljavo pojma aktivna vonjalna vrednost (OAV) nam je omogočila poleg kvantifikacije tudi senzorično določanje sprememb po maceraciji.

Med primerjavo vin iz postopkov kontrole, hladne maceracije, dodatka 7 % jagod v mošt in zamrzovanja drozge (zelen) ali celega grozdja (rebula, malvazija) letnika 2008, smo potrdili vpliv maceracije na AS pri vseh treh sortah. Na osnovi podatkov o AS in njihovih OAV za sorti zelen in malvazija lahko potrdimo podobnost med postopkoma kontrole in dodatka 7 % jagod v mošt ter podobnost med postopkoma hladne maceracije in zamrzovanja. Med postopki maceracije sta se postopka hladne maceracije in zamrzovanja pokazala kot bolj uspešna za ekstrakcijo predvsem primarnih AS terpenov v vino in posledično vplivala na vonj po cvetlicah. V postopkih hladne maceracije in zamrzovanja

pri sortah zelen in malvazija se je tvorilo več hlapnih fenolov, ki so vplivali na vonj po fenolih in začimbah. V vinih rebula in malvazija je postopek zamrzovanja grozdja sprostil občutno več 1-heksanola in vplival na vonj po zelenem. Na osnovi meritev smo potrdili večjo aromatično kompleksnost vin pridelanih po postopkih hladne maceracije in zamrzovanja. Nasprotno sta postopka kontrole in dodatka 7 % jagod v mošt predvsem v sortah zelen in malvazija poudarila vonj po sadju in maščobah zaradi večje vsebnosti senzorično pomembnih estrov etil heksanoata, etil kaprilata, izoamil acetata in etil butirata. V sorti rebula smo določili manjšo vsebnost terpenov kot v sortah zelen in malvazija. Pri sorti rebula smo sicer potrdili pozitiven vpliv maceracije na vsebnost terpenov, a le v postopku zamrzovanja grozdja. Večji vpliv na vonj po cvetlicah pri sorti rebula v postopku hladne maceracije smo določili zaradi večjih vsebnosti 2-feniletanola in 2-feniletil acetata in ne vsebnosti terpenov. Ker smo pri sorti rebula določili večje koncentracije hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola, tako v postopku kontrole kot v postopku hladne maceracije, nismo mogli potrditi možnega negativnega senzoričnega vpliva hlapnih fenolov samo v maceriranih vinih. Splošno se je postopek zamrzovanja izkazal kot najbolj vpliven postopek maceracije, zaradi največjih vsebnosti terpenov in višjih alkoholov pri vseh sortah, C₆ alkoholov in aldehydov pri sortah rebula in malvazija in hlapnih fenolov pri sortah zelen in malvazija. Vsebnost skupnih fenolov se je povečala v vinih iz vseh postopkov maceracije. Pri sorti malvazija so bile razlike v vsebnostih skupnih fenolov med maceriranimi vini minimalne. Tudi največjo vsebnost skupnih fenolov v postopkih zamrzovanja (zelen) in dodatka jagod v mošt (rebula) smo ocenili kot relativno majhno in senzorično nezaznavno. Pokuševalci so za parametra vonj in celokupni vtis kot bolj všečna vina ocenili macerirana vina, le pri sorti zelen so kot najboljši vonj izbrali vina iz kontrolnega postopka.

Med primerjavo vin iz postopkov kontrole, dodatka 6 % jagod v mošt in dodatka 12 % jagod v mošt letnika 2009, smo potrdili vpliv maceracije na AS pri vseh treh sortah. Na osnovi podatkov o AS in njihovih OAV smo za sorti zelen in rebula določili pozitiven vpliv postopka dodatka 12 % jagod v mošt na vonj po sadju v primerjavi s postopkom kontrole zaradi večje vsebnosti senzorično pomembnih estrov etil heksanoata in etil butirata. Za sorti zelen in malvazija smo pri postopku dodatka 12 % jagod v mošt določili boljšo ekstrakcijo primarnih AS v primerjavi s postopkom kontrole in s tem predvsem pozitiven vpliv na vonj po cvetlicah. Za pozitiven vpliv na vonj po cvetlicah pri sorti rebula v postopku kontrole so bile odločilne večje vsebnosti 2-feniletanola in 2-feniletil acetata, ne pa vsebnost terpenov. Postopek dodatka 12 % jagod v mošt se je za sorti zelen in malvazija izkazal kot bolj vpliven postopek maceracije, zaradi največjih sprememb v razmerjih predvsem višjih alkoholov, terpenov in deloma hlapnih fenolov, v primerjavi s postopkom kontrole. Oba postopka dodatka jagod v mošt sta minimalno vplivala na vonj vina rebula, le v postopku dodatka 12 % jagod v mošt smo določili pozitiven vpliv na vonj po sadju. Večja vsebnost skupnih fenolov v postopkih dodatka jagod v mošt ni bila senzorično zaznavna. Pokuševalci so za parametra vonj in celokupni vtis kot bolj všečna ocenili macerirana vina, le pri sorti rebula so kot najboljši vonj izbrali vina iz kontrolnega postopka.

Med primerjavo vin iz postopkov kontrole, zamrzovanja drozge in zamrzovanja grozdja letnika 2009, smo potrdili vpliv maceracije na AS pri vseh treh sortah. Na osnovi podatkov o AS in njihovih OAV smo za sorte zelen, rebula in malvazija določili pozitiven vpliv

postopka zamrzovanja grozdja na vonj po sadju, v primerjavi s postopkom zamrzovanja drozge, zaradi večje vsebnosti senzorično pomembnih estrov etil heksanoata, etil kaprilata, izoamil acetata in etil butirata. Vpliv postopka zamrzovanja grozdja na vonj po sadju je bil s postopkom kontrole vsaj primerljiv (zelen) ali celo večji (rebula, malvazija). Isti postopek je pri sortah zelen in malvazija sprostil največ 1-heksanola in vplival na vonj po zelenem. Oba postopka zamrzovanja sta pozitivno vplivala na vonj po cvetlicah, zaradi obsežnejše ekstrakcije terpenov v primerjavi s kontrolnim postopkom. Za večji vpliv na vonj po cvetlicah pri sorti rebula v kontrolnem postopku je bila zopet odločilna vsebnost 2-feniletanola in 2-feniletil acetata. Z izjemo postopka zamrzovanja drozge pri sorti malvazija smo določili večji vpliv na vonj po topilih ali kemikalijah vedno pri postopku kontrole zaradi večje vsebnosti višjih alkoholov, predvsem 3-metilbutanola. Postopek zamrzovanja grozdja se je izkazal kot obetajoč v primerjavi s kontrolnim postopkom, zaradi primerljivega ali celo večjega vpliva na vonj po sadju zaradi ustrezne vsebnosti estrov, manjšega vpliva na vonj po topilu ali kemikalijah zaradi manjše vsebnosti višjih alkoholov in pozitivnega vpliva na vonj po cvetlicah in zelenem (zelen, malvazija) zaradi obsežnejše ekstrakcije primarnih AS. Tudi pri tej primerjavi postopkov je bil senzorični vpliv večje vsebnosti skupnih fenolov v maceriranih vinih nezaznaven. Najmanjše vsebnosti metanola smo določili v postopkih zamrzovanja drozge pri vseh treh sortah. Pokuševalci so za parameter celokupni vtis kot bolj všečna izbrali macerirana vina. Za parameter vonj so pri sorti zelen kot najbolj všečen izbrali kontrolni postopek, pri rebuli postopek zamrzovanja grozdja, pri malvaziji pa zaradi enakega povprečja tako postopek kontrole kot zamrzovanja grozdja.

Med primerjavo vin iz postopkov kontrole, maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije letnika 2009, smo potrdili vpliv maceracije na AS pri sortah rebula in malvazija. Na osnovi podatkov o AS in njihovih OAV smo tako za rebulo kot malvazijo določili pozitiven vpliv postopka kontrole na vonj po sadju zaradi največje vsebnosti senzorično pomembnih estrov etil heksanoata, etil kaprilata, izoamil acetata in etil butirata. Pri obeh postopkih maceracije je bila njihova vsebnost občutno manjša. Postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo se je za obe sorti izkazal kot najbolj izjemno uspešen postopek za ekstrakcijo primarnih AS, predvsem terpenov in C₆ alkoholov in aldehydov, ki so se pa izrazile samo v vplivu na vonj po cvetlicah. Večje koncentracije hlapnih fenolov 4-vinilgvajakola in 4-vinilfenola pri sorti rebula smo določili tako v postopku kontrole kot v postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo. Postopek delne karbonske maceracije se je, glede vpliva na vonj po topilih ali kemikalijah, pri sorti rebula izkazal kot vmesna stopnja obema drugima postopkoma. Pri sorti malvazija smo isto razmerje določili za vonj po sadju in cvetlicah. Postopek maceracije drozge med alkoholno fermentacijo je izrazilo povečal vsebnost skupnih fenolov v obeh sortah. Skupni fenoli so predvsem za sorto rebula v tem postopku imeli tudi negativni senzorični vpliv na grenkobo, trpkost in barvo vina. Tudi vsebnosti metanola v vinih po postopku maceracije drozge med alkoholno fermentacijo so se izrazilo povečale, tako v primerjavi s postopkom kontrole kot tudi z drugimi postopki maceracije v predhodnih vinifikacijah. Vsebnosti skupnih fenolov so bile v postopku delne karbonske maceracije primerljive s postopkom kontrole, vsebnosti metanola pa večje za sorto rebula in primerljive za sorto malvazija. Pokuševalci so za parametra vonj in celokupni vtis kot boljše ocenili vina iz kontrolnega postopka.

Metoda glavnih komponent PCA na AS se je izkazala kot primerna za ločevanje vin istega letnika pridelanih v okviru posamezne vinifikacije na osnovi sort ali postopkov in včasih celo sort in postopkov skupaj. PCA primerjave istih sort iz postopka kontrole ter različnih letnikov 2008 in 2009 niso potrdile podobnosti rezultatov za sorti zelen in rebula.

6.2 SUMMARY

The composition and quality of white wines mostly depend on the pre-fermentative winemaking procedures. Maceration (skin contact), a prolonged contact of liquid and solid parts of grape berry in controlled conditions, is one of the most widely accepted procedures. From the strictly technological point of view, it is a procedure with long tradition, but with recently discovered facts it has gained popularity. Together with widely known impacts on general wine composition, its influence on aromatic compounds (AC) was confirmed. Skin contact has generally a positive influence on primary varietal free and glycosidically bonded AC content in must, but they are not always correlated to higher quantities of free forms in wines. Skin contact is known to radically change the must composition and has a great impact on formation of secondary fermentative AC. Negative impacts of skin contact are mostly attributed to higher contents of total phenols and volatile phenols. The skin contact impact was commonly studied in aromatic wines, where primary varietal AC are present in great quantities. But market trends and renewed interest in non-aromatic varieties have encouraged studies in wines, where varietal AC are not predominating. Consequently, the odour of non-aromatic wines depends on the combination of different varietal and fermentative AC groups, mostly higher alcohols, esters, C₆ alcohols and aldehydes, volatile phenols, terpenes and C₁₃ norisoprenoids.

The main goal of vinifications performed in 2008 and 2009 was determination of final content of AC in free form in wines produced with simple winemaking procedures that do not need any additional investment in wine production equipment. The impact of different skin contact techniques, like cryomaceration (cold maceration), 6-12 % berry additions in must during alcoholic fermentation, freezing of pomace and whole grapes, pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration, was studied. Data obtained were always correlated to the control procedure, i.e. the classical vinification of white wines without skin contact. Vinification was performed on three traditionally and economically important varieties, i.e. Zelen, Ribolla Gialla and Malvasia Istriana, from the Primorska winegrowing region of Slovenia. In the first two varieties, only sporadic AC data were found. Quantitative determination of 38 AC was provided using the combination of three analytical methods, HS-SPME-GC-MS, GC-FID and LLE-GC-MS. For the last one, an extensive method validation was performed and it confirmed the qualification of the method for determination of AC without ester ethyl palmitate. Sensorially important AC evaluation based on odour thresholds and the same odour grouped AC combinations was introduced with odour activity value (OAV) term. Its use allowed determination of skin contact induced sensorial changes following the quantitative determination.

As wines from the procedures of control, cryomaceration, additions of 7 % berries in must and freezing of pomace (Zelen) and whole grapes (Ribolla Gialla) of the vintage 2008 were compared, skin contact induced changes on the AC were confirmed for all three varieties. Based on the AC content and their relative OAVs of the varieties Zelen and Malvasia

Istria, similarities between the procedures of control and berry additions and, on the other hand, between cryomaceration and freezing procedures can be confirmed. As skin contact procedures, cryomaceration and freezing proved to be more successful primarily in the extraction of varietal AC terpenes, with consequently positive impact on floral odour in wines. Higher quantities of volatile phenols with phenolic and spicy odour were determined in cryomaceration and freezing procedures for the varieties Zelen and Malvasia Istriana. In the varieties Ribolla Gialla and Malvasia Istriana the freezing procedure was found to be responsible for higher concentrations of 1-hexanol with green-herbaceous odour. Based on analytical data, higher complexity of wines from cryomaceration and freezing procedures was determined. In contrast to that, the procedures of control and berry additions encouraged the fruity and fatty odour in wines due to higher quantities of sensorially important esters like ethyl hexanoate, ethyl caprylate, isoamyl acetate and ethyl butyrate. Lower contents of terpenes were determined in Ribolla Gialla compared to varieties Zelen and Malvasia Istriana. The positive influence of maceration on terpene content in Ribolla Gialla was confirmed but only in the freezing procedure. 2-phenyl ethanol and 2-phenylethyl acetate proved to be more important than terpene concentrations for the impact on floral odour in the Ribolla Gialla wines. As higher quantities of volatile phenols 4-vinylguaiacol and 4-vinylphenol were determined in both the control and the cryomaceration procedure, the possible negative sensorial impact of volatile phenols can not be limited only to macerated wines. Generally, freezing has proved to be the most influential skin contact procedure, due to the highest terpene and higher alcohol quantities for all three varieties, C₆ alcohols and aldehydes in the varieties Ribolla Gialla and Malvasia Istriana and volatile phenols in the varieties Zelen and Malvasia Istriana. The total phenol content was increased in all skin contact wines. In the Malvasia Istriana skin contact wines the differences between procedures were minimal. Even the highest concentrations of total phenols in the procedures of freezing (Zelen) and berry additions in must (Ribolla Gialla) were evaluated rather low and not sensorial important. Skin contact wines were chosen by the assessors as wines preferred for two parameters, odour and overall impression, only for the variety Zelen, odour in the control procedure was selected.

When wines from control, additions of 6 % berries in must and additions of 12 % berries in the must of the vintage 2009 were compared, skin contact induced changes on AC were confirmed for all three varieties. Based on AC content and relative OAVs, beneficial influence of the procedure of 12 % berry additions on fruity odour in comparison to control was determined in the wines Zelen and Ribolla Gialla, due to higher quantities of sensorially important esters like ethyl hexanoate and ethyl butyrate. More effective extraction of primary varietal AC in comparison with the control and the positive influence on floral odour of the wines Zelen and Malvasia Istriana was confirmed in the same procedure. Again, 2-phenyl ethanol with 2-phenylethyl acetate and not terpenes were found responsible for a positive floral odour impact in the control procedure of the Ribolla Gialla wines. Addition of 12 % berries in the must was chosen as the most influential skin contact procedure for the varieties Zelen and Malvasia Istriana, due to the greatest changes in the concentrations of mostly higher alcohols, terpenes and partially volatile phenols compared to the control wines. Both procedures of berry addition in the Ribolla Gialla variety were found to have only a limited impact on wine aromatics, only in 12 % berry addition beneficial effects to fruity odour were detected. Higher total phenol content in the procedure of berry addition to must was found of no sensorial importance. Skin contact

wines were chosen by the assessors as preferred wines for odour and overall impression; only for the Ribolla Gialla variety odour in the control procedure was selected.

Wines from the procedure of control, freezing of pomace and freezing of whole grapes in the vintage 2009 were compared and skin contact induced changes were analytically confirmed for all three varieties. Based on AC content and relative OAVs, beneficial influence on fruity odour of the procedure of freezing grapes in comparison with pomace freezing was determined in the wines Zelen, Ribolla Gialla and Malvasia Istriana due to higher quantities of sensorially important esters like ethyl hexanoate, ethyl caprylate, isoamyl acetate and ethyl butyrate. The influence of grape freezing on fruitiness was found to be at least as effective as the control procedure (Zelen) if not even more so (Ribolla Gialla, Malvasia Istriana). The same procedure was found to be responsible for the highest quantities of 1-hexanol with green-herbaceous odour in the Zelen and Malvasia Istriana wines. Both freezing procedures were able to extract higher quantities of terpenes compared to the control. Again, 2-phenyl ethanol and 2-phenylethyl acetate were found determinative for the floral odour impact in the control procedure of the variety Ribolla Gialla. With the exception of the pomace freezing procedure in the variety Malvasia Istriana, positive impact on solvent-chemical odour has always been determined in control wines due to the highest concentrations of higher alcohols, mostly 3-methyl butanol. Grape freezing was found to be a promising procedure when compared to control because of comparable or even higher fruity odour impact due to ester concentration, minor solvent-chemical impact due to lower concentrations of higher alcohols and positive floral and green-herbaceous impact (Zelen, Malvasia Istriana) due to extensive varietal AC extraction. Again, in the comparison of these procedures, higher concentrations of total phenols in the skin contact wines were found sensorially imperceptible. The lowest concentrations of methanol were determined in pomace freezing procedures for all three varieties. Skin contact wines were chosen by the assessors as preferred wines for overall impression. For odour evaluations, the control procedure was selected for the variety Zelen, grape freezing was selected for the variety Ribolla Gialla and for the variety Malvasia Istriana, control and grape freezing procedures scored equally high.

At the comparison of wines from control, pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration in the vintage 2009, skin contact induced changes on AC were confirmed for both varieties, Ribolla Gialla and Malvasia Istriana. Based on AC content and relative OAVs, beneficial influence of control procedure on fruity odour was determined in the wines Ribolla Gialla and Malvasia Istriana due to the highest quantities of sensorially important esters like ethyl hexanoate, ethyl caprylate, isoamyl acetate and ethyl butyrate. In both maceration procedures lower ester contents were found. Pomace maceration during alcoholic fermentation proved to be an extremely successful procedure for primary varietal AC extraction, mainly terpenes and C₆ alcohols and aldehydes, which were expressed only in the impact on floral odour. Higher quantities of volatile phenols 4-vinylguaiacol and 4-vinylphenol were determined in both the control and the pomace maceration during the procedures of alcoholic fermentation. Partial carbonic maceration was found to be an intermediate procedure between the other two procedures as far as its solvent-chemical odour impact in the variety Ribolla Gialla is concerned. The same relation was detected for both floral and fruity odour impact in the Malvasia Istriana wines. Pomace maceration during the alcoholic fermentation procedure

had radically increased the total phenol content in both varieties. Negative sensorial impact on astringency, bitterness and wine colour due to total phenols was observed for the Ribolla Gialla wines made by this procedure. Also, the methanol content in wines made by the procedure of pomace maceration during alcoholic fermentation has radically increased if compared to the control as well as all other skin contact procedures in the previous vinifications. The total phenol content in the partial carbonic maceration procedures was comparable to the control while the methanol content was higher in the variety Ribolla Gialla and comparable in Malvasia Istriana. Only control wines were chosen by the assessors as preferred wines for odour and overall impression.

Principal component analysis (PCA) of AC was found to be an effective method for the separation of the same vintage wines based on the variety or the procedure and sometimes even both the variety and the procedures together. PCA comparison of 2008 and 2009 control procedures did not confirm similarities between vintages for the varieties Zelen and Ribolla Gialla.

7 VIRI

- Agosin E., Belancic A., Ibacache A., Baumes R., Bordeu E., Crawford A., Bayonove C. 2000. Aromatic potential of certain Muscat grapes varieties important for Pisco production in Chile. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51, 4: 404-408.
- Arevalo Villena M., Diez Perez J., Ubeda J.F., Navascues E., Briones, A.I. 2006. A rapid method for quantifying aroma precursors: Application to grape extract, musts and wines made from several varieties. *Food Chemistry*, 99, 1: 183-190.
- Arevalo Villena M., Ubedo Iranzo J., Briones Perez A. 2007. Enhancement of aroma in white wines using a beta-glucosidase preparation from *Debaryomyces pseudopolymorphus*. *Food Biotechnology*, 21, 2: 181-194.
- Arnold R.A., Noble A.C. 1979. Effect of pomace contact on the flavor of Chardonnay wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30, 3: 179-181.
- Aryan A.P., Wilson B., Strauss C.R., Williams P.J. 1987. The properties of glycosidases of *Vitis vinifera* and comparison of their β -glucosidases activity with that of exogenous enzymes. An assessment of possible applications in enology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 3: 182-188.
- Augustyn O.P.H., Rapp A., Van Wyk C.J. 1982. Some volatile aroma compounds in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 3, 2: 53-60.
- Ayrapaa T. 1971. Biosynthetic formation of higher alcohols by yeast: Dependence on the nitrogenous nutrient level of the medium. *Journal of the Institute of Brewing*, 77, 3: 266-276.
- Batagelj V. 2009. Metoda glavnih komponent. Ljubljana, Fakulteta za matematiko in fiziko: 16 str.
<http://vlado.fmf.uni-lj.si/vlado/podstat/Mva/PCA.pdf> (oktober 2010)
- Bavčar D. 2009. Kletarjenje danes. 2. izd. Ljubljana, Kmečki glas: 286 str.
- Bayonove C., Cordonnier R., Dubois P. 1975. Study of an aromatic characteristic fraction of Cabernet Sauvignon grape variety, identification of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine. Etude d'une fraction caracteristique de l'arome du raisin de la variete Cabernet Sauvignon: Mise en evidence de la 2-methoxy-3-isobutylpyrazine. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Serie D. Sciences de la Vie*, 281, 1: 75-78.
- Bayonove C., Gunata Z., Sapis J.C., Baumes R.L., Dugelay I., Grassin C. 1993. L'aumento degli aromi nel vino mediante l'uso degli enzimi. *Vignevini*, 10, 9: 33-36.

- Benard P., Bourzeix M., Buret M., Flanzly C., Mourgues J. 1971. Methode de vinification par maceration carbonique. *Annales de Technologie Agricole*, 20, 2-3: 199-215.
- Biron C., Cordonnier R., Glory O., Günata, Z., Sapis J.C. 1988. Etude, dans le raisin, de l'activité β -glucosidases. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 22, 2: 125-134.
- Bitteur S., Tesniere C., Fauconnet A., Bayonove C., Flanzly C. 1996. Carbonic anaerobiosis of Muscat grape. 2. Changes in the distribution of free and bound terpenols. *Sciences des Aliments*, 16, 1: 37-48.
- Bitteur S., Tesniere C., Sarris J., Baumes R., Bayonove C., Flanzly C. 1992. Carbonic anaerobiosis of Muscat grape. 1. Changes on the profiles of free and bound volatiles. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43, 1: 41-48.
- Boidron J.N., Leveque F., Bertrand A. 1989. I derivati terpenici e l'aroma delle uva e dei vini. *Vini d' Italia*, 30, 1: 37-43.
- Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E. 1998. Principles and practices of winemaking. Gaithersburg, Maryland, Aspen Publishers, Inc: 604 str.
- Boursiquot J.M., Sapis J.C., Macheix J.J. 1986. Application of hydroxycinnamic ester determinations to taxonomy problems in *Vitis* genus. Les esters hydroxycinnamiques chez le genre du *Vitis*. Essais d'application taxonomique premiers resultats. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Serie 3, Sciences de la Vie*, 302, 6: 177-180.
- Cabaroglu T., Canbas A., Baumes R., Bayonove C., Lepoutre J.P., Günata Z. 1997. Aroma composition of white wine of *Vitis vinifera* L. cv. Emir as affected by skin contact. *Journal of Food Science*, 62, 4: 680-683.
- Cabaroglu T., Selli S., Canbas A., Lepoutre J.P. 2003. Wine flavour enhancement through the use of exogenous fungal glycosidases. *Enzyme and Microbial Technology*, 33, 5: 581-587.
- Cabredo Pinillos S., Cedron Fernandez T., Saent Barrio C. 2004. Comparison of different extraction methods applied to volatile compounds in wine samples previous the determination by gas chromatography. *Analytical Letters*, 37, 14: 3063-3084.
- Cabrera M.J., Moreno J., Ortega M.J., Medina M. 1988. Formation of ethanol, higher alcohols, esters and terpenes by five yeast strains in must from Pedro Ximenez grapes in various degrees of ripeness. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39, 4: 283-287.
- Cabrita M.J., Costa Freitas A.M., Laureano O., Di Stefano R. 2006. Glycosidic aroma compounds of some Portuguese grape cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 6: 922-931.

- Carrau F.M., Medina K., Boido E., Farina L., Gaggero C., Dellacassa E., Versini G., Henschke P. A. 2005. De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *FEMS Microbiology Letters*, 243, 1: 107-115.
- Carroll D.E. 1986. Effects of carbonic maceration on chemical, physical and sensory characteristics of muscadine wines. *Journal of Food Science*, 51, 5: 1195-1252.
- Chapman D.M., Thorngate J.H., Matthews M. A., Guinard J. X., Ebeler S. E. 2004. Yield effects on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine concentration in Cabernet Sauvignon using a solid phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 17: 5431-5435.
- Chatonnet P., Barbe C., Canal Llauberes R.M., Dubourdieu D., Boidron J.N. 1992. Incidences de certaines préparations pectolytiques sur le teneur en phénols volatils des vins blancs. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 26, 4: 253-269.
- Chatonnet P., Boidron J.N. 1988. Dosage de phénols volatils dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. *Sciences des Aliments*, 8, 4: 479-488.
- Chatonnet P., Boidron J.N., Pons M. 1990. Élevage des vins rouges en fûts de chêne, Évolution de certains composés volatils et leur impact aromatique *Sciences des Aliments*, 10, 3: 565-587.
- Chatonnet P., Dubourdieu D., Boidron J.N., Lavigne V. 1993. Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62, 2: 191-202.
- Chatonnet P., Dubourdieu D., Boidron J.N., Pons M. 1992a. The origins of ethylphenols in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60, 2: 165-178.
- Chauvet S., Sudraud P., Jouan T. 1986. La cryoextraction sélective des moûts. *Revue des Œnologues*, 39: 17-22.
- Chavez M., Zea L., Moyano L., Medina M. 2007. Changes in color and odorant compounds during oxidative aging of Pedro Ximenez sweet wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9: 3592-3598.
- Clarke R.J., Bakker J. 2004. *Wine flavour chemistry*. Oxford, Blackwell Publishing Ltd.: 324 str.
- Commission Regulation (EEC), No. 2676/90 of 17 September 1990 determining Community methods for the analysis of wines. 1990. *Official Journal of the European Communities*, 33, L 272: 1-129.

- Commission Regulation (EC), No. 355/2005 of 28 February 2005 amending Regulation (EEC) No. 2676/90 determining Community methods for the analysis of wines. 2005. Official Journal of the European Union, 48, L 56: 3-7.
- Cordonnier R.E., Gunata Y.Z., Baumes R.L., Bayonove C.L. 1989. Recherche d'un matériel enzymatique adapté à l'hydrolyse des précurseurs d'arôme de nature glycosidique du raisin. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 23, 1: 7-21.
- Crouzet J. 1986. Les enzymes et l'arome des vins. *Revue Francaise d'Oenologie*, 26, 102: 42-49.
- Čuš F., Baša Česnik H. 2009. Povezava med koncentracijo nekaterih prostih terpenov in senzorično kakovostjo vina. V: *Vinarski dan*, Ljubljana, 16. november 2009. Čuš F., Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 5-18.
- D'Agostino S., Papucci A., Riotto M.R., Miciletta G., Dugo P. 1999. Biotechnologie volte all' esaltazione degli aromi varietali del vino secco della cv. Moscato d'Alessandria. *Vignevini*, 26, 11: 104-107.
- Darriet P.H., Boidron J.N., Dubourdieu D. 1988. L' hydrolyse des hétérosides terpéniques du Muscat a petit grains par les enzymes périplasmiques de *Saccharomyces cerevisiae*. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 22, 3: 189-195.
- Darriet P.H., Tominaga T., Demole E., Dubourdieu D. 1993. Evidence of the presence of a 4-mercapto-4-methylpentan-2-one precursors in *Vitis vinifera* cv. Sauvignon grapes. Mise en évidence dans le raisin de *Vitis vinifera* L. (var. Sauvignon) d'un précurseur de la 4-méthyl-4-mercaptopentan-2-one. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Serie 3, Sciences de la Vie*, 316, 11: 1332-1335.
- Delcroix A., Günata Z., Sapis J.S., Salmon J.M., Bayonove C. 1994. Glycosidase activities of three enological yeast strains during winemaking: Effect on the terpenol content of muscat wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 3: 291-296.
- De Rosa T. 1993. *Technologia dei vini bianchi*. Brescia, Edizione AEB: 597 str.
- Di Stefano R., Guidoni S. 1989. The analysis of total polyphenols in musts and wines. *Vignevini*, 16, 1-2: 47-52.
- Di Stefano R., Maggiorotto G., Meila V., Di Bernardi, D., Speracio A., Fina B., Sparla S. 1995. Evoluzione dei composti terpenici durante il processo di appassimento dell' uva Zibibbo di Pantelleria. *L'Enotecnico*, 30, 11: 73-84.
- Dourtoglou V.G., Yannovits N.G., Tychopoulos V.G., Vamvakis M.M. 1994. Effect of storage under CO₂ atmosphere on the volatile, amino acid and pigment constituents in the red grape (*Vitis vinifera* L. var Agiorgitiko). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2: 338-344.

- Dubourdieu D., Ollivier C., Boidron J.N. 1986. Incidence des opérations préfermentaires sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins blancs secs. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 20, 1: 53-76.
- Ducruet V. 1984. Comparison of the headspace volatiles of carbonic maceration and traditional wine. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 17, 4: 217-221.
- Dugelay I., Günata J.C., Sapis R., Baumes C., Bayonove C. 1992. Etude de l'origine du citronellol dans les vins. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 26, 3: 177-184.
- Dugelay I., Günata Z., Sapis J.C., Baumes R., Bayonove C. 1993. Role of cinnamolly esterase activities from enzyme preparations on formation of volatile phenols during winemaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 11: 2093-2096.
- Enzel C.R. 1985. Biodegradation of carotenoids - an important route to aroma compounds. *Pure and Applied Chemistry*, 57, 5: 693-700.
- Etievant P.X. 1993. Wine. V: Volatile compounds in food and beverages. Maarse H. (ed.). New York, Marcel Dekker: 483-545.
- Etievant P.X., Issanchou S.N., Bayonove C.L. 1983. The flavour of Muscat wine: The sensory contribution of some volatile compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 5: 497-504.
- Fernandez Gonzales M., Di Stefano R. 2004. Fractionation of glycoside aroma precursors in neutral grapes. Hydrolysis and conversion by *Saccharomyces cerevisiae*. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 37, 4: 467-473.
- Fernandez Gonzalez M., Di Stefano R., Briones A. 2003. Hydrolysis and transformation of terpene glycosides from Muscat must by different yeast species. *Food Microbiology*, 20, 1: 35-41.
- Ferreira V., Fernandez P., Pena C., Escudero A., Cacho J.F. 1995. Investigation of the role played by fermentation esters in the aroma of young Spanish wines by multivariate analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67, 3: 381-392.
- Ferreira V., Lopez R., Escudero A., Cacho J.F. 1998. Quantitative determination of trace and ultratrace active compounds in red wines through gas chromatographic ion trap mass spectrometric analysis of microextracts. *Journal of Chromatography A*, 806, 2: 349-354.
- Ferreira V., Lopez R., Escudero A., Cacho J.F. 1998a. The aroma of Grenache red wine: Hierarchy and nature of its main odorants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 2: 259-267.

- Flanzy C., Flanzy M., Benard P. 1987. La vinification par macération carbonique. 2^e ed. Paris, INRA Editions: 126 str.
- Folin O., Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *Journal of Biological Chemistry*, 12: 239-243.
- Fregoni M., Iacono F. 1986. L'epoca della vendemmia in funzione del tipo di vino che si desidera ottenere. *Vini d'Italia*, 3: 21-27.
- Garcia Moruno E., Ribaldone M., Di Stefano R. 2000. Hydrolysis of terpene glycosides of grape skins in the preparation of base musts from aromatic red-berried grapes. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 53, 1: 27-36.
- Gerbi V., Zeppa G., Manara C., Minati J.L. 1991. Esperienze di macerazione a freddo con uve Moscato. *L'Enotecnico*, 27, 12: 57-66.
- Grando M.S., Versini G., Nicolini G., Mattivi F. 1993. Selective use of wine yeast strains having different volatile phenols production. *Vitis*, 32, 11: 43-50.
- Günata Y.Z. 1994. Etude et exploitation par voie enzymatique des précurseurs d'arômes du raisin de nature glycosidique. *Revue des Œnologues*, 74: 22-27.
- Günata Y.Z., Baynove C., Baumes R., Cordonnier R. 1985. The aroma of grapes. Localization and evolution of free and bound fractions of some grape aroma components cv. Muscat during maturation of the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 9: 857-862.
- Günata Y.Z., Baynove C., Baumes R., Cordonnier R. 1985a. The aroma of grapes. 1. Extraction and determination of free and glicosidically bound fractions of some grape components. *Journal of Chromatography A*, 331, 1: 83-90.
- Günata Y.Z., Baynove C., Baumes R., Cordonnier R. 1986. Stability of free and bound fractions of some aroma compounds of grapes cv. Muscat during wine processing: preliminary results. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 2: 112-114.
- Günata Y.Z., Biron C., Sapis J.C., Bayonove C. 1989. Glucosidases activities in sound and rotten grapes in relation to hydrolysis of grape monoterpenyl glycosides. *Vitis*, 28, 4: 191-197.
- Günata Y.Z., Bitteur S., Brioullet, J.M., Baumes R., Bayonove C. 1988. Sequential enzymatic hydrolysis of potentially aromatic glycosides from grape. *Carbohydrates Research*, 184: 139-149.
- Günata Y.Z., Dugelay I., Sapis J.C., Baumes R., Bayonove C. 1990. Action des glycosidases exogènes au cours de la vinification: liberation de l'arome a partir de précurseurs glycosidiques. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 24, 3: 133-144.

- Guth H. 1997. Quantitation and sensory studies of character impact odorants on different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 8: 3027-3032.
- Guymon J.F., Heitz J.E. 1952. Fusel oil content of Californian wines. *Food Technology*, 6, 11: 359-362.
- Guymon J.F., Ingraham J.L., Crowell E.A. 1961. The formation of n-propyl alcohol by *Saccharomyces cerevisiae*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 95, 1: 163-168.
- Hazelwood L.A., Daran J.M., van Maris A.J.A., Pronk J.T., Dickinson J.R. 2008. The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on yeast metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 8: 2269-2266.
- Herrero O., Ramon D., Orejas M. 2008. Engineering the *Saccharomyces cerevisiae* isoprenoid pathway for de novo production of aromatic monoterpenes in wine. *Metabolic Engineering*, 10, 2: 78-86.
- Houtman A.C., Marais J., Du Plessis C.S. 1980. The possibilities of applying present day knowledge of wine aroma components: Influence of several juice factors on fermentation rate and ester production during fermentation. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 1, 1: 27-33.
- Howard K.L., Mike J.H., Reisen R. 2005. Validation of a solid phase microextraction method for headspace analysis of wine aroma components. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56, 1: 37-45.
- Jackson R.S. 2000. *Wine science: Principles, practice, perception*. 2nd ed. San Diego, Academic Press: 648 str.
- Jackson R.S. 2009. *Wine tasting: A professional handbook*. 2nd ed. San Diego, Academic Press: 487 str.
- Jurado J.F., Pinilla M.J., Ballesteros M.A., Perez Coello M.S., Cabezudo M.D. 2001. Características varietales de los vinos Moscatel de grano menudo y Albillo en comparación con los Moscatel de Alejandria y los Chardonnay. *Tecnología del Vino*, 2: 57-64.
- Kahnt C. 1967. *Trans-cis* equilibrium of hydroxycinnamic acids during irradiation of aqueous solutions at different pH. *Phytochemistry*, 6, 5: 755-755.
- Killian E., Ough C.S. 1979. Fermentation esters formation and retention as affected by fermentation temperature. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30, 4: 301-305.

- Koblet W., Candolfi Vasconcelos M.C., Zweifel W., Howell G.S. 1994. Influence of leaf removal, rootstock and training system on yield and fruit composition of Pinot Noir grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 2: 118-186.
- Kovačević Ganić K., Peršurić D., Gluhić D., Banović M., Komes D., Gracin L., Lovrić T. 2005. Aroma precursors of Malvasia Istriana wine. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 58, 2-4: 99-108.
- Lao C.L., Lopez Tamames E., Lamuela Raventos R.M., Buxaderas S., De la Torre Boronat M.C. 1997. Pectic enzyme treatment effects on quality of white grape musts and wines. *Journal of Food Science*, 62, 6: 1142-1149.
- Lecas M., Günata Y.Z., Sapis J.C., Bayonove C. 1991. Purification and some properties of β -glucosidase from grape. *Phytochemistry*, 30, 2: 451-454.
- Lee C.Y., Jaworski A.W. 1978. Phenolic compounds in white grapes grown in New York. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 4: 277-281.
- Lukić I., Plavša T., Sladonija B., Radeka S., Peršurić D. 2008. Aroma compounds as markers of wine quality in the case of Malvazija Istarska young wine. *Journal of Food Quality*, 31, 6: 717-735.
- Marais J. 1983. Terpenes in the aroma of grapes and wines: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 4, 2: 49-58.
- Marais J. 1987. Terpenes in grape juice and wine: Effect of heat treatment and skin contact. V: *Frontiers of flavour. Proceedings of the 5th International Flavor Conference. Porto Karras, Chalkidiki July 01-03, 1987.* Charalambous G. (ed.). Amsterdam, Elsevier Science Publishers: 783-798.
- Marais J., Rapp A. 1988. Effect of skin contact time and temperature on juice and wine composition and wine quality. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 9, 1: 22-30.
- Marcheix J.J., Fleuriot A., Billot J. 1990. *Fruit phenolics*. 1st ed. Boca Raton, CRC Press: 20-39.
- Marinos V.A., Tate M.E., Williams P.J. 1994. Protocol for FAB MS/MS characterization of terpene disaccharides of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 11: 2486-2492.
- Marti M.P., Mestres M., Sala C., Busto O., Guasch J. 2003. Solid phase microextraction and gas chromatography olfactometry analysis of successively diluted samples. A new approach to the aroma extract dilution analysis applied to the characterization of wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 27: 7861-7865.

- Masuda J., Okawa E., Nishimura K., Yunome H. 1984. Identification of 4,5-dimethyl-2(5H)-furanone (sotolon) and ethyl 9-hydroxynonanoate in botrytised wine and evaluation of the roles of compounds characteristic of it. *Agricultural and Biological Chemistry*, 48, 11: 2707-2710.
- Mateo J.J., Jimenez M. 2000. Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography A*, 881, 1-2: 557-567.
- Mattivi F., Nicolini G. 1997. Analysis of polyphenols and resveratrol in Italian wines. *BioFactors*, 6, 4: 445-448.
- Mestres M., Busto O., Guasch J. 1998. Headspace solid phase microextraction analysis of volatile sulphides and disulphides in wine aroma. *Journal of Chromatography A*, 808, 1-2: 211-218.
- Moio L., Chambellant E., Lasschaeve I., Issanchau S., Schlich P., Etievant P.X. 1995. Production of representative wine extracts for chemical and olfactory analysis. *Italian Journal of Food Sciences*, 7, 3: 265-278.
- Moio L., Ugliano M., Gambuti A., Genovese A., Piombino P. 2004. Influence of clarification treatment on concentrations of selected free varietal aroma compounds and glycoconjugates in Falanghina (*Vitis vinifera* L.) must and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55, 1: 7-12.
- Montedoro G., Fantozzi P., Bertuccioli M. 1974. Essais de vinification de raisins blancs avec macération a basse température et macération carbonique. *Annales de Technologie Agricole*, 23, 1: 75-95.
- Moreno J.A., Zea L., Moyano L., Medina M. 2005. Aroma compounds as markers of the changes in sherry wines subjected to biological ageing. *Food Control*, 16, 4: 333-338.
- Moyano L., Zea L., Moreno J.A., Medina M. 2002. Analytical study of aromatic series in sherry wines subjected to biological ageing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 25: 7356-7361.
- Moyano L., Zea L., Villafuerte L., Medina M. 2009. Comparison of odor-active compounds in sherry wines processed from ecologically and conventionally grown Pedro Ximenez grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3: 968-973.
- Mullen W., Marks S.C., Crozier A. 2007. Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juices and fruit drinks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8: 3148-3157.
- Muller C.J., Kepnber R.E., Webb A.D. 1973. Lactones in wines-a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 24, 1: 5-9.

- Nykanen L. 1986. Formation and occurrence of flavour compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture* 37, 1: 84-96.
- Ollivier C., Stonestreet T., Larue F., Dubourdieu D. 1987. Incidence de la composition colloïdale des moûts blancs sur leur fermentescibilité. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 21, 1: 59-70.
- Ong B.Y., Nagel C.W. 1978. Hydroxycinnamic acid-tartaric acid ester content in mature grapes and during the maturation of white Riesling grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29, 4: 277-281.
- Ortega Heras M., Gonzales san Jose M. L., Belatran S. 2002. Aroma composition of wine studied by different extraction methods. *Analytica Chimica Acta*, 458, 1: 85-93.
- Ough C.S., Amerine M. A. 1980. *Methods for analysis of musts and wines*. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons: 377 str.
- Peinado R.A., Moreno J.A., Munoz D., Medina M., Moreno J. 2004. Gas chromatographic quantification of major volatile compounds and polyols in wine by direct injection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 21: 6389-6393.
- Peinado R.A., Moreno J., Bueno J.E., Moreno J.A., Mauricio J. C. 2004a. Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, 84, 4: 585-590.
- Pena R.M., Barciela J., Herrero C., Garcia Martin S. 2005. Optimization of solid phase microextraction method for GC MS determination of terpenes in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 7: 1227-1234.
- Peynaud E., Guimberteau G. 1962. Modification de la composition des raisins au cours de leur fermentation propre en anaerobiose. *Annales de Physiologie Vegetale de l'Universite de Bruxelles*, 4, 2: 161-167.
- Pogorzelski E., Wilkowska A. 2007. Flavour enhancement through the enzymatic hydrolysis of glycosidic aroma precursors in juices and wine beverages: a review. *Flavour and Fragrance Journal*, 22, 4: 251-254.
- Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za pridelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43: 5336-5357.
- Prosen H., Janeš L., Strlič M., Rusjan D., Kočar D. 2007. Analysis of free and bound aroma compounds in grape berries using headspace solid phase microextraction with GC MS and preliminary study of solid phase extraction with LC MS. *Acta Chimica Slovenica*, 54, 1: 25-32.

- Prosen H., Zupančič Kralj L. 1999. Solid phase microextraction. Trends in Analytical Chemistry, 18, 4: 272-282.
- Radeka S. 2005. Maceracija masulja i primarne arome vina malvazije istarske. Doktorska disertacija. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet: 116 str.
- Ramey D., Bertrnad A., Ough C.S., Singleton V.L., Sanders E. 1986. Effects of skin contact temperature on Chardonnay must and wine composition. American Journal of Enology and Viticulture, 37, 2: 99-106.
- Ramey D., Ough C.S. 1980. Volatile ester hydrolysis or formation during storage of model solutions and wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28, 5: 928-934.
- Rankine B.C. 1967. Formation of higher alcohols by wine yeasts, and relationship to taste thresholds. Journal of the Science of Food and Agriculture, 18, 12: 584-589.
- Rankine B.C., Fornachon J.C.M., Bridson D.A. 1969. Diacetyl in Australian dry red table wines and its significance in wine quality. Vitis, 8, 2: 129-134.
- Rapp A., Hastrich H., Engel L. 1976. Gaschromatographische Untersuchungen uber du Aromastoffe von Weinbeeren. Anreicherung und Kapillar Chromatographische Auftrennung. Vitis, 15, 1: 29-36.
- Rapp A., Mandery H. 1986. Wine aroma. Experientia, 42: 873-884.
- Rapp A., Versini G. 1996. Vergleichende Untersuchungen zum Gehalt von Methylanthranilat (Foxton) in Weinen von neueren pilzresistenten Rebsorten und *Vitis vinifera*-Sorten. Vitis, 4, 35: 215-216.
- Reynolds A.G., Wardle D.A., Dever M. 1993. Terpene response to pressing, harvest date, skin contact in *Vitis vinifera*. Horticultural Science, 28, 9: 920-924.
- Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraut P. 1976. Traite d'oenologie. Sciences et techniques du vin. Vol. 3: Vinifications. Transformations du vin. Paris, Dunot: 720 str.
- Ribéreau-Gayon P. 1965. Identification d'esters des acides cinnamiques et de l'acide tartrique dans des limbes et les baies de *V. vinifera*. Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, 260: 341-343.
- Ribéreau-Gayon P. 1972. Plant phenolics. New York, Hafner Publishing Company: 254 str.
- Ribéreau-Gayon P., Boidron J.N., Terrier A. 1975. Aroma of muscat grape varieties. Journal of Agricultural Food and Chemistry, 23, 6: 1042-1046.

- Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A. 2006. Handbook of enology. Volume 1: The microbiology of wine and vinifications. 2nd ed. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd.: 497 str.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2006a. Handbook of enology. Volume 2: The chemistry of wine. 2nd ed. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd.: 441 str.
- Rigo A., Vianello F., Clementi G., Rosetto M., Scarpa M., Vrhovsek U., Mattivi F. 2000. Contribution of the proanthocyanidins to the peroxi-radical scavenging capacity of some Italian red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6: 1996-2002.
- Rocha S.M., Coutinho P., Barros A., Coimbra M.A. 2007. Establishment of the varietal volatile profile of musts from white *Vitis vinifera* L. varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 1667-1676.
- Rocha S.M., Coutinho P., Delgadillo I., Cardoso A.D., Coimbra M. A. 2005. Effect of enzymatic aroma release on the volatile compounds of white wines presenting different aroma potentials. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2: 199-205.
- Rocha S.M., Rodrigues F., Coutinho P., Delgadillo I., Cardoso A.D., Coimbra M.A. 2004. Volatile composition of Baga red wine. Assessment of the identification of the would be impact odorants. *Analytica Chimica Acta*, 513, 1: 257-262.
- Rodriguez Bencomo J.J., Conde J.E., Rodriguez Delgado M.A., Garcia Montelongo F., Perez Trujillo J.P. 2002. Determination of esters in dry and sweet white wines by headspace solid phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 963, 1-2: 213-223.
- Rodriguez Bencomo J.J., Mendez Siverio J.J., Perez Trujillo J.P., Cacho J. 2008. Effect of skin contact on bound aroma and free volatiles of Listan blanco wine. *Food Chemistry*, 110, 1: 214-225.
- Roufet M., Bayonove C.L., Cordonnier R.M. 1986. Changes in fatty acids from grape lipidic fractions during crushing exposed to air. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 3: 2002-3883.
- Salinas M.R., Alonso G.L., Pardo F., Bayonove C. 1998. Free and bound volatiles of Monastrell wines. *Sciences des Aliments*, 18, 2: 223-231.
- Sanchez Palomo E., Diaz Maroto Hidalgo M.C., Gonzalez Vinas M.A., Perez Coello M.S. 2005. Aroma enhancement in wines from different grape varieties using exogenous glycosidases. *Food Chemistry*, 92, 4: 627-635.

- Sanchez Palomo E., Diaz Maroto M.C., Perez Coello M.S. 2005a. Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS SPME coupled with GC MS. *Talanta*, 66, 5: 1152-1157.
- Sanchez Palomo E., Gonzales Vinas, M.A., Diaz Maroto M.C., Soriano Perez A., Perez Coello M.S. 2007. Aroma potential of Albillo wines and effect of skin – contact treatment. *Food Chemistry*, 103, 2: 631-640.
- Sanchez Palomo E., Perez Coello M.S., Diaz Maroto M.C., Gonzales Vinas M.A., Cabezudo M.D. 2006. Contribution of free and glycosidically – bound volatile compounds to the aroma of muscat »a petit grains« wines and effect of skin – contact treatment. *Food Chemistry*, 95, 2: 279-289.
- Sapis J.C., Caboulet D., Samson A., Chauvet S. 1995. Le traitement des raisins blancs par supraextraction: incidence sur les caracteristiques et la qualitedes vins. White grapes treatment by supraextraction: effects on characteristics and quality of wine. *Revue Francaise d'Oenologie*, 153, 35: 55-56.
- Schneider R., Baumes R.L., Bayonove C.L., Razungles A. 1998. Volatile components involved in the aroma of sweet fortified wines (vins doux naturels) from Grenache noir. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 8: 3230-3237.
- Schneider R., Charrier F., Moutonuet M., Baumes R. 2004. Rapid analysis of grape aroma glycoconjugates using Fourier-transform infrared spectrometry and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta*, 513, 1: 91-96.
- Schreirer P., Drawert F., Junker A. 1976. Identification of volatile constituents from grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 24, 2: 331-336.
- Sefton M.A., Francis I.L., Williams P.J. 1993. The volatile composition of Chardonnay juices: A study by flavor precursor analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 4: 359-370.
- Sefton M.A., Skouroumounis G.K., Massy Westropp R.A., Williams E.J. 1989. Norisoprenoids in *Vitis vinifera* white wine grapes and the identification of a precursor of damascenone in these fruits. *Australian Journal of Chemistry*, 42, 12: 2071-2084.
- Selli S., Cabaroglu T., Canbas A., Erten H., Nurgel C. 2003. Effect of skin contact on the aroma composition of the musts of *Vitis vinifera* L. cv. Muscat of Boronova and Narice grown in Turkey. *Food Chemistry*, 81, 3: 341-347.
- Selli S., Canbas A., Cabaroglu T., Erten H., Gunata Z. 2006. Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment. *Food Chemistry*, 94, 3: 319-326.

- Silva Ferreira A.C., Guedes de Pinho P. 2003. Analytical method for determination of some aroma compounds on white wines by solid phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Food Science*, 68, 9: 2817-2820.
- Silva L.M., Malcata X.F. 1999. Effects of time of grape pomace fermentation and distillation cuts on the chemical composition of grape marcs. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A*, 208: 134-143.
- Simpson R.F. 1978. 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene: an important contributor to the bottle aged bouquet of wine. *Chemistry and Industry*, 16, 1: 37-43.
- Simpson R.F., Miller G.C. 1984. Aroma composition of Chardonnay wine. *Vitis*, 23, 2: 143-158.
- Simpson R.F., Strauss C. R., Williams P.J. 1977. Vitispirane C-13 spiroether in aroma volatiles of grape juice, wines and distilled grape spirits. *Chemistry and Industry*, 15, 2: 663-664.
- Singleton V.L. 1987. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model solutions: Observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 1: 69-77.
- Singleton V.L., Salgues M., Zaya J., Trousdale E. 1985. Caftaric acid disappearance and conversion to products of enzymic oxidation in grape must and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36, 1:50-56.
- Singleton V.L., Sieberhagen H.A., de Wet P., Van Wyk C.J. 1975. Composition and sensory qualities of wines prepared from white grapes by fermentation with and without grape solids. *American Journal of Enology and Viticulture*, 26, 2: 62-69.
- Singleton V.L., Timberlake C.F., Lea A.G.H. 1978. The phenolic cinnamates of white grape and wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 4: 403-410.
- Singleton V.L., Zaya J., Trousdale E.K. 1986. Compositional changes in ripening grapes: Caftaric and coumaric acids. *Vitis*, 25, 2: 107-117.
- Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A. 1998. Principles of instrumental analysis. 5th ed. New York, Saunders College Publishing: 849 str.
- Skouroumounis G.K., Sefon M.A. 2000. Acid catalyzed hydrolysis of alcohols and their β -D-glucopyranosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6: 2033-2039.
- Skouroumounis G.K., Winterhalter P. 1994. Glycosidically bound norisoprenoids from *Vitis vinifera* cv. Riesling leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 5: 1068-1072.

- Soles R.M., Ough C.S., Kunkee R.E. 1982. Ester concentration differences in wine fermented by various species and strains of yeasts. *American Journal of Enology and Viticulture*, 33, 2: 94-98.
- Somers, T.C., Pockock K.F. 1991. Phenolic assessment of white must: Varietal differences in free run juices and pressings. *Vitis*, 30, 3: 189-201.
- Strauss C.R., Wilson B., Anderson R., Williams P.J. 1987. Development of precursors of C13 norisoprenoides flavorants in Riesling grape. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 1: 23-27.
- Tamborra P. 1992. Influenza della macerazione sul contenuto di terpeni liberi e glucosidi nel Moscatello selvatico. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 65, 2: 35-45.
- Tamborra P., Lovino R., Savino M., Suriano S. 2006. The enzymes for the increase of the aroma in Malvasia del Chianti white wine. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*, 59, 2-3: 31-38.
- Tamborra P., Martino N., Esti M. 2004. Laboratory tests on glycosidase preparations in wine. *Analytica Chimica Acta*, 513, 1: 299-303.
- Tat L., Comuzzo P., Stolfo I., Battistutta F. 2005. Optimization of wine headspace analysis by solid phase microextraction capillary gas chromatography with mass spectrometric and flame ionisation detection. *Food Chemistry*, 93, 2: 361-369.
- Ugliano M., Bartowsky E.J., McCarthy J., Moio L., Henschke P.A. 2006. Hydrolysis and transformation of grape glycosidically bound volatile compounds during fermentation with three *Saccharomyces* yeast strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 17: 6322-6331.
- Usseglio Tomasset L. 1975. Volatiles of wine dependant on yeast metabolism. V: Proceedings of the 4th International Oenological Symposium, Valencia, Spain, May 26-29, 1975. Lemperle E., Frank J. (eds). Valencia, International Association for Modern Winery Technology & Management: 346-370.
- Vanzo A., Cecotti R., Vrhovšek U., Torres A.M., Mattivi F., Passamonti S. 2007a. The fate of trans-caftaric acid administered into the rat stomach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4: 1604-1611.
- Vanzo A., Lavrenčič P., Čuš F. 2007. Vsebnost polifenolov v sorti Zelen. V: Vinarski dan, Ljubljana, 06. junij 2007. Čuš F., Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 25-32.
- Versini G. 1985. Sull aroma del vino »Traminer aromatico« o »Gewurtztraminer«. *Vignevini*, 12, 1-2: 57-65.

- Versini G., Dalla Serra, A. Dell' Eva M., Stefanini M., Inama S. 1987. Caratteristiche aromatiche dell' uva e del vino Moscato Rosa. V: Proceedings of the Symposium: The aromatic substances in grapes and wines, S. Michele all' Adige, 25-27.06.1978. Scienza A., Versini G. (eds.). Manfrini, Calliano: 399-410.
- Versini G., Dalla Sera A., Pellegrini R. 1984. Contributo alla conoscenza dell'aroma dei vini da macerazione carbonica. L'Enotecnico, 10: 871-878.
- Versini, G., Inama S., Sartori G. 1981. A capillary column gaschromatographic research into the terpene constituents of Riesling Renano (Rhine Riesling) wine from Trentino Alto Adige: Their distribution within berries, their passage into must and their presence in the wine according to different wine-making procedures. Organoleptic considerations. Vini d'Italia, 23: 189-211.
- Versini G., Tomasi T. 1983. Confronto tra i componenti volatili dei vini rossi ottenuti con macerazione tradizionale e macerazione carbonica. Importanza differenziante del cinnamato di etile. L'Enotecnico, 19: 595 – 600.
- Vilanova M., Sieiro C. 2006. Determination of free and bound terpene compounds in Albarino wine. Journal of Food Composition and Analysis, 19, 6-7: 694-697.
- Vrhovšek U. 1998. Hydroxycinnamic acids in Slovenian white wines varieties Pinot blanc and Chardonnay. Sodobno kmetijstvo, 31, 5: 226-231.
- Vrhovšek U., Pojer M., Mattivi F. 2004. Gli acidi cinnamici come marcatori della tecnologia di estrazione del mosto nella produzione dei vini bianchi. V: Convegno internazionale su polifenoli dell'uva e del legno: contributo alla qualità del vino, Asti, 30 gennaio 2003: contribution to wine quality. Quaderni della scuola di specializzazione in scienze viticole ed enologiche, 2002-2003. Torino, Dipartimento de Colture Arboree, Università di Torino: 121-138.
- Vrščaj Vodošek T. 2007. Vpliv sorte, letnika in dodatka starterske kulture v mošt ali vino na potek jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 166 str.
- Webb A.D., Ingraham J.L. 1963. Fusel oil. Advances in Applied Microbiology, 5: 317-353.
- Whiton R.S., Zoeklein B. W. 2000. Optimization of headspace solid phase microextraction for analysis of wine aroma compounds. American Journal of Enology and Viticulture, 51, 4: 379-382.
- Williams P.J., Sefton M.A., Wilson B. 1989. Non volatile conjugated of secondary metabolites as precursors of varietal grape flavor components. V: Flavor chemistry: Trends and developments, Toronto, 05-11 jun. 1988. Teranishi R., Buttery R.G., Shahidi F. (eds.). Washington, American Chemical Society: 35-48 (American Chemical Society Symposium Series; N. 338).

- Williams P.J., Strauss C.R., Wilson B. 1980. Hydroxylated linalool derivatives as precursors of volatile monoterpenes of muscat grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 4: 766-771.
- Williams P.J., Strauss C.R., Wilson B. 1981. Classification of the monoterpenoid composition of muscat grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32, 2: 230-235.
- Williams P.J., Strauss C.R., Wilson B., Massy-Westropp R.A. 1982. Studies on the hydrolysis of *Vitis vinifera* monoterpene precursor compounds and model monoterpene β -D-glucosides rationalizing the monoterpene composition of grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 6: 1219-1223.
- Williams P.J., Strauss C.R., Wilson B., Massy-Westropp R.A. 1983. Glucosides of 2-phenylethanol and benzyl alcohol in *Vitis vinifera* grapes. *Phytochemistry*, 22, 9: 2039-2041.
- Willson B., Strauss C.R., Williams P.J. 1984. Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing muscat grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32, 4: 919-924.
- Willson B., Strauss C.R., Williams P.J. 1986. The distribution of free and glycosidically-bound monoterpenes among skin, juice and pulp fractions of some white grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 2: 107-114.
- Zoecklein B.W., Marcy J.E., Williams J.M., Jasinski Y. 1997. Effects of native yeasts and selected strains of *Saccharomyces cerevisiae* on glycosyl glucose, potential volatile terpenes, and selected aglycones of White Riesling (*Vitis vinifera* L.) wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 1: 55-65.

ZAHVALA

Prof. dr. Tatjani Košmerl se zahvaljujem za mentorstvo, za vso pomoč pri nastanku doktorske disertacije in pripravljenost na sodelovanja ne glede na uro ali dan v tednu.

Somentorju doc.dr. Francu Čušu se zahvaljujem za pomoč pri postavljanju analitskih metod, za dragocene nasvete in pregled doktorske disertacije.

Članici komisije doc. dr. Heleni Prosen se zahvaljujem za podroben pregled doktorske disertacije in nasvete pri njenem pisanju.

Doc. dr. Andreji Vanzo se zahvaljujem za pomoč pri izvedbi in interpretaciji rezultatov fenolnih spojin ter za številne praktične nasvete pri pisanju disertacije.

Dr. Heleni Baša se zahvaljujem za pomoč pri uvajanju metod za določanje aromatičnih spojin.

Doc. dr. Lei Gašperlin se zahvaljujem za nasvete in pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Lili Marinček se zahvaljujem za pomoč pri iskanju virov in urejanju literature.

Ivici Hočevar in Lini Burkan se zahvaljujem za pregled oblikovne ustreznosti doktorske disertacije.

Mag. Vesni Ješe Janežič se zahvaljujem za pomoč pri premostitvi ovir ob prijavi in potrjevanju teme disertacije.

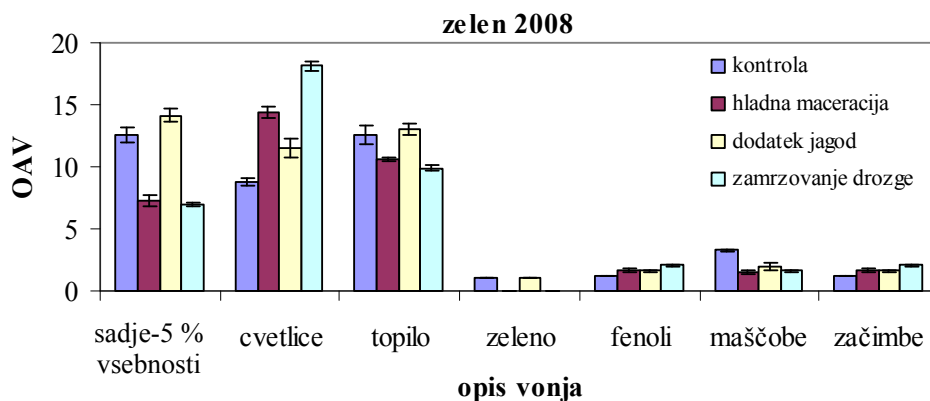
Za pomoč pri izvedbi osnovnih analiz se zahvaljujem Ivi Kmetič Ceglar, Nadi Bizjak in Mojci Jenko, za pomoč pri izvedbi poskusov letnika 2009 Maticu Rodici in za nasvete pri ekstrakciji Tomažu Sketu.

Za spodbudo in materialno podporo v času študija in izdelave doktorske disertacije se zahvaljujem sodelavcem dr. Mitji Kocjančiču, dr. Ani Gregorčič in direktorju doc. dr. Andreju Simončiču z vodstvom Kmetijskega inštituta Slovenije.

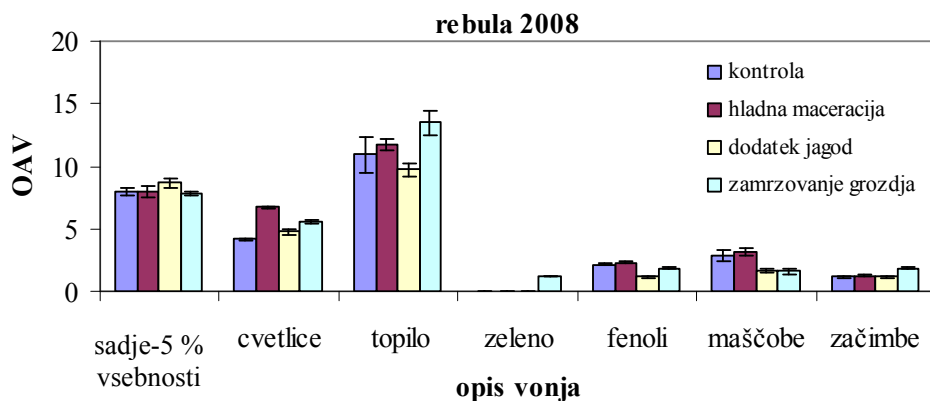
Za darovano poskusno grozdje letnikov 2008 in 2009 se zahvaljujem kmetiji Jakončič (Kozana, Goriška Brda), vinski kleti Guerila (Planina, Vipavska dolina) in kmetiji Rodica (Truške, Slovenska Istra), za dragocene tehnološke podatke in nasvete pa predvsem Urošu Bolčini in Aljoši Jakončiču.

Zahvala seveda gre tudi staršema Antonu in Branki ter sestri Klari za podporo ter pomoč v času študija.

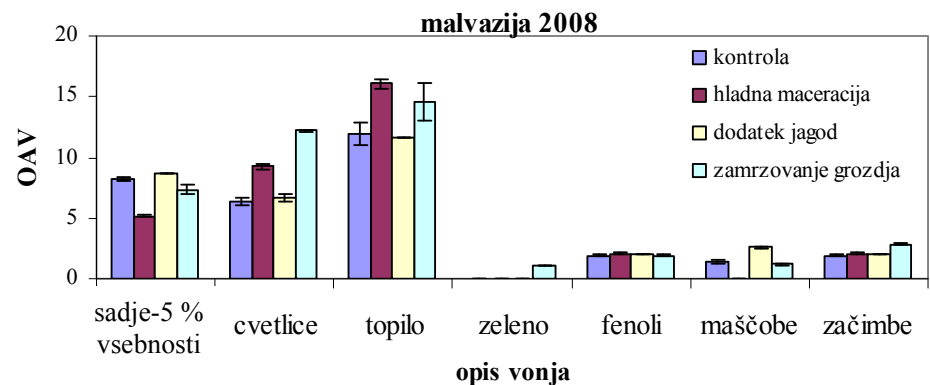
PRILOGE



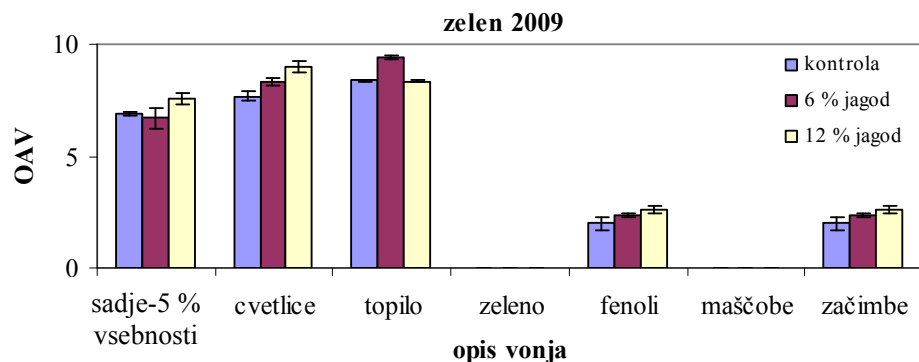
Priloga A1: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2008
 Annex A1: Odour activity values (OAV) sums for Zelen wines vintage 2008



Priloga A2: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2008
 Annex A2: Odour activity values (OAV) sums for Ribolla Gialla wines vintage 2008

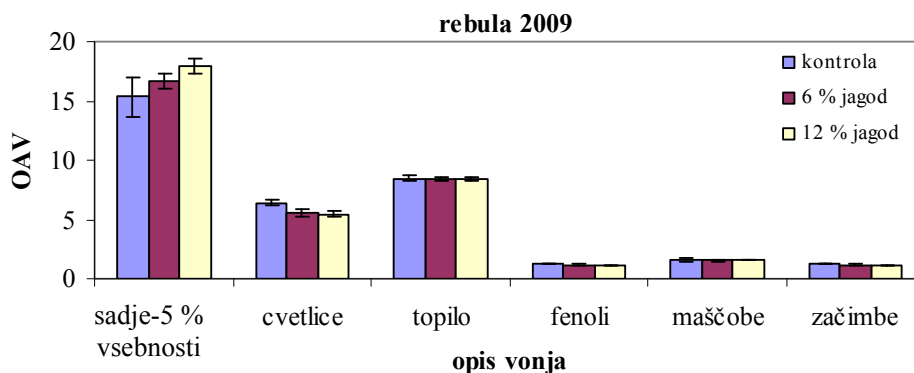


Priloga A3: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2008
 Annex A3: Odour activity values (OAV) sums for Malvasia Istriana wines vintage 2008



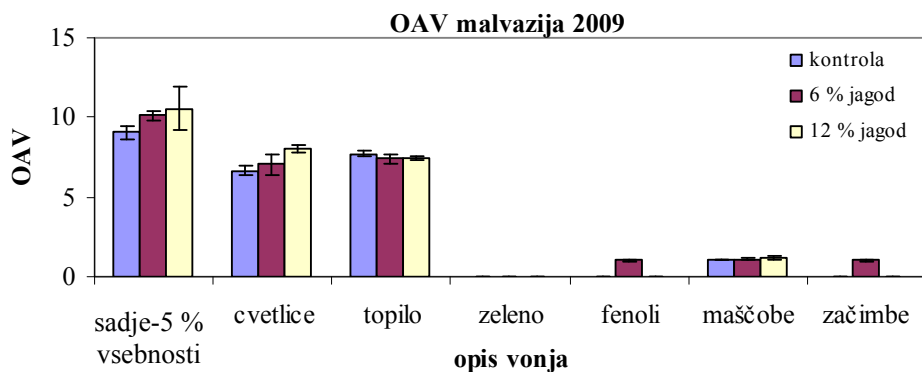
Priloga B1: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Annex B1: Odour activity values (OAV) sums for Zelen wines vintage 2009 from berries addition in must procedures



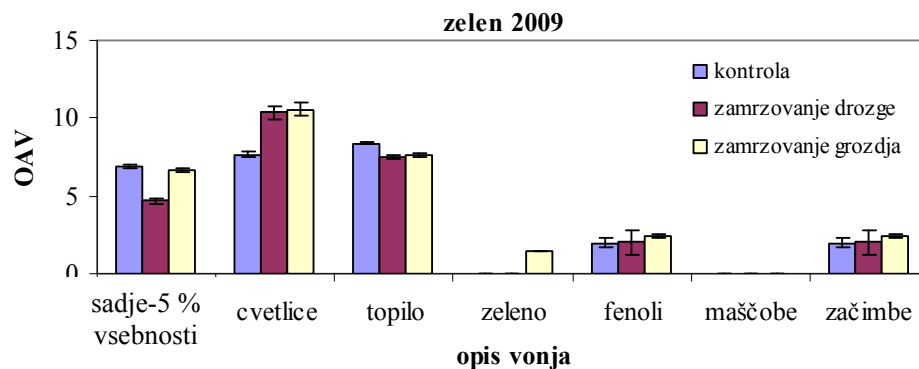
Priloga B2: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Annex B2: Odour activity values (OAV) sums for Ribolla Gialla wines vintage 2009 from berries addition in must procedures



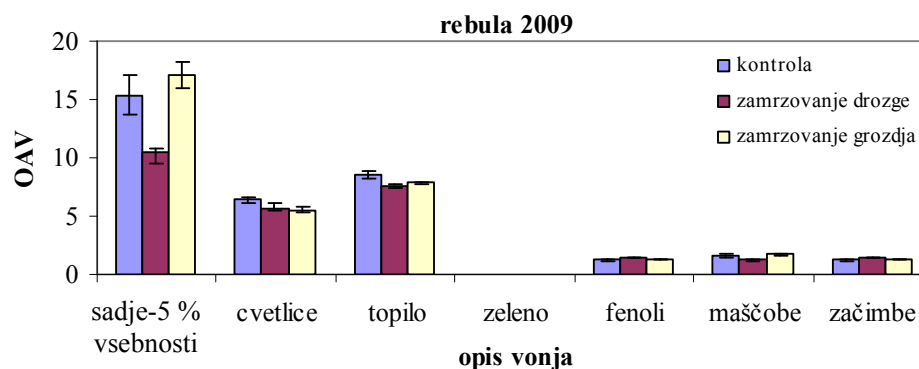
Priloga B3: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt

Annex B3: Odour activity values (OAV) sums for Malvasia Istriana wines vintage 2009 from berries addition in must procedures



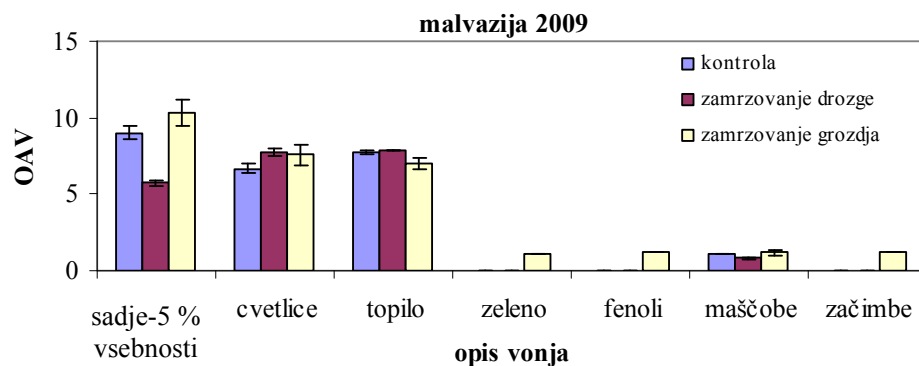
Priloga C1: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina zelen letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Annex C1: Odour activity values (OAV) sums for Zelen wines vinatage 2009 wines from freezing of pomace and grapes procedures



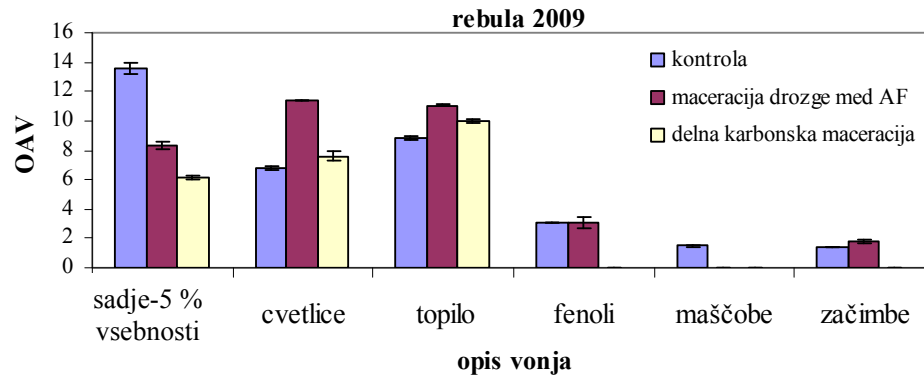
Priloga C2: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Annex C2: Odour activity values (OAV) sums for Ribolla Gialla wines vinatage 2009 wines from freezing of pomace and grapes procedures



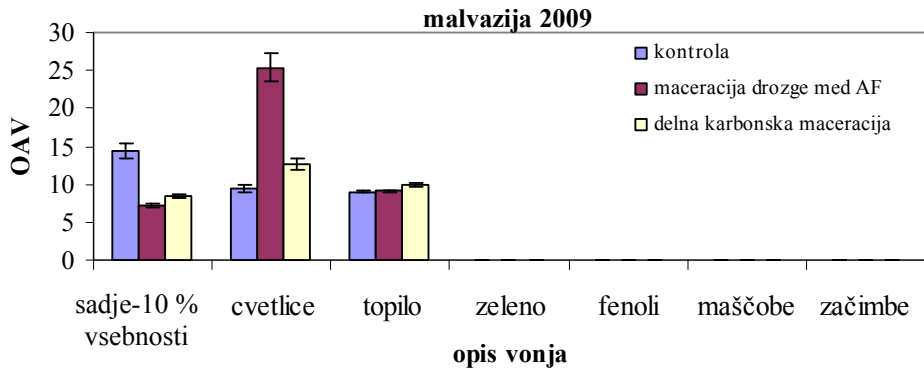
Priloga C3: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov zamrzovanja drozge in grozdja

Annex C3: Odour activity values (OAV) sums for Malvasia Istriana wines vinatage 2009 wines from freezing of pomace and grapes procedures



Priloga D1: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina rebula letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Annex D1: Odour activity values (OAV) sums for Ribolla Gialla wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures



Priloga D2: Seštevki aktivnih vonjalnih vrednosti (OAV) za vina malvazija letnika 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Annex D2: Odour activity values (OAV) sums for Malvasia Istriana wines vintage 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

Priloga E1: Povprečne vrednosti in standardni odmiki odvisnih spremenljivk uporabljenih v PCA – vinifikacije 2008

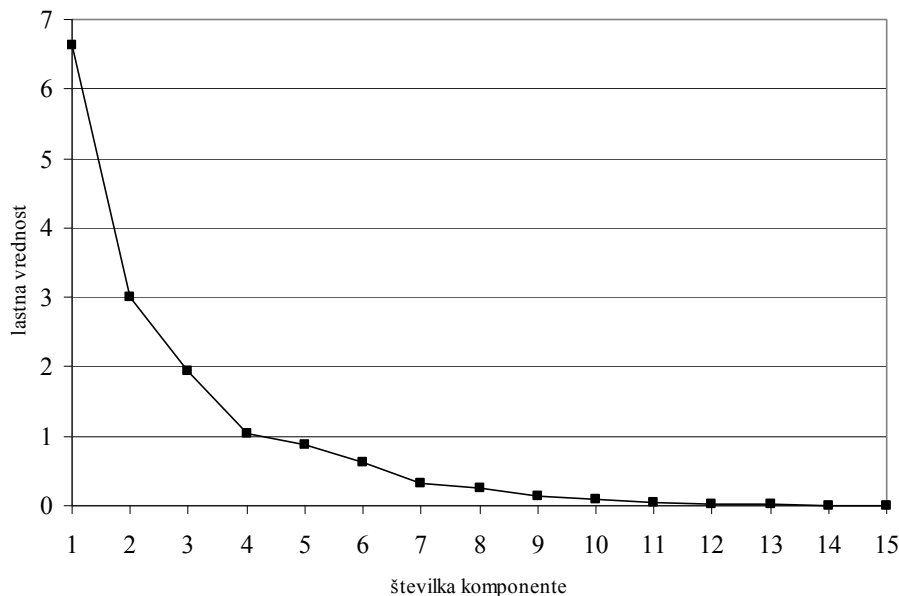
Annex E1: Average values and standard deviations of dependent variables used in PCA – vinifications 2008

parameter	povprečje	standardni odmik
A etil butirat	12,78	3,72
B izoamil acetat	48,18	28,8
C 1-heksanol	0,36	0,51
D etil kaprilat	1,53	0,55
E etil kaprat	0,38	0,55
F 2-feniletal acetat	0,58	0,73
G 4-vinilgvajakol	1,72	0,50
H 4-vinilfenol	0,17	0,39
I etil acetat	4,75	1,76
J 2-metilpropanol	0,82	0,61
K 3-metilbutanol	6,63	1,29
L 2-feniletanol	3,92	0,93
M etil heksanoat	103,7	21,5
N linalool	3,13	2,97
O citronelol	1,41	0,58

Priloga E2: Korelacijski koeficienti med spremenljivkami, uporabljenimi v PCA – vinifikacije 2008

Annex E2: Correlation coefficients between variables used in PCA – vinifications 2008

parameter	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
A	0,85	0,51	0,63	0,10	0,50	-0,33	-0,29	0,51	-0,65	-0,57	-0,32	0,77	0,11	-0,64
B	1,00	0,49	0,44	0,09	0,67	-0,26	-0,28	0,61	-0,60	-0,47	-0,10	0,43	0,35	-0,69
C		1,00	0,25	-0,13	0,19	0,21	-0,32	0,58	-0,12	-0,03	-0,23	0,39	0,12	-0,07
D			1,00	0,43	0,53	-0,52	0,26	0,23	-0,64	-0,81	-0,28	0,73	-0,05	-0,51
E				1,00	0,30	-0,49	0,66	0,26	-0,33	-0,44	-0,44	0,32	-0,40	-0,60
F					1,00	-0,39	0,12	0,27	-0,35	-0,47	0,30	0,19	0,37	-0,54
G						1,00	-0,49	-0,34	0,74	0,85	0,32	-0,40	0,51	0,67
H							1,00	0,13	-0,23	-0,36	-0,22	0,14	-0,48	-0,15
I								1,00	-0,46	-0,36	-0,51	0,44	-0,28	-0,50
J									1,00	0,84	0,37	-0,62	0,17	0,72
K										1,00	0,38	-0,62	0,27	0,70
L											1,00	-0,65	0,72	0,45
M												1,00	-0,33	-0,48
N													1,00	0,19



Priloga E3: Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti – vinifikacije 2008

Annex E3: Determination of the number of principal components based on graphic representation of the eigenvalues – vinifications 2008

Priloga F1: Povprečne vrednosti in standardni odmiki odvisnih spremenljivk uporabljenih v PCA – vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja

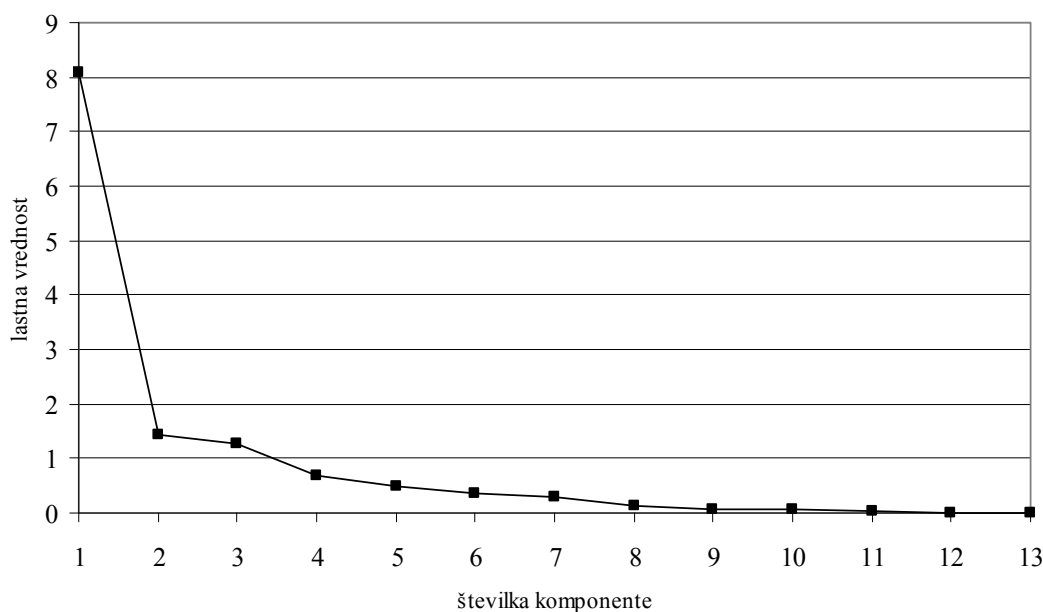
Annex F1: Average values and standard deviations of dependent variables used in PCA – vinifications 2009 from berries addition in must and freezing of pomace and grapes procedures

parameter	povprečje	standardni odmik
A etil butirat	11,85	4,05
B izoamil acetat	79,48	48,81
C etil heksanoat	114,43	36,83
D 1-heksanol	0,17	0,45
E etil kaprilat	2,82	0,70
F 2-feniletil acetat	0,59	0,87
G 4-vinilgvajakol	1,39	0,79
H etilacetat	2,13	0,66
I 2-metilpropanol	0,07	0,25
J 3-metilbutanol	5,77	0,63
K 2-feniletanol	3,49	0,61
L linalool	1,94	1,59
M citronelol	1,42	0,31

Priloga F2: Korelacijski koeficienti med spremenljivkami, uporabljenimi v PCA – vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja

Annex F2: Correlation coefficients between variables used in PCA – vinifications 2009 from berries addition in must and freezing of pomace and grapes procedures

parameter	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
A	0,95	0,94	-0,33	0,89	0,83	-0,24	0,90	-0,20	-0,71	-0,82	-0,87	-0,63
B	1,00	0,86	-0,24	0,87	0,94	-0,25	0,92	-0,23	-0,75	-0,86	-0,87	-0,66
C		1,00	-0,11	0,86	0,68	-0,24	0,80	-0,22	-0,70	-0,74	-0,73	-0,54
D			1,00	-0,17	-0,26	0,25	-0,27	-0,10	-0,05	0,21	0,46	0,31
E				1,00	-0,21	-0,54	-0,11	-0,18	-0,18	-0,12	-0,05	0,12
F					1,00	-0,13	0,86	-0,18	-0,63	-0,78	-0,84	-0,65
G						1,00	0,00	0,34	0,18	0,42	0,40	0,12
H							1,00	-0,06	-0,71	-0,74	-0,77	-0,63
I								1,00	0,28	0,19	0,16	0,05
J									1,00	0,82	0,54	0,35
K										1,00	0,81	0,49
L											1,00	0,67



Priloga F3: Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti – vinifikacije 2009 iz postopkov dodatka jagod v mošt in zamrzovanja drozge ter grozdja

Annex F3: Determination of the number of principal components based on graphic representation of the eigenvalues – vinifications 2009 from berries addition in must and freezing of pomace and grapes procedures

Priloga G1: Povprečne vrednosti in standardni odmiki odvisnih spremenljivk uporabljenih v PCA – vinifikacije iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

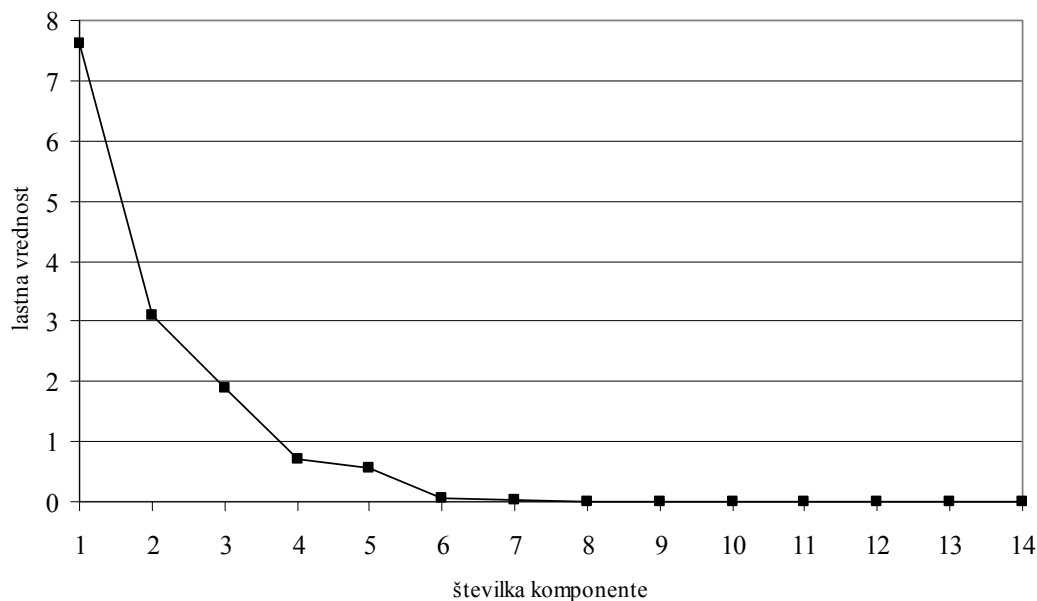
Annex G1: Average values and standard deviations of dependent variables used in PCA – vinifications 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

parameter	povprečje	standardni odmik
A etil butirat	9,45	4,29
B izoamil acetat	53,82	30,02
C etil heksanoat	77,99	34,14
D etil kaprilat	0,25	0,58
E 2-feniletil acetat	0,73	0,85
F 4-vinilgvajakol	0,53	0,79
G 4-vinilfenol	0,48	0,72
H etil acetat	2,09	0,33
I 2-metilpropanol	0,35	0,52
J 3-metilbutanol	7,23	0,51
K 2-feniletanol	5,76	0,68
L linalool	3,89	5,33
M α -terpineol	0,50	0,64
N citronelol	2,05	0,83

Priloga G2: Korelacijski koeficienti med spremenljivkami, uporabljenimi v PCA – vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Annex G2: Correlation coefficients between variables used in PCA – vinifications 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

parameter	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
A	0,92	0,98	0,82	0,76	0,66	0,79	0,35	-0,11	-0,61	-0,12	-0,57	-0,63	-0,45
B	1,00	0,93	0,80	0,94	0,80	0,89	0,43	0,22	-0,57	0,20	-0,67	-0,78	-0,33
C		1,00	0,90	0,83	0,68	0,83	0,49	-0,12	-0,67	-0,13	-0,58	-0,63	-0,43
D			1,00	0,82	0,52	0,75	0,65	-0,31	-0,86	-0,29	-0,34	-0,36	-0,33
E				1,00	0,72	0,84	0,53	0,28	-0,65	0,24	-0,60	-0,70	-0,26
F					1,00	0,95	0,50	0,36	-0,10	0,54	-0,41	-0,56	0,20
G						1,00	0,61	0,16	-0,39	0,30	-0,43	-0,56	0,04
H							1,00	-0,20	-0,34	-0,07	-0,26	-0,11	-0,02
I								1,00	0,36	0,90	-0,42	-0,57	0,14
J									1,00	0,48	0,16	0,19	0,43
K										1,00	-0,20	-0,38	0,47
L											1,00	0,90	0,70
M												1,00	0,50



Priloga G3: Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti – vinifikacije 2009 iz postopkov maceracije drozge med alkoholno fermentacijo in delne karbonske maceracije

Annex G3: Determination of the number of principal components based on graphic representation of the eigenvalues – vinifications 2009 from pomace maceration during alcoholic fermentation and partial carbonic maceration procedures

Priloga H1: Povprečne vrednosti in standardni odmiki odvisnih spremenljivk uporabljenih v PCA – vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole

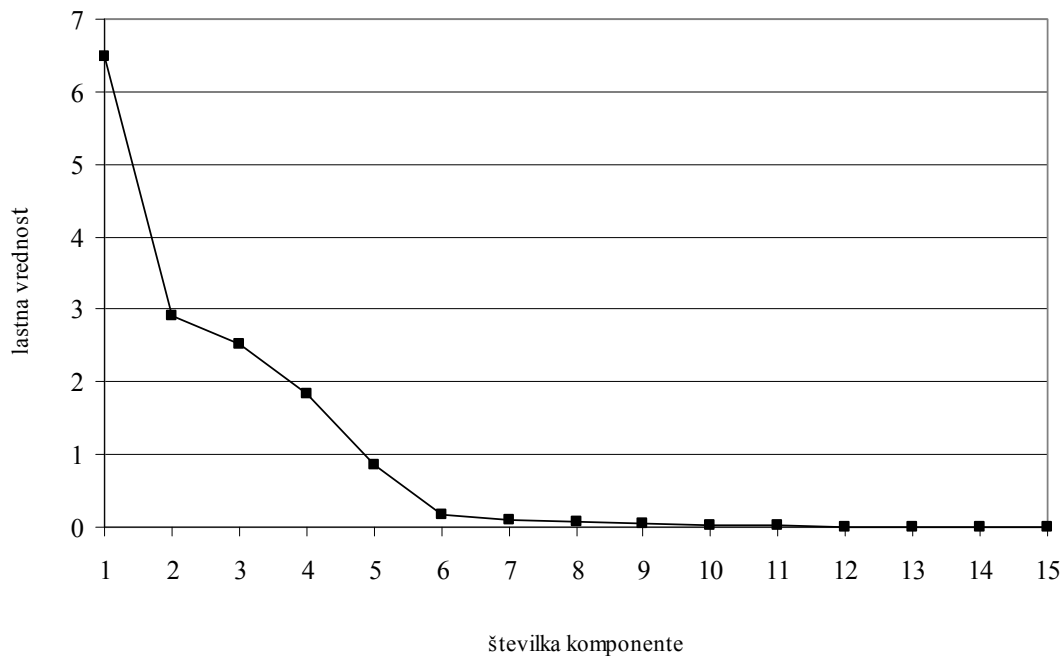
Annex H1: Average values and standard deviations of dependent variables used in PCA – vinifications 2008 and 2009 from control procedures

parameter	povprečje	standardni odmik
A etil butirat	12,77	3,42
B izoamil acetat	74,63	42,47
C 1-heksanol	0,17	0,40
D etil kaprilat	1,32	0,71
E etil kaprat	0,38	0,56
F 2-feniletal acetat	0,67	0,98
G 4-vinilgvajakol	1,23	0,67
H 4-vinilfenol	0,27	0,38
I etil acetat	4,02	2,30
J 2-metilpropanol	0,19	0,45
K 3-metilbutanol	5,81	0,66
L 2-feniletanol	3,39	0,47
M etil heksanoat	109,67	20,05
N linalool	1,59	1,35
O citronelol	1,03	0,50

Priloga H2: Korelacijski koeficienti med spremenljivkami, uporabljenimi v PCA – vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole

Annex H2: Correlation coefficients between variables used in PCA – vinifications 2008 and 2009 from control procedures

parameter	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
A	0,83	0,75	0,68	0,32	0,91	-0,04	-0,35	0,51	-0,08	-0,48	-0,37	0,68	0,34	-0,81
B	1	0,39	0,41	-0,01	0,96	-0,16	-0,41	0,09	-0,33	-0,31	-0,18	0,81	-0,04	-0,51
C		1	0,53	0,64	0,56	-0,04	-0,20	0,72	-0,20	-0,60	-0,14	0,10	0,73	-0,95
D			1	0,65	0,52	-0,26	0,28	0,75	0,06	-0,69	-0,79	0,62	-0,01	-0,58
E				1	0,21	-0,08	0,62	0,87	-0,31	-0,84	-0,41	0,04	0,15	-0,66
F					1	-0,04	-0,31	0,31	-0,31	-0,44	-0,26	0,75	0,07	-0,68
G						1	-0,06	0,12	0,44	0,36	0,02	-0,26	0,16	0,00
H							1	0,36	-0,20	-0,46	-0,38	-0,06	-0,54	0,13
I								1	0,07	-0,70	-0,58	0,09	0,35	-0,73
J									1	0,51	-0,36	-0,15	0,16	0,24
K										1	0,44	-0,35	-0,03	0,64
L											1	-0,45	0,24	0,21
M												1	-0,39	-0,27
N													1	-0,55



Priloga H3: Določitev števila glavnih komponent na osnovi grafične predstavitve lastnih vrednosti – vinifikacije 2008 in 2009 iz postopkov kontrole

Annex H3: Determination of the number of principal components based on graphic representation of the eigenvalues – vinifications 2008 and 2009 from control procedures