

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Anja PLANINC

**KAKOVOSTNI PARAMETRI ZORENIH VIN NA
KVASOVKAH**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Anja PLANINC

KAKOVOSTNI PARAMETRI ZORENIH VIN NA KVASOVKAH

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

QUALITY PARAMETERS OF WINES MATURED ON LEES

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je bilo opravljeno v laboratoriju za vinarstvo Katedre za tehnologije, prehrano in vino na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana prof. dr. Tatjana Košmerl, za somentorico izr. prof. dr. Helena Prosen in za recenzenta doc. dr. Blaž Cigić.

Mentorica: prof. dr. Tatjana Košmerl

Somentorica: prof. dr. Helena Prosen

Recenzent: doc. dr. Blaž Cigić

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Anja Planinc

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 663.2:663.252.4/.6:543.61:543.9:543.544.3(043)=163.6
KG	vino/bela vina/rdeča vina/zorenje vina na drožeh/sur lies/kemijska sestava vina/fizikalno-kemijske lastnosti/antioksidativni potencial/višji alkoholi/aromatične hlapne spojine/kromatografske metode/senzorične lastnosti
AV	PLANINC, Anja
SA	KOŠMERL, Tatjana (mentorica)/PROSEN, Helena (somentorica)/CIGIĆ, Blaž (recenzent)
KZ	SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2011
IN	KAKOVOSTNI PARAMETRI ZORENIH VIN NA KVASOVKAH
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XVI, 73 str., 9 pregl., 24 sl., 22 pril., 60 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Tehnologija zorenja vina na drožeh ali »sur lies« tehnologija je vedno bolj aktualna s stališča izboljšanja senzorične kakovosti zaradi večje vsebnosti aromatičnih snovi, po drugi strani pa omogoča vsaj delno fizikalno-kemijsko stabilnost vina (na termolabilne beljakovine, fenole in vinski kamen), kar je posledica sproščanja polisaharidov, ki preidejo v vino po zaključeni alkoholni fermentaciji z avtolizo odmrlih kvasnih celic. S primerjalno analizo osmih vzorcev belih in dveh vzorcev rdečih vin smo ugotovili značilne razlike v kakovostnih parametrih in dejanski vpliv zorenja na kvasovkah, predvsem na antioksidativni potencial, oksidativno, barvno in beljakovinsko stabilnost vina ter aromatični in fenolni profil. V vzorcih smo določali pH, relativno gostoto, skupni suhi ekstrakt (SE), alkohol, hlapne kisline, višje alkohole in hlapne aromatične spojine, barvne parametre, antioksidativni potencial, vsebnost skupnih fenolov in prostega aminokislinskega dušika (FAN). Določili smo tudi vsebnost kalija in primerjalno opravili papirno kromatografijo za kvalitativno določitev glavnih organskih kislin. Za ugotovitev beljakovinske stabilnosti smo se poslužili čistilnega poskusa z bentonitom. Mikrobiološko stabilnost vin smo potrdili z mikrobiološkim pregledom droži in usedline. Sedem mesecev po vzorčenju smo vina tudi senzorično ocenili. Ugotovili smo, da se vina razlikujejo glede na sorto, letnik in glede na posodo, v kateri so zorela. Največje razlike so se pojavile glede na barvo vina (rdeča ali bela). Manjše razlike v fizikalno-kemijskih parametrih smo opazili tudi v okviru belih vin med posameznimi sortami in prav tako med posameznimi rdečimi sortami.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Dn

DC UDC 663.2:663.252.4/.6:543.61:543.9:543.544.3(043)=163.6

CX wine/white wines/red wines/wine maturation on lees/sur lies/chemical composition of wine/ physico-chemical parameters/ antioxidant potential/higher alcohols/volatile aromatic compounds/chromatographic methods/sensory qualities

AU PLANINC, Anja

AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/PROSEN, Helena (co-advisor)/CIGIČ, Blaž (reviewer)

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology

PY 2011

TI QUALITY PARAMETERS OF WINES MATURED ON LEES

DT Graduation thesis (University studies)

NO XVI, 73 p., 9 tab., 24 fig., 22 ann., 60 ref.

LA sl

AL sl/en

AB Wine ageing on lees is becoming more and more popular in wine technology. Prolonged contact of wine with wine lees improves sensory quality due to higher content of volatile aromatic compounds and enables at least partial physical and chemical stability of wine as a result of the release of polysaccharides that dissolve into wine at the completion of alcoholic fermentation during dead yeast cells autolysis. With comparative analysis of eight white wine samples and two red ones, we found significant differences in quality parameters and the actual impact of aging on yeast, especially on the antioxidant potential, oxidative, color and protein stability of wines and aromatic and phenolic profile. We have measured pH value, alcohol, relative density, total dry extract, volatile acids, volatile aromatic compounds and higher alcohols, color parameters, antioxidant potential, total phenols and free amino nitrogen. We have also determined content of potassium and made a paper chromatography for qualitative determination of the main organic acids. For the determination of protein stability, we have used a fining trial with bentonite. Microbiological stability of wine was confirmed by microbiological examination of lees and sediment. Seven months after sampling the wine was sensory evaluated. We have found that wines vary by variety, year and the cask in which they matured. The greatest differences occurred according to whether they are red or white wine. Minor differences in the physico-chemical parameters were also observed in the white wines of different varieties and also between the red varieties.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	X
KAZALO SLIK	XI
KAZALO PRILOG	XIII
KAZALO PRILOG	XIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XV
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XV
1 UVOD	1
1.1 CILJI NALOGE	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 AMPELOGRAFSKI OPIS SORT	3
2.1.1 Sivi pinot.....	3
2.1.2 Beli pinot.....	3
2.1.3 Sauvignon	4
2.1.4 Zeleni silvanec	4
2.1.5 Chardonnay.....	5
2.1.6 Modra frankinja	6
2.1.7 Modri pinot	6
2.2 VINORODNI OKOLIŠ ŠTAJERSKA SLOVENIJA, VINORODNA DEŽELA PODRAVJE.....	7
2.2.1 Klet in vinarstvo na Ptuj.....	7
2.2.2 Srednje Slovenske gorice in Haloze z obrobnim pogorjem	8
2.2.2.1 Haloze.....	9
2.2.2.2 Srednje Slovenske gorice.....	9
2.3 GROZDNA MIKROFLORA	10
2.4 SESTAVINE MOŠTA IN VINA	11

2.4.1 Voda	11
2.4.2 Etanol.....	11
2.4.3 Metanol	11
2.4.4 Višji alkoholi	11
2.4.5 Alkoholi z več hidroksilnimi skupinami	12
2.4.5.1 Glicerol	12
2.4.6 Sladkorji	13
2.4.6.1 Monosaharidi	13
2.4.6.2 Disaharidi	13
2.4.6.3 Polisaharidi	14
2.4.7 Kisline	14
2.4.7.1 Vinska kislina	14
2.4.7.2 Jabolčna kislina	15
2.4.7.3 Citronska kislina	15
2.4.7.4 Mlečna kislina	15
2.4.7.5 Ocetna kislina	15
2.4.8 Dušikove snovi	15
2.4.9 Aromatične snovi	16
2.4.9.1 Primarne arome.....	16
2.4.9.2 Sekundarne arome	17
2.4.9.3 Terciarne arome.....	17
2.4.10 Aldehidi	18
2.4.11 Estri.....	18
2.4.12 Terpeni.....	19
2.4.13 Fenoli	19
2.4.13.1 Flavonoidi.....	19
2.4.13.2 Neflavonoidi	20
2.4.13.3 Pomen in vpliv fenolnih spojin.....	21

2.4.14 Vitamini	22
2.4.15 Minerali	22
2.4.15.1 Kalij	23
2.5 ZORENJE VINA V BARRIQUE SODIH	23
2.6 ZORENJE VINA NA DROŽEH	24
2.6.1 Delitev in sestava droži.....	25
2.6.1.1 Grobe droži	25
2.6.1.2 Fine droži	26
2.6.2 Kvasovke	28
2.6.2.1 Rast in razmnoževanje kvasovk	28
2.6.2.2 Celična stena kvasovk	29
2.6.3.1 Izvor manoproteinov.....	29
2.6.3.2 Vloga manoproteinov med vinifikacijo.....	30
2.6.3.3 Pozitivni učinek polisaharidov v praksi	30
2.6.4 Avtoliza kvasovk.....	30
2.6.4.1 Prispevek avtolize kvasovk:	31
2.6.4.2 Težave, ki se pojavijo med zorenjem na drožeh.....	32
2.6.5 Beljakovinska stabilnost	32
2.7 BELJAKOVINE IN UPORABA BENTONITA.....	32
3 MATERIAL IN METODE	34
3.1 MATERIAL.....	34
3.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE.....	34
3.2.1 Določanje pH vina	34
3.2.2 Določanje hlapnih kislin.....	34
3.2.3 Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu	35
3.2.4 Določanje prostega aminokislinskega dušika (FAN) v vinu	35
3.2.5 Določanje skupnih fenolnih spojin v vinu	35
3.2.6 Določanje antioksidativnega potenciala vina	35
3.2.7 Določanje hlapnih aromatičnih snovi v vinu s plinsko kromatografijo	36

3.2.8 Določanje organskih kislin s papirno kromatografijo	37
3.2.9 Določanje višjih alkoholov	37
3.2.10 Določanje kalija	38
3.2.11 Določanje barve vina	38
3.3 ČISTILNI POSKUS Z BENTONITOM	38
3.3.1 Toplotni test	38
3.3.2 Bentotest	39
3.4 MIKROSKOPIRANJE VZORCEV	39
3.4.1 Mikroskopiranje droži	39
3.4.2 Mikroskopiranje usedline vina.....	39
3.5 SENZORIČNA ANALIZA VINA Z BAUXBAUMOVO METODO.....	40
3.6 STATISTIČNA ANALIZA.....	40
3.6.1 Multipla analiza variance – procedura GLM	40
3.6.2 Multivariantna analiza.....	41
3.6.2.1 PCA (Principle Components Analysis) ali metoda glavnih osi.....	41
3.6.2.2 LDA (Linear Discriminant Analysis) ali linearna diskriminantna analiza..	41
4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	42
4.1 VPLIV SORTE NA FIZIKALNO-KEMIJSKE PARAMETRE.....	42
4.1.1 pH.....	42
4.1.2 Hlapne kisline.....	43
4.1.3 Relativna gostota, alkohol in skupni suhi ekstrakt.....	44
4.1.4 Vsebnost prostega aminokislinskega dušika	45
4.1.5 Antioksidativni potencial (AOP)	45
4.1.6 Skupni fenoli	45
4.1.7 Kalij	46
4.1.8 Intenziteta barve	46
4.1.9 Vsebnost višjih alkoholov in hlapnih aromatičnih spojin.....	47
4.2 VPLIV LETNIKA NA FIZIKALNO-KEMIJSKE PARAMETRE	51
4.3 LDA IN PCA ANALIZA	54
4.4 ABSORPCIJSKI SPEKTRI	56

4.5 REZULTATI KVALITATIVNEGA DOLOČANJA ORGANSKIH KISLIN S PAPIRNO KROMATOGRFIJO	59
4.6 REZULTATI ČISTILNEGA POSKUSA Z BENTONITOM.....	1
4.6 REZULTATI ČISTILNEGA POSKUSA Z BENTONITOM.....	60
4.6.1 Toplotni test	60
4.6.2 Bentotest	60
4.7 REZULTATI MIKROSKOPIRANJA VZORCEV.....	61
4.7.1 Mikroskopiranje usedline	61
4.7.2 Mikroskopiranje usedline vina.....	63
4.8 REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE Z BAUXBAUMOVO METODO	65
5 SKLEPI	66
6 POVZETEK	67
7 VIRI	69
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Opis vzorcev vin.....	34
Preglednica 2: Vpliv sorte analiziranih vzorcev na fizikalno-kemijske parametre	42
Preglednica 3: Največja dovoljena vrednost hlapnih kislin v vinih (Pravilnik o pogojih..., 2004)	43
Preglednica 4: Vpliv sorte analiziranih vzorcev na vsebnost hlapnih snovi in višjih alkoholov (mg/L)	47
Preglednica 5: Vpliv sorte analiziranih vzorcev na vsebnost hlapnih aromatičnih spojin, ki so bile kvalitativno določene v vzorcih vin (ploščina kromatografskega vrha/10 ⁶).....	49
Preglednica 6: Vpliv letnika analiziranih vzorcev vin sorte sivi pinot na fizikalno-kemijske parametre.....	51
Preglednica 7: Vpliv letnika analiziranih vzorcev vin sorte sivi pinot na vsebnost hlapnih spojin in višjih alkoholov (mg/L)	52
Preglednica 8: Vpliv letnika analiziranih vzorcev vin sorte sivi pinot na vsebnost hlapnih aromatičnih spojin, ki so bile kvalitativno določene v vzorcih vin (ploščina kromatografskega vrha/10 ⁶).....	53
Preglednica 9: Rezultati senzorične analize vina po Bauxbaumovi metodi (1-20).....	65

KAZALO SLIK

Slika 3: Strukturne formule monoterpenov: linaloola, nerola in geraniola (Belitz in Grosch, 1999)	19
Slika 4: Osnovna strukturna formula flavonoidov (Jackson, 2008)	20
Slika 5: Strukturna formula katehina (Clark, 2004).....	20
Slika 6: Strukturna formula vanilinske kisline (Vrhovšek, 1996)	21
Slika 7: Strukturna formula galne kisline (Vrhovšek, 1996)	21
Slika 8: Strukturna formula <i>p</i> -kumarne kisline (Miller in Rice-Evans, 1997)	21
Slika 9: Strukturna formula kavne kisline (Miller in Rice-Evans, 1997)	21
Slika 10: Shematski prikaz pridelave belih in rdečih vin (Luque de Castro in Pérez-Serradilla, 2008.)	25
Slika 11: Razvrstitev posameznih lastnosti analiziranih vzorcev s pomočjo metode LDA	54
Slika 12: Razvrstitev posameznih sort analiziranih vzorcev s pomočjo metode LDA..	55
Slika 13: Absorpcijski spekter vzorcev 1, 2, 5, 6a, 6b in 7 v območju valovne dolžine 400-440 nm. 1=1BP, 2=2CH, 5=5SAU, 6a= SP-barrique 2007, 6b=SP-barrique 2008, 7=7ZS	56
Slika 14: Absorpcijski spekter vzorcev 6c in 8 v območju valovne dolžine 400-440 nm. 6c=SP-inox 2008, 8=8ZV	57
Slika 15: Absorpcijski spekter vzorcev 3 in 4 v območju valovne dolžine 400-640 nm. 3=3MF, 4=4MP	58
Slika 17: Ocena motnosti vina po čiščenju z bentonitom	61
Slika 18: Mikroskopska slika kvasnih celic pri vzorcu 6SPa pri 400-kratni povečavi..	61
Slika 19: Mikroskopska slika kvasnih celic pri vzorcu 6SPc pri 400-kratni povečavi..	62
Slika 20: Mikroskopska slika kvasnih celic pri vzorcu 7ZS pri 400-kratni povečavi ...	62

Slika 21: Mikroskopska slika kvasnih celic pri vzorcu 4MP pri 100-kratni povečavi .. 63

Slika 22: Mikroskopska slika vzorca 5SAU pri 400-kratni povečavi, vinski kamen 63

Slika 23: Mikroskopska slika vzorca 5SAU pri 100-kratni povečavi, plavajoči delec . 64

Slika 24: Mikroskopska slika vzorca 6SPa pri 400-kratni povečavi, rastlinski delec ... 64

KAZALO PRILOG

- Priloga A: Povprečni rezultati meritev vpliva sorte na fizikalno-kemijske parametre s standardnim odklonom
- Priloga B: Povprečni rezultati meritev vpliva sorte na fizikalnokemijske parametre s standardnim odklonom (mg/L)
- Priloga C: Povprečni rezultati meritev vpliva sorte na hlapne aromatične spojine s standardnim odklonom (ploščina kromatografskega vrha/ 10^6)
- Priloga D: Povprečni rezultati hlapnih aromatičnih spojin z novim vlaknom (ploščina kromatografskega vrha/ 10^6)
- Priloga E: Povprečni rezultati meritev hlapnih aromatičnih spojin s starim vlaknom (ploščina kromatografskega vrha/ 10^6)
- Priloga F: Ocene posameznih ocenjevalcev senzorične analize po Bauxbaumovi metodi
- Priloga G: Mikroskopska slika vzorca 6SPa pri 100-kratni povečavi, kvasne celice in rastlinski delec
- Priloga H: Mikroskopska slika vzorca 6SPa pri 400-kratni povečavi, kvasne celice in rastlinski delec
- Priloga I: Mikroskopska slika vzorca 6SPb pri 400-kratni povečavi, kvasne celice in beljakovina
- Priloga J: Mikroskopska slika vzorca 5SAU pri 100-kratni povečavi, plavajoči delec beljakovinskega ali rastlinskega izvora
- Priloga K: Mikroskopska slika vzorca 5SAU pri 400-kratni povečavi, kristal vinskega kamna
- Priloga L: Mikroskopska slika usedline vzorca 6SPc pri 400-kratni povečavi, kvasne celice in kristal vinskega kamna
- Priloga M: Mikroskopska slika usedline vzorca 7ZS pri 400-kratni povečavi, celice kvasovk in kristal vinskega kamna
- Priloga N: Mikroskopska slika usedline vzorca 1BP pri 400-kratni povečavi, celice kvasovk in kristal vinskega kamna

Priloga O: Mikroskopska slika usedline vzorca 8ZV pri 400-kratni povečavi, celice kvasovk

Priloga P: Mirokopska slika usedline vzorca 3MF pri 400-kratni povečavi, kristal vinskega kamna, celice kvasovk

Priloga Q: Mikroskopska slika usedline vzorca 4MP pri 400-kratni povečavi, celice kvasovk in plavajoči delec beljakovinskega ali rastlinskega izvora

Priloga R: Kromatogram za vzorec 1BP

Priloga S: Kromatogram za vzorec 2CH

Priloga T: Kromatogram za vzorec 8ZV

Priloga U: Kromatogram za vzorec 3MF

Priloga V: Kromatogram za vzorec 4MP

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

A ₄₂₀	absorbanca pri 420 nm
A ₅₂₀	absorbanca pri 520 nm
AES	atomska emisijska spektroskopija
AF	alkoholna fermentacija
AOP	antioksidativni potencial
BP	beli pinot
CH	chardonnay
DPPH	2,2-difenil-1-pikril-hidrazil
FAN	prosti aminokislinski dušik (free amino nitrogen)
GC	plinska kromatografija
JK	jabolčna kislina
KHT	kalijev hidrogentartrat
LAB	mlečnokislinske bakterije (lactic acid bacteria)
LDA	Linear Discriminant Analysis ali linearna diskriminantna analiza
MF	modra frankinja
MK	mlečna kislina
MKF	jabolčno-mlečnokislinska fermentacija
MP	modri pinot
OTA	ohratoksin A
PCA	Principal Components Analysis ali metoda glavnih osi
PGO	priznana geografska označba
SAU	sauvignon
SE	skupni suhi ekstrakt
SP	sivi pinot

SPME	mikroekstrakcija na trdno fazo
VA	višji alkoholi
VK	vinska kislina
ZGP	zaščiteno geografsko poreklo
ZS	zeleni silvanec
ZV	zvrst

1 UVOD

Glede na tehnologijo predelave grozdja in pridelave vina se lahko pri belih vinih poslužujemo takojšnje predelave grozdja, dodatka encimov v drozgo, alkoholne fermentacije v posodah iz nerjavnega jekla ali barrique sodih. Po zaključeni alkoholni fermentaciji pa lahko poteka zorenje vina v prej omenjenih posodah krajši ali daljši čas, z ali brez zorenja na drožeh. Pri rdečih vinih se tehnologija pridelave nekoliko razlikuje, saj se pri rdečih vinih ne poslužujemo takojšnje predelave grozdja, ampak grozdje najprej maceriramo.

Za rdeča in bela vina je vedno bolj aktualna »sur lie« tehnologija pridelave. Običajno so zorenje na drožeh uporabljali za bela in peneča vina, vendar se vedno pogosteje uporablja tudi za rosé in rdeča vina. Zasluge za iznajdbo tega postopka imajo v Burgundiji, kjer so od nekdaj zelo pozorni na vlogo droži pri razvoju vina. Vsa vina niso enako primerna za sožitje z drožmi. Tanka vina celo izgubljajo sadnost, vina srednjih struktur pridobivajo polnost. Največ pa lahko pridobijo s tako nego bela vina, bogata z ekstraktom, in taninasta rdeča vina. Pri zorenju vina na drožeh je zelo pomembno redno premešavanje droži in občasno dovajanje kisika ali mikrooksigenacija. Takšen način zorenja vina naj bi trajal najmanj šest mesecev, lahko pa tudi več. Odmrle kvasne celice med zorenjem sproščajo iz celičnih sten v vino kvasne beljakovine, ki jih v največji meri predstavljajo manoproteini. Te snovi dajejo vinu večjo senzorično vrednost zaradi večje polnosti okusa, kakor tudi večjo stabilnost na izločanje soli vinske kisline in termolabilnih beljakovin. Manoproteini so pomembni tudi pri stabilizaciji aromatičnih spojin, imajo pa tudi pozitiven učinek na začetek, potek in dokončanje biološkega razkisa. Primarna sortna aroma je pri tako zorenih vinih zabrisana zaradi postopkov vinifikacije, ki ne temeljijo na ohranjanju le-te, pač pa so to vina, ki so uravnotežena na vonju in okusu in so primerna tudi za staranje. Po končani negi na drožeh se najprej kletari običajno, sledi pretok in shranjevanje v cisterni ali stekleničenje po enem mesecu ali dveh. Bela vina je potrebno pred stekleničenjem stabilizirati vsaj na termolabilne beljakovine, kar dosežemo z dodatkom bentonita.

Bela in rdeča vina se v okviru kemijske sestave razlikujejo predvsem po barvi, vsebnosti skupnih fenolov in antioksidativnem potencialu. V diplomski nalogi smo z različnimi metodami dokazovali razlike med določenimi fizikalno-kemijskimi parametri pri belih in rdečih vinih, zorenih na drožeh, prav tako smo proučevali razlike med posameznimi sortami in razlike med načinom zorenja, glede na to ali je vino zorelo v barrique sodu ali v inox posodi.

1.1 CILJI NALOGE

S primerjalno analizo osmih vzorcev belih in dveh vzorcev rdečih vin, različnih letnikov in zorenih z različnimi postopki zorenja, smo želeli ugotoviti značilne razlike v kakovostnih parametrih in dejanski vpliv zorenja na kvasovkah, predvsem na aromatični profil, antioksidativni potencial, oksidativno, barvno in beljakovinsko stabilnost vina ter fenolni profil.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

- pričakujem razlike v vsebnosti aromatičnih snovi med belimi in rdečimi vini; v okviru belih vin pričakujemo razlike tudi med sortami, letniki in načinom zorenja;
- pričakujem tudi razlike v fizikalno-kemijskih parametrih, stabilnosti in senzorični kakovosti vin.

2 PREGLED OBJAV

2.1 AMPELOGRAFSKI OPIS SORT

2.1.1 Sivi pinot

Njegovo originalno ime je Pinot gris, sinonim pa rulandec. Sodi v zahodnoevropsko skupino *Proles occidentalis*. Njegova domovina je Francija, kjer je nastal po mutacijski poti iz modrega pinota, tako kot vsi drugi sorodniki. Po podatkih ga je v začetku 18. stoletja prinesel iz Francije trgovec Ruland v Spayer v Nemčiji, od koder se je razširil v vse vinorodne dežele zmerne klime (Hrček in Korošec-Koruza, 1996). Na globokih rodovitnih tleh daje sivi pinot odlična vina, ki so sicer visokoalkoholna, vendar skladnega okusa z zaznavno kislino in značilno aromo. Sorta sivi pinot se je v Sloveniji uveljavila v vseh deželah in daje krepka skladna vina, ki se uvrščajo v sam vrh na regionalnih in državnih ocenjevanjih (Nemanič, 1996).

Videz: Barvne nianse vina nas včasih zmedejo, saj opazimo nežen navdih roza odtenka. Jagodna kožica vsebuje nekaj več rdečkastih odtenkov. Glede na način predelave grozdja srečamo vina od prosojne rumene barve do intenzivneje obarvanega, z zlatimi odtenki ali celo komaj opazno rosé nianso.

Vonj: Vino ima kombinacijo vonjev povprečne intenzitete eksotičnega sadja (ananas, grenivka), masla (v pozitivnem smislu), hrušk in cimeta.

Okus: Po okusu je to močnejše vino, sladkost etanola in višjih alkoholov pa nam daje občutek svilnatosti. Ob bogatem telesu je zaznavna kislina. Izrazitost določenih vin te sorte je zelo velika, kar otežuje kombinacije z jedmi. Lahko si ga privoščimo med obroki (Nemanič, 1996).

2.1.2 Beli pinot

Sinonima za beli pinot sta dva: beli burgundec in bela klevna. Sodi v zahodnoevropsko skupino sort *Proles occidentalis*. Njegova domovina je Francija, kjer nosi ime Pinot blanc. Najbolj je razširjen v Franciji, najdemo pa ga tudi v deželah zmerne klime ter celo v Južnoafriški republiki in v Kaliforniji. Beli pinot daje v dobrih legah visokokakovostno belo vino, ki je polno, s svojevrstno kislino, lepo cvetico in okusom, nima pa posebno izrazitega sortnega značaja (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

Videz: Vino je svetlorumene barve, ki se z leti približa zlatorumenemu odtenku.

Vonj: Vino je prijetno aromatično s sledovi vonjev po svežem sadju: jabolku, jagodnem listju, grenivki, pri zelo uspelem vinu lahko tudi po kutini in karameli.

Okus: Pri teh vinih večinoma zasledimo lepo, dovolj bogato telo, retronazalno po limoni, grenivki. Zaradi nižjih skupnih kislin je milejšega okusa in tak spomin ostane tudi, ko požirek zaužijemo (Nemanič, 1996).

2.1.3 Sauvignon

Sauvignon spada po ekološko-geografski razvrstitvi sort po Negrulju v zahodnoevropsko skupino *Proles occidentalis*. Njegova domovina je Francija, kjer nosi originalno ime Sauvignon blanc. Razširjen je v Franciji in deželah zmerne klime. Sorta ni preveč izbirljiva za tla, vendar bolj uspeva v dobrih zemljah. Na apnenih tleh se ne počuti dobro. Sauvignon štejemo med naše visokokakovostne sorte za bela vina zaradi značilnega sortnega karakterja, ki je odvisen od vrste zemlje in mikroklima. Po vsebnosti alkohola je sicer vino srednje močno. V uradnem sortimentu je sauvignon zastopan v vseh treh vinorodnih deželah in okoliših, razen v dolenskem in belokranjskem, kjer je bil vnesen kot dovoljena sorta (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

Videz: Vino je zelenkasto rumenkaste barve.

Vonj: Primarne arome so izrazite in sortno značilne ne glede na poreklo, čeprav se po niansah razlikujejo. V Sloveniji in srednji Evropi spominja sortna aroma, glede na tla in mikroklimo, na bezgov cvetni vonj, pokošeno travo ali ribezove liste. Tudi vonj po beluših je sestavni del arome tega vina.

Okus: Polno telo ob skoraj praviloma zadostni kislini deluje okusno, sveže. Premalo zrelo grozdje se izrazi v vinu z grenčico na jeziku, ki tudi priča o lahko razpoznavnem značaju te sorte. Tako vino je tudi bolj kislo in zaprtega karakterja. Glede na stopnjo izrazitosti sorte lahko manj izrazita vina postrežemo k ribji ali zelenjavni juhi, bolj izrazita pa k ribi v omaki. Še boljši letniki »premagajo« celo kozje sire (Nemanič, 1996).

2.1.4 Zeleni silvanec

Zeleni silvanec ima več sinonimov: mušica, silvanec, zeleni plešec, zeleni silvaner. Sodi v zahodnoevropsko skupino sort *Proles occidentalis*. Nekateri avtorji celo trdijo, da so to sorto poznali že Rimljani; drugi navajajo, da se je pojavila najprej v Pfalzu v Nemčiji, tretji pa da v Avstriji. Obstaja tudi mišljenje, da se je razvila iz divje trte, ki raste ob Donavi. Prevladuje mišljenje, da je ta sorta prišla iz Transilvanije. Najbolj je razširjen v Nemčiji, najdemo ga tudi v drugih evropskih deželah in seveda pri nas v Sloveniji, kjer pa ga je manj kot v preteklosti (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

Videz: Vino je slamnato rumene barve z zelenimi odtenki.

Vonj: Sortna aroma je sicer šibka, vendar prijetna in enostavna. Prevladuje vonj po nezrelah jabolkih z nekaj niansami cvetličnega vonja.

Okus: Odlikuje se po svežini, lahкотnosti, praviloma bi moral biti CO₂ prisoten in opazen na oko in usta, ta mu daje prijetno kislost. Vino sorte zeleni silvanec nima velikih možnosti za zorenje, to je vino, ki se pije mlado. Je prijetno, pitno vino, kot ustvarjeno za vsak dan ob jedi, to pa je tudi odlična referenca sorte. Po kislini ni bogat, v slabših letnikih in na težkih tleh je kislina višja, surova (Nemanič, 1996).

2.1.5 Chardonnay

Še do nedavnega so ga enačili s sorto beli pinot. Danes ga povsod obravnavajo kot samostojno sorto.

Spada med zahodnoevropsko skupino sort *Proles occidentalis*. Njegova domovina je vinorodna pokrajina Champagne v Franciji (Hrček in Korošec-Koruza, 1996). Po francoskem prepričanju naj bi bila ta sorta najplemenitejša med vsemi belimi sortami (Nemanič, 1996). Kot kakovostna vinska sorta je zelo razširjen in cenjen v številnih vinogradniških deželah v svetu. Že to, da je danes vino chardonnay med najbolj cenjenimi vini ne samo pri nas, temveč v svetu nasploh, dovolj zgovorno govori o njegovi gospodarski vrednosti. Seveda pa pri tem ne smemo pozabiti, da ta sorta postavlja tudi nekatere zahteve pridelovalcem, če hočejo doseči tudi boljšo kakovost, kot smo jo nekoč dosegali recimo pri belem pinotu (Hrček in Korošec-Koruza, 1996). Vinogradniki ga imajo radi, ker je krepke rasti, dovolj roden in neproblematičen za obdelovanje. Kletarjem je všeč poln okus, visoka sladkorna stopnja v grozdju, ki praviloma izključuje njen popravek. Že mlado vino ponuja degustacijska zadovoljstva, z zorenjem v steklenici mu kakovost praviloma narašča in sodi med najbolj hvaležna vina za arhiviranje (Nemanič, 1996).

Videz: Barve so rumeno slamnate do zlate, le redkokdaj se pojavijo zeleni odtenki (Nemanič, 1996).

Vonj: Vina chardonnay so znana po bogati, izraženi in sestavljeni sortni vonjavi, ki pa se glede na razprostranjenost na različnih geografskih širinah razlikuje od porekla do porekla. V severnejših vinorodnih območjih se pri mladih vinih zaznavajo vonjave po jabolkah, hruškah in breskvah, vina iz južnih krajev pa dišijo izraziteje po agrumih, meloni, ananasu, svežih lešnikih in karameli. Z zorenjem vina razlika v vonjih ni več tako izrazita, ker se primarne arome po grozdju spremenijo in prihajajo v ospredje vonjave po maslu, medu, čebelnem vosku, vaniliji, mineralih, začimbah, suhih lešnikih in orehih (Nemanič, 1996).

Okus: Chardonnay sodi med sorte, ki dajejo krepka, bogata vina, kar se izraža tako v polnosti, ki jo čutimo v ustih, ko s požirkom na jeziku čakamo na zaznave, kot tudi v dolžini vtisa po požirku, ki traja. Značilno je ravnotežje med kislinami in alkoholi v ustih. Bogastvo ekstrakta ne dovoljuje, da bi prišle v ospredje kisline, ki so ponavadi v obliki skupnih kislin dobro zastopane; dajejo mu svežino, kljub bogatemu-težjemu telesu. Sorta chardonnay je primerna za pridelavo vin posebne kakovosti. Razkošje vonjev in okusov, ki se izraža že pri vinih normalne trgatve, se še stopnjuje pri poznih trgativah, izborih, jagodnih izborih, itn. (Nemanič, 1996).

2.1.6 Modra frankinja

Spada v skupino črnomoškega bazena – *Proles pontica*. Za tla ni zahtevna. Uspeva tudi na težkih apnenčastih tleh, najbolje pa na globokih, rodovitnih ilovnatih tleh, ki so lahko delno peščena. Zaradi bujne rasti, ki je predvsem v vlažnih letih pretirana, zahteva strokovno obdelavo, predvsem pri zimski rezi in gnojenju vinograda, sicer je v vinogradu neproblematična (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

Videz: Intenzivno rubinasto rdeče barve, ki dolgo ohrani mladosten videz in šele po nekaj letih zorenja v steklenici opazimo spreminjanje videza s pojavom opečnatih in kavnih odtenkov (Nemanič, 1996).

Vonj: Sortno značilen vonj je blag, topel, v mladosti sadnega značaja, v zrelosti po usnju, praženi kavi, čokoladi. Mlado vino s kratko maceracijo kaže vonjave po drobnih rdečih sadežih (Nemanič, 1996).

Okus: Srednje težko rdeče vino, v dobrih letnikih je razmerje med kislino in taninskimi snovmi uravnano v dobro harmonijo. Povprečni letniki se kažejo v višji kislости, ki ne prenese večje količine taninov, zato sta priporočljivi krajša maceracija in prodaja vina v prvem letu po trgatvi. Po treh letih so vina še vedno v vzponu, toda že zelo zanimiva za pokušanje (Nemanič, 1996).

2.1.7 Modri pinot

Plinij je opisal modri pinot iz okolice Rhone v Franciji že na začetku našega štetja. Prva listina o modrem pinotu iz Nemčije pa sega v leto 1394 (Nemanič, 1996). Modri pinot, pravijo mu tudi modri burgundec, sodi v zahodnoevropsko skupino sort – *Proles occidentalis*. Izvira iz Burgundije v Franciji in nosi originalno ime Pinot noir. Največ ga je seveda v njegovi domovini Franciji. Gojijo ga v večjem ali manjšem obsegu v vseh deželah zmernega pasu (Korošec-Koruza in Hrček, 1996). V Burgundiji dosega zadostno zrelost le na dobrih legah. Je sorazmerno siromašen s taninskimi snovmi in kislinami, povprečno obarvan in hitro zori. Pomanjkanje sonca se izraža z neizrazitim burgundskim karakterjem, kar pomeni tudi odsotnost vonjav po rdečih sadežih in mehki tanini. Za kletarjenje je občutljiv (Nemanič, 1996).

Videz: Svetlejša rubinasto rdeča barva z razvojem dobiva bakrene in rjavkaste nianse kavnega odtenka (Nemanič, 1996).

Vonj: Z nosom zaznamo značilno okusno vinsko aromo. V mladosti se zaznajo vonjave po jagodičju, pozneje po marmeladi iz teh sadežev, z razvojem se oblikujejo rastlinski vonji (humus, gomoljika, kava), nato živalski vonji (usnje, krzno) (Nemanič, 1996).

Okus: Uspela vina vsebujejo bogato glicerinsto telo, ki se kaže v sortni tipiki, skladnosti, polnosti, oljnatosti v ustih in mehkih taninih. V ustih je uravnotežen, v manj ustreznih vinorodnih območjih se sorti zmanjša tipičnost. Modri pinot je primeren tudi za belo vinifikacijo, kot osnova za peneče vino in za pridelavo rosé vin, ki se od drugih sort

razlikujejo po nežnem vonju, toda mehke in polne telesu. Za zorenje je primerno samo vino, če je pridelek grozdja na trto majhen (Nemanič, 1996).

2.2 VINORODNI OKOLIŠ ŠTAJERSKA SLOVENIJA, VINORODNA DEŽELA PODRAVJE

2.2.1 Klet in vinarstvo na Ptuju

Najstarejše slovensko mesto je tudi najstarejše mesto trte in vina. Vino so v rimski Petovii



Slika 1: Notranjost ptujske vinske kleti (Hazler, 2007)

negovali že pred več kot dva tisoč leti, današnja vinarska kultura pa temelji na dejavnosti minoritov, ki so v mestu leta 1239 ustanovili samostan in skupaj z imenitno štiriogelno stavbo zgradili najstarejšo ohranjeno klet na Slovenskem (Hazler, 2007). Minoriti so skupaj z dominikanci postali fevdalni gospodje obširnih posesti predvsem v Haložah, kakor tudi graditelji prvih večjih kleti. Prav najstarejša, še danes ohranjena vinska klet na Ptuju, se nahaja v Minoritskem

samostanu. V stoletjih, ki so sledila, so se cerkvi, poleg ptujskega plemstva, v vinski trgovini pridružili še številni meščani. V sodobni zgodovini se prvenstveno omenja podjetje Kmetijskega kombinata Ptuj, ki je v zadnjih štiridesetih letih obdeloval približno 700 hektarjev vinogradov v Haložah in Srednjih Slovenskih goricah. Ob osamosvojitvi Slovenije in s tem tudi spremenjenimi razmerami na trgu je Vinarstvo Slovenske gorice-Ptujska klet d.o.o., sprejelo odločitev, da se dejavnost "zoži" na panogo vinarstva, pridelek-grozdje pa si zagotovi preko vinogradnikov kooperantov in odkupu na prostem trgu (Meško in sod., 2004).

Od 1.8.2002 je ptujsko vinarstvo zaživel v novi obliki organiziranosti in sicer kot družba z omejeno odgovornostjo, Vinarstvo Slovenske gorice - Ptuj d.o.o. v 100 % lasti novih lastnikov, to je družbe Perutnina Ptuj d.d.. Vsebinsko delovanje družbe, ostaja enaka. Obseg delovanja se prilagaja potrebam in viziji podjetja in njenih lastnikov. Osnovna dejavnost je pridelava vin, stranska pa proizvodnja žganih pijač in sadnih sirupov. Danes je število kooperantov cca. 110, ki skupaj z odkupom na prostem trgu ter od Kmetijske zadruge Ptuj, zagotavljajo nemoteno delovanje ptujske kleti in zagotovitev potrebe po ptujskem vinu. Pridelek letno znaša okrog 3,5 mio litrov vina. Od tega je belih vin cca. 85 %, preostali del pa rdeča vina. Sortna zastopanost je precej široka: laški rizling, zeleni silvanec, šipon, beli in sivi pinot, sauvignon, chardonnay, renski rizling, rumeni muškata, muškata otonel in traminec. Ob sortnih vinih, pri katerih prevladuje laški rizling velja omeniti glavni pridelek, vino Haložan, zvrst večjih belih sort. Barve rdečih vin zastopajo sorte modri pinot, modra frankinja in žametna črnina (Meško in sod., 2004).

Pomožna dejavnost podjetja pa se še kaže v eni izmed najpomembnejših panog gospodarstva, to je turizmu. Trudijo se gostu ponuditi kakovosten program ogleda kleti in

pokušine vin. Iz tega razloga so klet opremili s svetlobnimi in zvočnimi efekti. Druga novost, ki se nahaja v Vinskem hramu, je multivizija z naslovom: "Ko se kaplja zaiskri". Zahvaljujoč novemu, predvsem pa drugačnemu pristopu in aktivnemu trženju kleti, se danes lahko pohvalijo s cca. 13.000 obiskovalcev na leto (Meško in sod., 2004).

V klet nas z dvoriščne strani poslovne stavbe Ptujске kleti popeljejo stopnice, ki se iztečejo v povprek postavljeno banjasto obokano klet, pozidano iz kamna in opeke. Kletni prostori so povsem zapolnjeni z velikimi ovalnimi sodi, postavljenimi v dveh vrstah na betonske gantarje. Sodi so opremljeni s podatki o zmogljivosti in na čelnih straneh okrašeni z raznovrstnimi motivi iz vinogradniškega in kletarskega življenja (Hazler, 2007).

Sedanje podjetje z več deset zaposlenimi kletarji, enologi in drugimi sodelavci skrbi za ohranjanje ugleda te imenitne kleti. Po najsodobnejših metodah klet neguje prvovrstna bela in rdeča vina, ki pritegnejo obiskovalce iz vsega sveta. Nad kletjo so upravni prostori podjetja, polnilnica, vinski hram za degustacijo in promocijo ter z lastnimi vini dobro založena vinoteka (Hazler, 2007).

2.2.2 Srednje Slovenske gorice in Haloze z obrobnim pogorjem

Ptuj je naravno in gospodarsko središče dveh slovenskih vinorodnih območij, Srednjih Slovenskih goric in Haloz, čeprav leži na robu obeh, na mejnem stičišču. Mesto leži v severovzhodnem delu Slovenije, ob Dravi in pod hribom, na katerem se mogočno dviga grad. Zahodno od mesta je Dravsko polje, na vseh drugih straneh pa vinorodne pokrajine, in sicer na severovzhodu Slovenske gorice, na jugovzhodu pa Haloze (Prunk, 1994).

2.2.2.1 Haloze

Gričevnate Haloze se v razmeroma ozkem 6-10 km pasu raztezajo v dolžini čez 30 km vzdolž slovensko-hrvaške meje. Prisojna pobočja Haloz so zasajena z vinsko trto, osojna pa so poraščena z gozdovi. Vinogradi ležijo na zelo strmih pobočjih, na Janškem Vrhu segajo celo do 461 m nadmorske višine (Prunk, 1994).



Slika 2: Haloze (Kuljaj, 2005)

V Halozah prevladujejo lapornata in apnenčasta tla, ki so za aromatične in buketne snovi v grozdju najugodnejše, zato v haloških vinogradih odlično uspevajo sorte: sauvignon, renski rizling, rumeni muškat in traminec. Za pridelavo kakovostnega in vrhunskega grozdja pa so pomembne tudi podnebne razmere: toplota, osončenost in padavine. Haloze so območje, kjer se omiljeno alpsko in panonsko podnebje srečujeta in kombinirata v za vinsko trto

idealno tako imenovano prehodno klimo, kakršna je v Evropi samo še v

severnih vinorodnih pokrajinah kot so npr. Burgundija, Porenje, Champagne. Zato ni nenavadno, da v Halozah uspevajo tiste sorte belih vin, ki uspevajo samo v najznamenitejših vinorodnih pokrajinah Evrope (Prunk, 1994).

Sorte vinske trte, ki se smejo saditi v vinorodnem podokolišu Haloze (Pravilnik o razdelitvi..., 2003):

- priporočene sorte: laški rizling, renski rizling, šipon, sauvignon, beli pinot, chardonnay, rumeni muškat, muškat ottonel, traminec, dišeči traminec, sivi pinot, modri pinot;
- dovoljene sorte: zeleni silvanec, ranina, rizvanec, kraljevina, ranfol, bela žlahtnina, kerner, rdeča žlahtnina, modra frankinja, zwiebelt.

2.2.2.2 Srednje Slovenske gorice

Vinorodni podokoliš Srednje Slovenske gorice se razprostira severno od Haloz. V svoji skrajni jugovzhodni točki se začneja pri Veliki Nedelji. Južna meja poteka nekaj kilometrov južneje od železnice in ceste Velika Nedelja-Ptuj, skoraj vzporedno z njima na zahod do Ptuja. Tu se obrne proti severozahodu po levem bregu Drave, mimo Dvorjan zahodno od Lenarta proti Severu nekako do avstrijske meje pri Cmureku. Njegovo severovzhodno in vhodno mejo riše Ščavnica, vse do Bučkovcev, od koder se v majhnem loku, napetem na zahod, spušča proti Veliki Nedelji. Podnebje je tu podobno kot v Halozah, tla pa so pretežno ilovnato peščena. Konfiguracija je tu bistveno drugačna kot v Halozah. Griči so nižji in manj strmi, tako da pokrajina daje videz rahle valovitosti. Srednje Slovenske gorice imajo dovolj vode, saj sredi njih teče reka Pesnica, kar omogoča

gojenje številnih zahtevnejših kmetijskih kultur. Tu se žitna polja prepletajo s travniki, vmes pa so po gričih zasajeni vinogradi. Poznamo številne vinogradniške lege, ki dajejo vino raznih belih sort, kot npr. renski in laški rizling, kerner, sauvignon, chardonnay, zeleni silvanec, rulandec in rumeni muškat, ki mu izjemno prija tukajšnje tople, prisojne, razmeroma nizke lege. V gravitacijsko območje ptujske kleti spadajo samo lege v južnem delu srednjih Slovenskih goric. V tem delu so že od prejšnjega stoletja vinogradništvu in vinarstvu namenjali veliko pozornosti (Prunk, 1994).

Sorte vinske trte, ki se smejo saditi v vinorodnem podokolišu Srednje Slovenske gorice (Pravilnik o razdelitvi..., 2003):

- priporočene sorte: laški rizling, beli pinot, chardonnay, sauvignon, šipon, dišeči traminec;
- dovoljene sorte: rumeni muškat, rizvanec, zeleni silvanec, sivi pinot, traminec, renski rizling, ranina, ranfol, kerner, muškat ottonel, bela žlahtnina, modra frankinja, portugalka, modri pinot, rdeča žlahtnina, zweigelt, gamay, žametovka.

2.3 GROZDNA MIKROFLORA

Na površini grozdne jagode živi pisana družba mikroorganizmov. Razdelimo jih lahko glede na kakovost alkoholnega vrenja mošta na škodljive in koristne oziroma na žlahtne in nežlahtne kvasovke ter druge mikroorganizme (bakterije, plesni). Na površino grozdne jagode pridejo mikroorganizmi z vinogradniških tal, z dežnimi kapljicami ali ob pomoči žuželk. Največ mikroorganizmov je v zemlji takoj po končani trgatvi. Na odpadlih, zrelih in pogosto poškodovanih jagodah se mikroorganizmi zelo hitro razmnožujejo, ker imajo na voljo dovolj hrane, zračnega kisika in jeseni med trgatvijo tudi ugodno temperaturo. Če pade toča ali če plesen vrste *Botrytis cinerea* s svojim bogatim encimskim kompleksom razgradi jagodno kožico, obstaja večja nevarnost, da se že na grozdju v vinogradu hitro razmnožijo tudi kvarljivci, razvijejo se lahko še procesi, ki zelo negativno vplivajo na kakovost bodočega vina. Število mikroorganizmov in njihova sestava na grozdni jagodi sta odvisna od številnih dejavnikov, kot so zdravstveno stanje jagod, višina grozda na trsu, bogastvo mikroorganizmov v tleh, podnebni dejavniki ter vrste in načini škropljenja (Šikovec, 1993).

2.4 SESTAVINE MOŠTA IN VINA

2.4.1 Voda

Voda je najbolj zastopana spojina v vinu, saj jo vino vsebuje 75 do 85 %. Zaradi vode se vino obnaša kot tekočina, deluje kot topilo in kot reagent v kemijskih reakcijah v celotnem procesu pridelave od grozdja do zorenja vina (Bavčar, 2009).

2.4.2 Etanol

Etanol je najpomembnejši alkohol v vinu. Nastane kot posledica delovanja kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* v času alkoholne fermentacije. Vinu daje stabilnost, deluje kot topilo in zagotavlja posebne senzorične lastnosti. Glavni vir etanola so ogljikovi hidrati v moštu. Količinsko je etanol skupaj z ogljikovim dioksidom glavni produkt alkoholne fermentacije, vpliva na metabolizem kvasovk in posledično na vrsto in količino nastalih spojin v vinu. Omejuje rast in razmnoževanje kvasovk ter drugih mikroorganizmov.

Etanol je kot spojina pomembno topilo v ekstrakciji barvil in taninov med vinifikacijo rdečih sort. Raztaplja hlapne snovi, ki se akumulirajo med fermentacijo, in tiste, ki se oblikujejo med staranjem v leseni posodi. Pri tvorbi hlapnih snovi sodeluje kot reaktant, pri staranju vina pa počasi reagira z organskimi kislinami in tvori estre, z aldehidi pa acetale. Vinu senzorično doda svoj specifičen vonj ter okus, stopnjuje zaznavo sladkosti in grenkobe, v večjih koncentracijah pa deluje pekoče (Bavčar, 2009).

2.4.3 Metanol

Metanol ali metilni alkohol ni proizvod alkoholne fermentacije, ampak je posledica hidrolize pektinskih snovi pod vplivom encima pektinmetilesteraze.

Zanimanje za metanol je večje zaradi njegove negativne lastnosti, da se v človeškem telesu oksidira v formaldehid in mravljinčno kislino. Med normalnim procesom vinifikacije metanol nikoli ne doseže škodljive koncentracije, kar velja tudi za uporabo pektolitičnih encimov. Vina iz grozdja, okuženega s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*, imajo splošno večjo koncentracijo metanola. Koncentracija metanola je v rdečih vinih nekoliko večja kot v belih. Metanol ne vpliva na senzorične lastnosti vina in minimalno reagira z drugimi spojinami v vinu (Bavčar, 2009).

2.4.4 Višji alkoholi

Višji alkoholi so alkoholi z več kot dvema ogljikovima atomoma (Bavčar, 2009) in so produkt metabolizma kvasovk. Nastanejo pri razgradnji sladkorja in pri izkoriščanju dušika iz aminokislin. Koncentracija je odvisna od pogojev fermentacije, predvsem pa od seva kvasovk (Jackson, 1994). Predstavljajo približno 50 % vseh aromatičnih snovi v vinu, če

ne upoštevamo etanola. Pomembni so pri zorenju vina, saj se iz njih tvorijo estri. Največ jih nastane med samo alkoholno fermentacijo, nekaj pa jih je prisotnih tudi v grozdju (2-etilheksanol, 3-oktanol, 2-feniletanol in 1-okten-3-ol). Večina višjih alkoholov iz grozdja med alkoholno fermentacijo odhlapi iz posode in minimalno vplivajo na končni vonj vina. Med alkoholno fermentacijo njihova sinteza poteka vzporedno s sintezo alkohola. Lahko nastajajo iz ustreznih aminokislin ali iz sladkorjev (Bavčar, 2009). Med fermentacijo nastane na 80-100 g etanola približno 1 g aromatičnih snovi. Med njimi prevladujejo višji alkoholi kot so: izoamil alkohol, izobutanol in 2-feniletanol (Košmerl in Kordiš-Krapež, 1996). Ker višji alkoholi nastajajo do konca fermentacije, so z raziskavami ugotovili, da koncentracija aminokislin ne zadostuje za vse skupne višje alkohole. Približno 35 % višjih alkoholov izhaja iz sladkorjev. Kvasovke povečajo tvorbo višjih alkoholov tudi zaradi stresa ob pomanjkanju sladkorjev proti koncu alkoholne fermentacije. Na končno koncentracijo višjih alkoholov v vinu vpliva več dejavnikov: različni sevi kvasovk, višja temperatura alkoholne fermentacije, več prisotnega kisika, višji pH, manj bister most pomeni več višjih alkoholov. Med alkoholno fermentacijo se v vinu tvorijo predvsem izoamil alkohol (3-metil-1-butanol), amil alkohol (2-metil-1-butanol), izobutil alkohol (2-metil-1-propanol) in *n*-propanol. Izoamil alkohol predstavlja več kot 50 % vseh višjih alkoholov. Bela vina imajo običajno manjšo koncentracijo višjih alkoholov kot rdeča vina. Največje koncentracije višjih alkoholov so v vinih posebne kakovosti. Skupna koncentracija višjih alkoholov do 350 mg/L v vinih še pripomore k boljši senzorični kakovosti vina, večje koncentracije pa so že sporne in moteče. Višji alkoholi so lahko tudi posledica delovanja nezaželenih kvasovk in bakterij (Bavčar, 2009).

2.4.5 Alkoholi z več hidroksilnimi skupinami

Večkrat jih imenujemo tudi poliol, saj imajo tri ali več hidroksilnih skupin. Zaradi sladkega okusa jih pogovorno opišemo kot sladki alkoholi. Vinu dajejo uravnoteženost in poudarijo telo, še posebno pri vinih posebnih kakovosti. Najpomembnejši predstavniki so glicerol, manitol, eritrol, arabinol, sorbitol, ksilitol in mezoinozitol (Bavčar, 2009).

2.4.5.1 Glicerol

Glicerol je stranski produkt alkoholne fermentacije, čeprav je lahko prisoten že v grozdju. V suhih vinih ga je poleg vode in etanola največ. Na končno koncentracijo glicerola v vinu vpliva temperatura fermentacije, saj se v intervalu od 15 do 25 °C koncentracija glicerola povečuje. Prav tako na koncentracijo glicerola vplivajo različni sevi kvasovk, koncentracija razpoložljivih sladkorjev v moštu, koncentracija dušikovih spojin in razmerja aminokislin ter koncentracija žveplovega dioksida. Predstavniki avtohtone mikroflore, kot so kvasovke vrst *Kloeckera apiculata*, *Metschnikowia pulcherrima* in *Candida stellata*, izkazujejo boljšo sposobnost tvorbe glicerola kot sama *Saccharomyces cerevisiae*. Tudi prisotnost plesni vrste *Botrytis cinerea* vpliva na povečanje koncentracije glicerola. Glicerol deluje rahlo sladko in pripomore k občutku polnosti, predvsem v belih suhih vinih. Glicerol je v vinu sicer stabilen, lahko pa služi tudi kot vir ogljika za mikroorganizme, kot so ocetnokislinske bakterije in nekatere mlečnokislinske bakterije (Bavčar, 2009).

2.4.6 Sladkorji

Nastajajo v zeleni listni površini trte iz anorganskega, z energijo siromašnejšega, ogljikovega dioksida, ki ga listi dobivajo iz zraka in iz vode preko koreninskega sistema. Pojav imenujemo asimilacija, do katere pride zaradi klorofila kot katalizatorja ob sodelovanju sončne svetlobne energije. Tako nastane sladkor in se sprosti kisik (Šikovec, 1993).

V grozdju, moštu in vinu se nahajajo monosaharidi, disaharidi in polisaharidi. Njihova končna koncentracija v vinu je pomembna za mikrobiološko stabilnost vina, za delitev vina v »sladkorne« kategorije in predvsem za senzoriko vina (Bavčar, 2009).

2.4.6.1 Monosaharidi

Heksoze so najpomembnejši in tudi količinsko najbolj zastopani ogljikovi hidrati, tako v moštu kot tudi v vinu. So produkti fotosinteze vinske trte in so glavni substrat za kvasovke pri alkoholni fermentaciji kot vir energije, za tvorbo etanola, višjih alkoholov, estrov maščobnih kislin in aldehydov. Pomembni heksozi sta glukoza in fruktoza. Oba monosaharida sta sestavljena iz šestih ogljikovih atomov in imata enaki empirični formuli, ločita pa se po lokaciji funkcionalne karbonilne skupine. Na koncentracijo glukoze in fruktoze vplivajo številni dejavniki: sorta, stopnja zrelosti grozdja, klima, tla, agrotehnični ukrepi in prisotnost plesni. Večinoma je koncentracija heksoz v vinu med 180 in 220 g/L. Njuna skupna koncentracija je eden najpomembnejših podatkov za določitev zrelosti grozdja in kasneje določa tudi ceno samega grozdja. Razmerje med glukozo in fruktozo se spreminja glede na dozorevanje grozdja. Na začetku prevladuje glukoza, v polni zrelosti pa je razmerje 1:1. Po polni zrelosti narašča koncentracija fruktoze. Kvasovke najprej porabijo glukozo, nato pa fermentirajo še fruktozo. Izjemoma naj bi pri koncentracijah nad 250 g/L hitreje fermentirala fruktoza, zato v preostanku sladkorja v vinu prevladuje fruktoza, ki je 1,5-krat slajša od glukoze. Oba monosaharida reducirata Fehlingovo raztopino in ju zato imenujemo reducirajoča sladkorja. Koncentracija reducirajočih sladkorjev je odločilna za senzorične lastnosti vina, za zaznavo sladkega okusa pa so pomembni tudi vplivi ostalih spojin, kot so etanol, kisline in fenoli (Bavčar, 2009).

Pentoze so ogljikovi hidrati s petimi ogljikovimi atomi. V moštu in vinu jih je mnogo manj kot heksoz. Izkazujejo lastnost redukcije Fehlingove raztopine in tako povečajo koncentracijo reducirajočih sladkorjev, hkrati pa jih kvasovke ne morejo porabiti kot substrat. Glavne pentoze v vinu so arabinoza, ksiloza in ramnoza. Največjo koncentracijo v vinih dosega arabinoza (Bavčar, 2009).

2.4.6.2 Disaharidi

Saharoza je predstavnica disaharidov v vinih, kjer je pomembna energetska zaloga. Saharoza je optično aktiven diglikozid, sestavljen iz glukoze in fruktoze. Glukoza in fruktoza sta povezani preko kisikovega atoma med prvim ogljikovim atomom v molekuli glukoze in drugim ogljikovim atomom v molekuli fruktoze. Čeprav saharoze same po sebi kvasovke ne uporabljajo direktno, pa privzemajo produkte njene hidrolize, glukozo in fruktozo, ki jih kvasovke pridobijo s pomočjo encima invertaze (Bavčar, 2009).

2.4.6.3 Polisaharidi

Polisaharidi imajo v grozdju dve pomembni funkciji, strukturno (celuloza, pektin) in energetsko (škrob). V vino preidejo skupaj z moštom med drozganjem in stiskanjem ali pa kot posledica mikrobiološke aktivnosti. Ponavadi je njihova koncentracija večja v rdečih vinih, kjer v tehnološkem postopku uporabimo višjo temperaturo za ekstrakcijo barvnih spojin. Polisaharidi lahko zaradi velikosti molekul in koloidnih lastnosti predstavljajo probleme pri filtraciji in preprečujejo bistrenje vina (Bavčar, 2009).

Celuloza in hemiceluloza sta sestavini celičnih sten grozdnih jagod in se zelo slabo ekstrahirata v mošt. Enako strukturno vlogo ima tudi pektin. Pektin v moštu se obarja ali pa se encimsko razgradi. Z uporabo pektolitičnih encimov pride ob razgradnji pektina do obsežnejše sprostitve metanola v mošt in vino. Poleg galakturonske kisline vsebuje pektin tudi stranske verige, sestavljene iz galaktoze, arabinoze, ramnoze in ksiloze (Bavčar, 2009).

Pomembni so tudi drugi polimeri in kratkoverižni oligomeri, kot so glukani. Ti nastajajo kot posledica okužbe grozdja s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*. Ta tvori dva glukana, ki ju imenujemo β -glukana. Ti glukani preprečujejo čiščenje vina (Bavčar, 2009).

Vsekakor je koncentracija polisaharidov v donegovanem vinu zelo majhna. Del jih prispevajo tudi kvasovke iz svojih celičnih sten, predvsem med podaljšanim zorenjem vina na drožeh (Bavčar, 2009).

2.4.7 Kisline

V moštu in vinu najdemo predvsem organske kisline, ki so različnega izvora. Vinska in jabolčna kislina sta rezultat nepopolne oksidacije sladkorjev in iz grozdne jagode prehajata v mošt. Kot posledica delovanja plesni vrste *Botrytis cinerea* se lahko izrazito povečata koncentraciji citronske in glukonske kisline. Med alkoholno fermentacijo nastajajo še druge organske kisline, kot so mlečna, očetna in jantarna kislina ter v zelo majhnih količinah še ostale kisline iz cikla trikarboksilnih kislin. Bakterije tvorijo znatne količine mlečne in očetne kisline (Bavčar, 2009).

2.4.7.1 Vinska kislina

Vinska kislina je v vseh delih vinske trte kot *D*-vinska kislina. Oksidacija te kisline v grozdnih jagodah poteka samo pri višjih temperaturah nad 30 °C (Šikovec, 1993). Vinske kisline je v grozdju od 5 do 10 g/L mošta in je običajno najbolj zastopana kislina tako v moštu kot v vinu. Skupaj z jabolčno kislino pogosto dosežata 90 % vseh nehlapnih kislin. Mikroorganizmi je ne uporabijo kot substrat, zato vinsko kislino uporabljamo za dokisanje. Ker je slabo topna, se izloča kot sol tartrat, ki jo pogovorno imenujemo vinski kamen (Bavčar, 2009). Med razvojem in dozorevanjem jagod prehaja prvotno prosta vinska kislina z dotokom v vodi raztopljenih alkalij iz tal preko koreninskega sistema v grozdno jagodo v obliki njenih soli. Najbolj zastopana sol je primarni kalijev tartrat, ki se pojavlja

že v grozdju. Zaradi izločanja soli vinske kisline se lahko zniža kislost vina (Šikovec, 1993).

2.4.7.2 Jabolčna kislina

Kot produkt nepopolne oksidacije sladkorja v listju prehaja v jagodo, kjer tudi sama delno oksidira naprej do vode in ogljikovega dioksida. V primerjavi z vinsko kislino, za katere oksidacijo je najbolj primerna temperatura 37 °C, je za razgradnjo jabolčne najprimernejša temperatura 28-30 °C. To organsko kislino v jagodah celice najpogosteje porabljajo za respiracijske procese (Bavčar, 2009).

V grozdju in moštu je tudi jabolčna kislina večinoma v obliki soli - malatov. V vinu je jabolčna kislina biološko neobstoja in se pod vplivom raznih mikroorganizmov pretvori v mlečno kislino in druge stranske nezaželenne proizvode. Kadar želimo znižati titracijske kisline takoj po končanem alkoholnem vrenju, mladega vina ne pretočimo in mošta ne žveplamo, da mlečnokislinske bakterije lahko opravijo biološki razkis in razgradijo jabolčno kislino v milejšo mlečno (Bavčar, 2009).

2.4.7.3 Citronska kislina

Je redna spremljevalka jabolčne kisline v grozdni jagodi, čeprav je fiksirana na celične stene, zato pri predelavi težje prehaja v mošt in je precej ostane na tropinah. Citronska kislina, ki pri predelavi preide v mošt ostane tudi v vinu, vendar ni obstojna proti mlečnokislinskim bakterijam (Šikovec, 1993). Tvori se tudi pod vplivom plesni vrste *Botrytis cinerea*. Včasih jo uporabimo tudi za dokisanje (Bavčar, 2009).

2.4.7.4 Mlečna kislina

Mlečne kisline je v vinu od 0 do 2,5 g/L, izjemoma pa tudi več, če je potekel biološki razkis. Nastane predvsem z dekarboksilacijo jabolčne kisline pod vplivom mlečnokislinskih bakterij. Njene soli so laktati in so dobro topne ter stabilne (Bavčar, 2009).

2.4.7.5 Ocetna kislina

Ocetna kislina je najpomembnejša hlapna kislina. V normalnih koncentracijah ima v vinu pomembno vlogo kot aromatična spojina in pri tvorbi estrov. Pojavi se že med alkoholno fermentacijo pod vplivom kvasovk. Njene povečane koncentracije so posledica delovanja škodljivih mikroorganizmov, predvsem oetnokislinskih bakterij (Bavčar, 2009).

2.4.8 Dušikove snovi

Dušikove snovi so zelo pomembne v tehnologiji vina; majhna količina je nujno potrebna za razmnoževanje kvasovk, saj je od tega odvisen nemoten potek vrenja. V moštu in grozdju se dušik pojavlja v obliki anorganskih amonijevih spojin in organskih spojin. Kvasovke lažje asimilirajo amoniak (Šikovec, 1993). Koncentracija skupnega dušika v

moštu znaša od 1,0 do 2,0 g/L. Anorganske dušikove spojine (amoniak in amonijeve spojine) dosegajo do 300 mg/L. Organske spojine pa dosegajo 50 do 90 % koncentracije skupnega dušika (Bavčar, 2009). Med organske dušikove spojine sodijo beljakovine, ki se lahko razgradijo do aminokislin. Največkrat se pojavljajo kot albumini, ki so koloidne narave in niso obstojni pri višji temperaturi. Manjši del beljakovin se pojavlja kot globulini, ki niso obstojni pri nizki temperaturi. Tudi polipeptidi so organske dušikove spojine. Zgrajeni so lahko iz enakih ali različnih aminokislin, povezanih preko svojih karboksilnih in aminoskupin. Aminokislina so osnovni elementi beljakovinske in polipeptidne molekule. Doslej je v vinu določenih že 30 prostih aminokislin, med katerimi so najbolj zastopane prolin, glutamin, arginin, serin, treonin, glutamat, lizin, valin, asparaginska kislina, levcin in izolevcin (Bavčar, 2009).

Ostale dušikove organske spojine v vinu so:

- Amidi: predstavljajo le 2 % skupnih dušikovih spojin;
- Amini, ki nastajajo z dekarboksilacijo aminokislin, v to skupino sodi histamin, ki je zelo škodljiv za človeški organizem (Šikovec, 1993);
- Heksozamani ali aminirani sladkorji, kot sta glukozamin in galaktozamin;
- Nukleinski dušik v obliki nukleotidov in nukleozidov;
- Del aminokislin se sprostijo iz celic kvasovk po alkoholni fermentaciji in pri podaljšanem zorenju vina na drožeh;
- Urea (sečnina), ki nastaja iz arginina med fermentacijo;
- Etil karbamat, ki nastane s kemijsko reakcijo med ureo in etanolom (Bavčar, 2009).

2.4.9 Aromatične snovi

Aromatične snovi oblikujejo aromo mošta oziroma vina in so iz številnih različnih sestavin, ki se pojavljajo v zelo zapletenih povezavah z različnimi fizikalno-kemijskimi sestavinami. S stališča sensorike je aroma olfaktorno-degustatorski skupni vtis, ki ga izzovejo na naša čutila lahko hlapne sestavine, ki jih zaznamo neposredno z vonjem, in manj hlapne sestavine, ki se sprostijo šele v ustni votlini zaradi višje temperature in mehničnega učinka (Šikovec, 1993). V vinu je dokazanih več kot 800 spojin, ki vplivajo na aromo. Spojine odgovorne za vonj so predvsem alkoholi, kisline, aldehidi, ketoni, terpeni, norizoprenoidi, pirazini in merkaptani (Bavčar, 2009).

2.4.9.1 Primarne arome

Izvirajo iz grozdja. To so predvsem sadne arome, značilne za sorto, ki po svoji intenzivnosti ali kakovosti nihajo glede na letnik, rastišče, obremenitev trte, dozorelost grozdja in so navsezadnje odvisne tudi od znanja kletarja in razmer, v katerih dela. Najbolj razvito primarno vonjavo imata muškat in traminec. Jagodni sok muškatnih sort oziroma vina teh sort vsebujejo terpenov od 0,5 do 3 mg/L. Prag zaznave se začne že pri koncentraciji 0,1 mg/L. Tudi nekatere druge bele sorte vsebujejo terpenske snovi, vendar v manjših količinah. Pri rdečih sortah se med maceracijo iz jagodnih kožic med alkoholno fermentacijo ekstrahirajo primarne aromatične snovi, podobne ali enake, kot jih vsebujejo drobni plodovi malin, češenj, jagod, ribeza (Nemanič, 1996).

Spojine, ki oblikujejo primarne arome, so (Bavčar, 2009):

- Monoterpeni: geraniol, linalool, nerol, citronelol, α -terpineol;
- Norizoprenoidi: β -damascenon, β -ionon, vitispiran, norizoprenoid TND;
- Pirazini, hlapni tioli, C6 aldehidi.

2.4.9.2 Sekundarne arome

Sekundarne arome ali vrelne arome nastajajo med alkoholno fermentacijo, z delovanjem tako kvasovk kot tudi bakterij. Vinske arome mladih vin so pravzaprav sestavljene iz primarnih in sekundarnih. Na raznolikost in bogastvo sekundarnih arom vplivajo poleg kvasovk s svojim delovanjem še količina sladkorja, količina dušikovih snovi v moštu, količina aminokislin, ki vplivajo na večje ali manjše nastajanje višjih alkoholov, vitamini v grozdju, naravni inhibitorji. Nekatere sekundarne arome ostanejo pri mladem vinu samo določen čas, spominjajo nas na kvas, vzhajano testo, pšenično moko, zmleta jabolka. To so vonjave bolj aldehydnega izvora in se izgubijo po žveplanju in čiščenju vina. Estri izzovejo vonj po banani, laku za nohte in bonbonih, ki izgine z izgubo CO₂ ob pretoku. Vonji po milu, ki jih povzročijo maščobne kisline, so težji in bolj stabilni. Tudi bakterije jabolčno-mlečnokislinske fermentacije tvorijo hlapne snovi, ki sooblikujejo sekundarno aromo (Nemanič, 1996).

Spojine, ki oblikujejo sekundarne arome, so (Bavčar, 2009):

- Alkoholi in višji alkoholi: etanol, izoamil alkohol, amil alkohol, izobutanol, heksanol;
- Estri: etil acetat, izoamil acetat, izobutil acetat, heksil acetat, etil oktanoat, etil dekanat;
- Kisline: maščobne kisline, kot so dekanjska, oktanojska in heksanojska kislina;
- Aldehidi: acetaldehid;
- Ketoni, hlapni fenoli ali fenolni derivati, merkaptani.

2.4.9.3 Terciarne arome

Primarne in sekundarne arome se postopoma zmanjšujejo in po nekaj letih skoraj izginejo. Na njihovo mesto pridejo terciarne arome ali cvetice (Nemanič, 1996). Vonj ali cvetica ali buket neke snovi je odvisen od molekulske mase, količine, polarnosti in oblike molekule (Šikovec, 1993). Terciarne ali ležalne arome, ki nastajajo, so produkt hidrolize in sprememb v taninskih snoveh, sproščajo se iz snovi, ki niso aromatične, a take postajajo (taninske snovi pri rdečih vinih). Pri belih vinih se spreminjajo primarne arome v terciarne preko kemijskih reakcij, oksidacije, pod vplivom zraka, ki spreminja nežne arome v težje, manj eterične, kar vinu zmanjšuje sadni značaj, toda ti vonji se zdijo bolj homogeni in usklajeni. Potem ko je vino doživelo svojo starost oziroma je že izgubilo na kakovosti, zaznavamo vonj po raznih glivicah, gobah, divjačini, torej manj žlahtne odtenke (Nemanič, 1996).

Spojine, ki oblikujejo terciarne arome, so (Bavčar, 2009):

- Koncentracija estrov splošno upada, pojavijo pa se nekateri novi npr. dietil sukcinat. Najbolj so stabilni estri maščobnih kislin;
- Koncentracija terpenov upada, saj se pretvorijo v ustrezne okside kot sta linalool oksid in nerol oksid;
- Norizoprenoidi, žveplove spojine, hlapni fenoli, aromatične spojine lesa.

2.4.10 Aldehidi

Acetaldehid predstavlja več kot 90 % vseh aldehydov, ki jih najdemo v vinu. Čeprav je pomembna komponenta vina, so večje koncentracije nezaželene, ker povzročajo aldehydno noto vin. Največ ga nastane med alkoholno fermentacijo. Na koncu fermentacije se reducira v etanol, zato se njegova vsebnost zmanjša. V koncentracijah od 100 do 125 mg/L ima že negativen vpliv na kakovost vina. Acetaldehid lahko nastane tudi po drugi poti, pri oksidaciji fenolnih snovi in etanola, vendar se acetaldehid ne akumulira, saj se porabi pri stabilizaciji barve rdečih vin oziroma polimerizaciji fenolnih spojin. Acetaldehid se hitro veže na dodani žveplov dioksid. Med zorenjem vina koncentracija acetaldehida narašča zaradi oksidacije etanola ali pa zaradi rasti oksidativnih kvasovk in bakterij (Bavčar, 2009).

2.4.11 Estri

Estri so izrednega pomena za aromatiko vina. V vinu jih najdemo več kot 160, vendar se jih večina nahaja v premajhnih količinah, da bi jih zaznali, ali pa so manj hlapni. Nastajajo z reakcijami med karboksilno skupino organskih kislin in hidroksilno skupino alkoholov (alifatski estri) ali fenolov (fenolni estri). Pomembnejši so alifatski, saj je fenolnih estrov manj in so večinoma manj hlapni. Med alifatskimi so najpomembnejši estri, ki nastanejo z reakcijo med etanolom in nasičenimi maščobnimi kislinami, to so etil heksanoat, etil oktanoat in etil dekanat (Bavčar, 2009).

Enako pomembni so tisti, ki so posledica reakcije med očetno kislino in etanolom ali višjimi alkoholi. To so predvsem etil acetat, izoamil acetat, izobutil acetat, 2-feniletal acetat in heksil acetat. Slednje povezujemo s sadno cvetlično aromo belih mladih vin in jih večkrat imenujemo sadni estri. Estri z daljšo verigo oziroma estri z nasičenimi maščobnimi verigami, kot so etil heksanat in etil oktanoat, dajejo vinu bolj milnat vonj, estri z najdaljšo verigo pa dišijo po masti oziroma po slanini. Etil acetat je najbolj zastopan ester v koncentraciji med 50 in 100 mg/L (Bavčar, 2009).

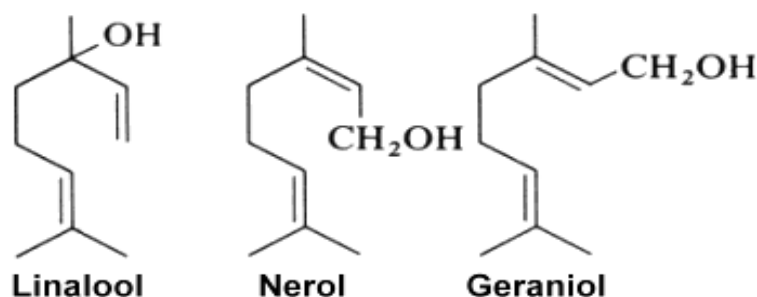
S povezavo med karboksilno in hidroksilno skupino na isti molekuli lahko nastanejo ciklični estri ali laktoni (Bavčar, 2009).

2.4.12 Terpeni

Terpeni so kemijske spojine, ki se sintetizirajo v rastlinah in imajo 4000 različnih predstavnikov. V vinu so zelo pomembne aromatične spojine, ki izvirajo večinoma iz grozdja in so nosilci sortne arome pri tistih belih sortah, kjer jih je dovolj (Bavčar, 2009).

V grozdju so identificirali približno 40 terpenov. Skupna jim je značilna izoprenska enota iz petih ogljikovih atomov. Sestavljeni so iz dveh, treh, štirih ali šestih izoprenskih enot in jih imenujemo monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni in triterpeni (Bavčar, 2009).

Med najbolj aromatične uvrščamo prav monoterpe, ki so sestavljeni iz desetih ogljikovih atomov oziroma dveh izoprenskih enot. Monoterpeni lahko vsebujejo različne funkcionalne skupine. V rastlinah se tako nahajajo vezani na sladkorje (glikozidi), v obliki aldehydov, kislin in celo estrov. Pri pridelavi vina pa so najpomembnejši monoterpeni v obliki alkoholov (monoterpenoli). Glavni predstavniki so linalool, geraniol, nerol, citronelol in α -terpineol. Monoterpe v obliki alkoholov v grozdju najdemo kot proste ali vezane (glikozidne). Prosti so hlapni in vplivajo na primarno aromo. Vezani so nehlapni in torej ne vplivajo na aromo vina (Bavčar, 2009).



Slika 3: Strukturne formule monoterpenov: linaloola, nerola in geraniola (Belitz in Grosch, 1999)

2.4.13 Fenoli

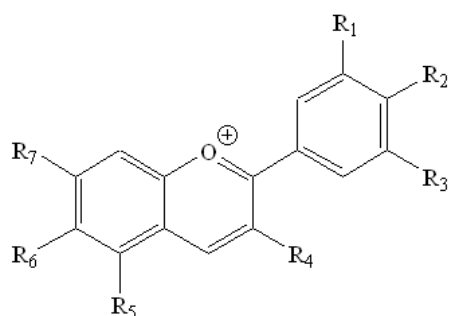
Fenolne spojine so pomembne, saj vinu dajejo barvo, vplivajo na vonj in okus, so osnova za staranje vina, delujejo kot antioksidanti in konzervansi ter izkazujejo protimikrobno aktivnost. Splošno so fenoli ciklične benzenove spojine z eno ali več hidroksilnimi skupinami. Izhajajo predvsem iz grozdja, v manjši meri se ekstrahirajo iz lesene posode (Bavčar, 2009). Vsebnost skupnih fenolov je pri belih vinih med 300 in 1200 mg/L, pri rdečih vinih pa med 500 in 3500 mg/L (De Beer in sod., 2005). Delimo jih na dve osnovni skupini, flavonoide in neflavonoide (Bavčar, 2009).

2.4.13.1 Flavonoidi

Flavonoidi so tipične spojine rdečih vin in zavzemajo do 85 % vseh prisotnih fenolov, v belih pa le 20 %. Najbolj pogosti flavonoidi so antocianini, flavonoli, flavan-3-oli. Flavonoli in antocianini se nahajajo v kožici grozdne jagode. Njihova sinteza je spodbujena s svetlobo (Bavčar, 2009). Antocianini so zelo dobro topni v vodi in so

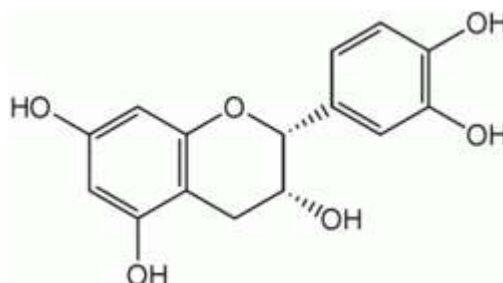
raztopljeni v prostih oblikah v soku celičnih vakuol (Vrhovšek in sod., 2002). Koncentracija antocianinov se rahlo zmanjša po mlečnokislinski fermentaciji zaradi hidrolize antocianinov, ki jo povzročijo mlečnokislinske bakterije (LAB; lactic acid bacteria). Odvisna je tudi od tehnologije kletarjenja torej od tega, ali so vina zorela na drožeh ali brez njih in v inox posodi ali barrique sodih (Moreno-Arribas in sod., 2008).

Flavan-3-oli se nahajajo v pečkah in pecljevini ter v kožici grozdne jagode (Bavčar, 2009).



Slika 4: Osnovna strukturna formula flavonoidov (Jackson, 2008)

Tanini je skupno ime za vse polimerne fenole, ki so sposobni vezati proteine. Med tanine uvrščamo tako proantocianidine kot tudi neflavonoidne polimere. Sposobnost taninov, da vežejo beljakovine, izkoriščamo pri čiščenju rdečih vin (Bavčar, 2009).



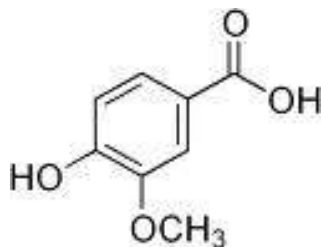
Slika 5: Strukturna formula katehina (Clark, 2004)

Med vinifikacijo rdečega grozdja je v vino selektivno ekstrahiran samo del flavonoidov grozdja. Kinetika in stopnja ekstrakcije je močno odvisna od načina in časa kontakta mošta s trdimi deli grozdja med maceracijo ter od sorte grozdja. Znanje o razlikah in sortnih značilnostih grozdja je izredno pomembno za načrtovanje vinifikacije (Vrhovšek in sod., 2002).

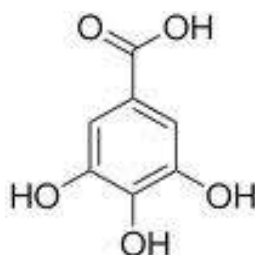
2.4.13.2 Neflavonoidi

Neflavonoidi iz grozdja so derivati hidroksicimetnih in hidroksibenzojevih kislin ter stilbenov (Bavčar, 2009). V belih vinih se pojavljajo v koncentraciji 10-20 mg/L, v rdečih pa 100-200 mg/L (Ribéreau-Gayon in sod., 2000). Predstavljajo večino fenolnih snovi v

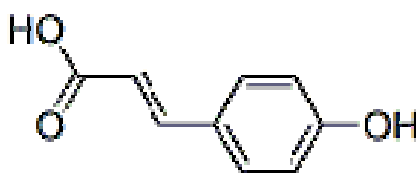
belih vinih. Nahajajo se predvsem v celičnih vakuolah kože grozdne jagode. Najbolj zastopani in poznani so derivati hidroksicimetnih kislin, ki so vezani oziroma esterificirani na sladkorje, alkohole in kisline. Drugi vir neflavonoidov je ekstrakcija iz lesa (Bavčar, 2009).



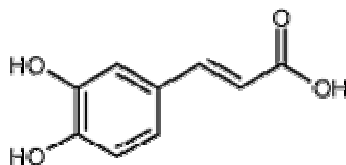
Slika 6: Strukturna formula vanilinske kisline (Vrhovšek, 1996)



Slika 7: Strukturna formula galne kisline (Vrhovšek, 1996)



Slika 8: Strukturna formula *p*-kumarne kisline (Miller in Rice-Evans, 1997)



Slika 9: Strukturna formula kavne kisline (Miller in Rice-Evans, 1997)

2.4.13.3 Pomen in vpliv fenolnih spojin

Fenoli so odgovorni za razlike med belimi in rdečimi vini, še posebej v barvi in aromi rdečih vin. Imajo bakteriocidne in antioksidativne lastnosti (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Barva vina

Antocianini se vežejo v obarvane komplekse med antocianini samimi ali antocianini z drugimi fenolnimi spojinami, aminokislinami in organskimi kislinami. Proces imenujemo kopigmentacija in ima za posledico povečanje intenzitete barve in spremembo absorpcijskega maksimuma. Intenziteta barve se povečuje s povečanjem koncentracije antocianinov in z višjim razmerjem koncentracij med kopigmenti in antocianini. Obarvanost vina je odvisna od pH in prostega žveplovega dioksida. Skupaj določata ravnotežje med možnimi oblikami antocianinov glede na naboj oziroma ionsko obliko antocianinov. Nižji pH pomeni več najbolj zaželeno ionizirane oblike in zato bolj intenzivno rdečo barvo (Bavčar, 2009).

Med maceracijo se poleg antocianinov izločajo tudi drugi flavonoidi, kar vodi v kompleksne reakcije med fenolnimi spojinami. Barva se z zorenjem spreminja s povečanjem števila polimeriziranih antocianidinov. Med nastalimi polimeri prevladujejo odtenki rjave barve. Istočasno intenziteta barve upada (Bavčar, 2009).

Vonj in okus vina

Grenkoba in trpkost sta glavni zaznavi, na kateri vplivajo fenolne spojine. Posredno vplivajo tudi na zaznavi sladkobe in kislosti, pa tudi na telo in harmonijo vina. V rdečih vinih so pomembni katehini in proantocianidini oziroma kondenzirani tanini kot glavni vir grenkobe in trpkosti. Fenolne spojine so pomembne kot potencialni predhodniki aromatičnih spojin. Te nastanejo med fermentacijo pod vplivom nekaterih bakterij in kvasovk s pretvorbo estrov hidroksicimetnih kislin. Nastale aromatične spojine so vinil fenoli. Vinu dajejo vonj po začimbah, zdravilih, dimu, fenolih, hlevu in konjih. Vinil oblike so značilne za bela vina, etil pa za rdeča. Fenolne snovi so lahko tudi del sortne arome (Bavčar, 2009).

2.4.14 Vitamini

V manjših koncentracijah se nahajajo v grozdju, moštu in vinu. Njihova koncentracija upada z alkoholno fermentacijo in zorenjem kot posledica reakcij z žveplovim dioksidom, vezave s čistili ali pa zaradi svetlobe in višje temperature. Prisotni so predvsem vitamin C, vitamin B1, vitamin B2, vitamin H in nikotinska kislina. Mnoga enološka sredstva vsebujejo dodatne vitamine za kvasovke (Bavčar, 2009).

2.4.15 Minerali

V vinu so mineralne snovi, ki ne gorijo. Vino vsebuje več mineralnih snovi in nekaterih oligoelementov kot mineralna voda. Najpomembnejši od njih so kalij, kalcij, natrij, magnezij, železo, v obliki soli pa fosfor (podajamo kot P_2O_5), žveplo (podajamo kot SO_4^{2-}), klor (podajamo kot NaCl), dušik (podajamo kot NO_3^-), bor (podajamo kot H_3BO_3). Od mikroelementov pa v vinu zasledimo aluminij, svinec, brom, fluor, jod, kobalt, baker, litij, mangan, nikelj... Vsebnosti mineralnih snovi v vinu so manjše kot v moštu (Vodovnik A.

in Vodovnik T., 1999). Minerali imajo pomembno vlogo kot sestavni deli vitaminov in encimov, sodelujejo pri izmenjavi hranil med kvasovkami in okoljem ter reagirajo z drugimi sestavinami, na primer tvorijo soli. Izjemoma lahko nekatere težke kovine, kot so svinec, živo srebro, kadmij, selen, delujejo toksično. Večina težkih kovin se izloči na dno posod pri alkoholni fermentaciji, zato so prisotne v vinih le v sledovih (Bavčar, 2009).

2.4.15.1 Kalij

Kalij je najpomembnejši anorganski element v vinu in predstavlja 40 % vseh mineralov v vinu. Velik del kalija (50-80 %) se v vinu nahaja v ionski obliki, preostali del (20-50 %) je vezan na tartrate, hidrogentartrate, sulfate in barvila. Rdeča vina vsebujejo v primerjavi z belimi vini več kalija, kar je posledica različnih tehnoloških postopkov predelave – maceracija rdeče drozge, med katero pride do popolnejše ekstrakcije kalija iz jagodne kožice. Od količine kalija je odvisno ravnotežje kislin v moštu, barva, potek fermentacije in pH. Poleg poznavanja pH, vsebnosti tartrata in alkoholne stopnje, je količina kalija pomemben podatek pri napovedi stabilnosti vina na vinski kamen (Bolčina, 2002).

2.5 ZORENJE VINA V BARRIQUE SODIH

Barrique je ime za poseben tehnološki postopek negovanja vina v posebnih novih hrastovih sodih. Tudi vina, pridelana po tem postopku, se imenujejo barrique. Izraz je francoski in sicer označuje sode ustrezne oblike in prostornine, ki je različna v posameznih francoskih pokrajinah, in se giblje od 80 do 304 L. Najbolj zastopan je bordojski sod, ki ima prostornino 225 L (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999). Barrique sodčki so uporabni 4 do 5 let, vendar se včasih uporabljajo tudi dlje časa (Bertrand, 2002). Suha bela vina, ki imajo svoj potencial v strukturi, fermentiramo in staramo v hrastovih sodih na drožeh. Tehnika je zelo pomembna, ker nam omogoča pridelati vina s precej manjšo vsebnostjo skupnega žveplovega dioksida. V vino, ki počiva na drožeh v sodu, prihaja skozi lesene pore kisik, ki vpliva na zorenje in razvoj vina. Reduktivni potencial v drožeh kompenzira oksidativni (škodljiv) vpliv zraka. Pri belih vinih, negovanih na drožeh, je ocenjena potreba po kisiku približno 30 mg/L (Singleton, 1987). Za vina na drožeh v cisternah, ki ne doživijo tega počasnega dotoka kisika, je možno tehnično dovajati minimalne, toda stalne količine kisika, ne da bi se le-ta akumuliral. Drugače bi droži povzročile nastanek reduktivnih žveplo-vsebujočih komponent, ki negativno vplivajo na vonj vina. Če želimo zoreti vino na drožeh v cisternah, je priporočljivo, da se droži hranijo nekaj mesecev v sodu in se nato dodajo nazaj v cisterno (Ribéreau-Gayon in sod., 2000a).

Z daljšim zorenjem v barrique sodih potekajo v vinih zapleteni procesi esterifikacije in ekstrakcije (vanilina in tanina iz lesa) ter oksidacije skozi pore lesenega sode (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999). Količina ekstrahiranih snovi iz lesa je odvisna od samega lesa (predvsem izvor lesa, nov ali že ovinjen les) in sorte vina, ki je v njem. Garde-Cerdán in Ancín-Azpilicueta (2006) sta odkrila, da na količino ekstrahiranih snovi iz lesa vpliva koncentracija alkohola v vinu in količina samih droži, saj imajo te sposobnost vezave določenih komponent lesa. Nadalje sta dokazala, da na ekstrakcijo minimalno vpliva vrednost pH (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Kot za vsako vrsto vina so tudi pri pridelavi po tehnologiji barrique določene osnovne zahteve izhodiščne značilnosti in kakovosti vina. Seveda je jasno, da je to zlasti vezano na naravne danosti, ki oblikujejo značilnost vina. Pri tej tehnologiji imajo prednost rdeča vina pred belimi. Za barrique so torej primerna vrhunska rdeča vina južnih pridelovalnih območij, ki imajo nizko kislino in so bogata z ekstraktom in alkoholom. Podobno velja za bela vina. Pri vinih bolj severnega značaja barrique ne pride do veljave, saj so ta vina bogatejša s kislino, skromnejša z alkoholom, sveža, živahna, s poudarjeno cvetico in aromo, zato jim ležanje v novem hrastovem sodu ne ustreza (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

Zelo pomembno vlogo ima sod oziroma les. Tudi ta je odvisen od naravnih danosti, rastišča kjer hrast raste (Vodovnik A. in Vodovnik T., 1999).

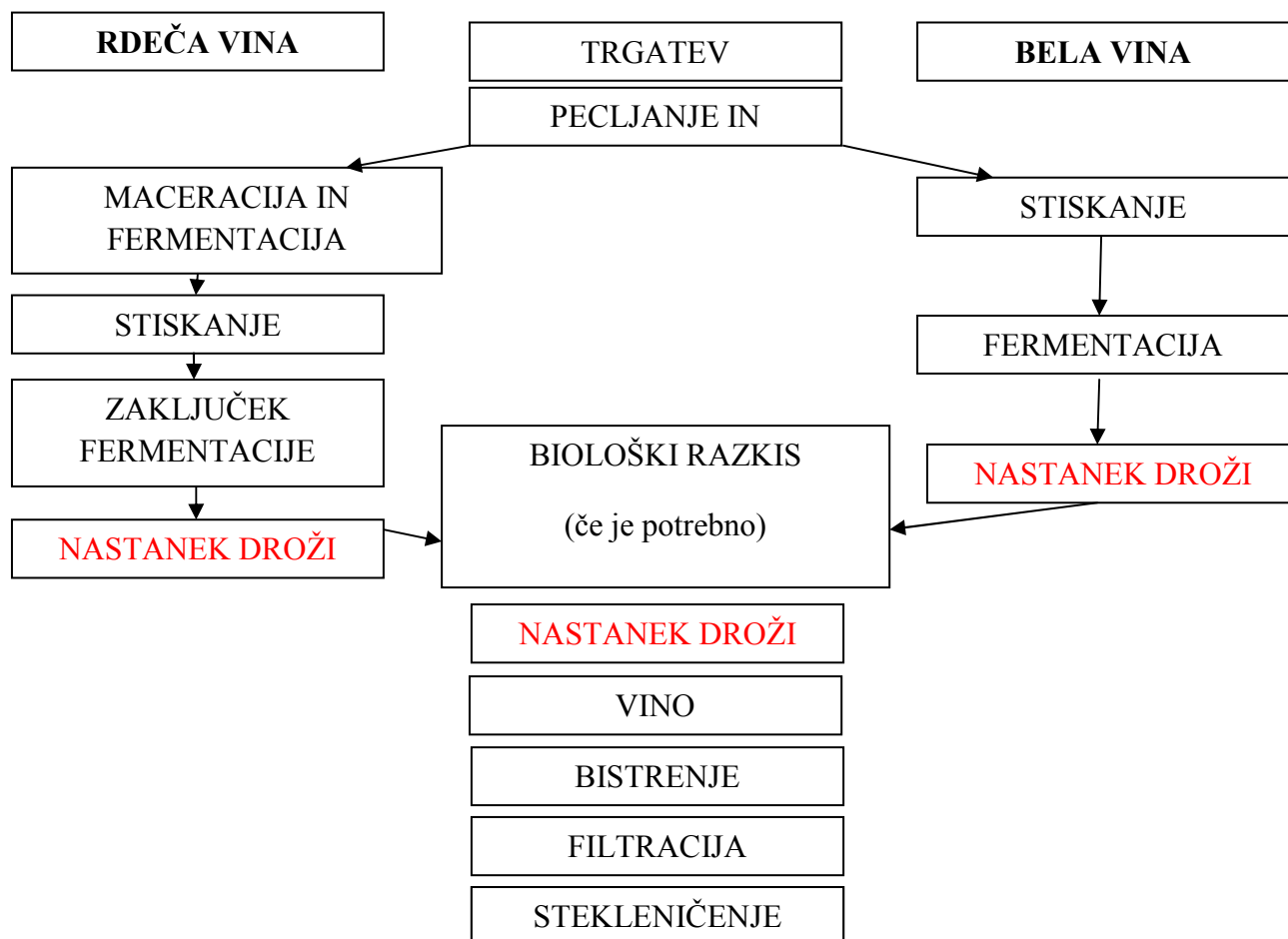
Zorenje vina v sodu je povezano tudi s tveganji, kot lažja okužba z očetnimi bakterijami in divjimi kvasovkami, predvsem rodu *Brettanomyces* (Bertrand, 2002).

2.6 ZORENJE VINA NA DROŽEH

Običajno za zorenje na drožeh uporabljajo bela in peneča vina, vendar se vedno pogosteje uporablja tudi za rosé in rdeča vina. Zasluge za iznajdbo tega postopka imajo v Burgundiji, kjer so od nekdaj zelo pozorni na vlogo droži pri razvoju vina (Nemanič, 2005).

Vsa vina niso enako primerna za sožitje z drožmi. Tanka vina celo izgubljajo sadnost, vina srednjih struktur pridobivajo polnost. Največ pa lahko pridobijo s tako nego bela vina, bogata z ekstraktom, in taninasta rdeča vina. Antioksidativna lastnost droži naj bi bila njihova glavna prednost. Obogatitev vina z avtolizati kvasovk zagotavlja boljše pogoje za zorenje vina, daljša nega na drožeh pa ohranitev sadne frakcije vinske aromatike. Po končani negi na drožeh se naprej kletari običajno, sledi pretok in shranjevanje v cisterni ali stekleničenje po enem mesecu ali dveh. Pomembna vloga droži pri zorenju vina je odstranitev neželenih komponent vina in s tem izboljšanje organoleptičnih lastnosti vina. Poleg zaželenih sprememb v vinu pa lahko droži povzročijo tudi neprijetne spremembe v vinu, kar se pozna predvsem v okusu (kovinski okus, trpkost, grenek okus) (Nemanič, 2005).

Slika 10 prikazuje shemo običajne pridelave belih in rdečih vin. Označeni so koraki, v katerih nastajajo droži.



Slika 10: Shematski prikaz pridelave belih in rdečih vin (Luque de Castro in Pérez-Serradilla, 2008.)

2.6.1 Delitev in sestava droži

Droži delimo na grobe ali »težke« droži in fine ali »lahke« droži (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.1.1 Grobe droži

Grobe droži so delci, ki se usedejo na dno posode v 24 h (brez pektina). Vino brez pektina dobimo z dodatkom encimov v mošt ali drozgo, nadalje v mlado belo vino ob pretoku ali kasneje med stiskanjem rdečega vina. Velikost grobih droži je od 100 µm do 2 mm (Košmerl in Jakončič, 2009).

Grobe droži pri rdečem vinu

Po pretoku ali stiskanju so grobe droži sestavljene iz rastlinskega materiala, skupkov kristalov vinskega kamna, odmrlih kvasnih celic, barvnih snovi in izločenih taninov ter kosmičev, ki nastajajo pri reakciji med beljakovinami, polisaharidi in tanini med maceracijo drozge. Med zorenjem vina (po najmanj dveh pretokih vina) so grobe droži sestavljene iz skupkov kristalov vinskega kamna, odmrlih kvasnih in bakterijskih celic, barvnih snovi in izločenih taninov. Ti skupki se tvorijo od zadnjega pretoka pri reakcijah kristalizacije in polimerizacije med spojinami, ki so topne v vinu (Košmerl in Jakončič, 2009).

Grobe droži pri belih in rose vinih

Po končani fermentaciji so grobe droži sestavljene iz rastlinskega materiala, če ni bilo zadostno opravljeno samobistrenje ali razsluz mošta pred alkoholno fermentacijo, skupkov kristalov vinskega kamna, odmrlih kvasnih celic, izločenih koloidnih delcev in delcev nezreagiranih čistilnih sredstev. Med zorenjem vina so grobe droži sestavljene iz skupkov kristalov vinskega kamna, odmrlih kvasnih celic, izločenih koloidnih delcev, ki se tvorijo v času od zadnjega pretoka (Košmerl in Jakončič, 2009).

Nevarnost grobih droži

Grobe droži se neprestano tvorijo v vinu. Zaradi svoje sestave niso posebej zanimive, ker vplivajo bodisi na rastlinski ali vegetalni karakter vina (po zelenem, travi), nadalje lahko potencirajo zaznavo trpkosti ali grenek okus (po pecljevini) ali pa so povsem neuporabne (polimerizirani fenoli). V vsaki posamezni fazi zorenja vina je potrebno oceniti njihovo vsebnost in jih ustrezno odstraniti. Z vidika njihove tvorbe se pogostost odstranjevanja zmanjšuje s časom. Vseeno pa jih je potrebno sistematično redno odstranjevati vsaj vsake tri mesece. Prisotnost grobih droži omogoča takojšnjo vezavo z dodanim SO₂ v vezano obliko, kar izniči antioksidativne in protimikrobne lastnosti prostega ali aktivnega žveplovega dioksida. Nadalje se z vezavo SO₂ in zaščito določenih rodov mikroorganizmov le-ti povežejo v skupke, kar dejansko onemogoča njihovo odstranitev, omogoča le njihovo preživetje fermentacije in v nadaljevanju kvar vina. Posebno pozornost je potrebno usmeriti v higieno in učinkovito zaščito pred oksidacijo z SO₂ naslednjih rodov: *Brettanomyces*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*. V primeru predfermentativnega dodatka čistilnih sredstev v mošt ali v drozgo je zaradi nastalega etanola med alkoholno fermentacijo omogočena sprostitvev neželenih sestavin s teh sredstev, ki so se nanje že absorbirala pred začetkom fermentacije (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.1.2 Fine droži

Lahke ali fine droži predstavlja tanka plast usedline, ki ostane na dnu posode po prvem pretoku vina (Wondra, 2005). Lahko pa jih definiramo kot delce, ki ostanejo suspendirani še 24 h po tem, ko je bilo vino premešano ali pretočeno. Gibanje teh delcev dosežemo s

prečrpavanjem, pretokom ali z mešanjem. Njihova velikost je od 0,1 do 1 μm (Košmerl in Jakončič, 2009).

Fine droži pri rdečih, belih in rose vinih

Fine droži sestavljajo predvsem neaktivne ali odmrle kvasne celice (proti koncu fermentacije) oziroma celice kvasovk in mlečnokislinskih bakterij (proti koncu biološkega razkisa). V primeru vin, ki so bogata na pektinu ali vin, ki so bogata na glukanu (tvori ga plesen vrste *Botrytis cinerea*), odpade delitev vinskih droži na grobe in fine. Zavedati se je namreč treba, da sta omenjena polisaharida prav tako prisotna v suspenziji (v vinu sta dobro raztopljena in ne sedimentirata). Zato je potrebna predhodna encimska obdelava za hidrolizo ali cepitev omenjenih makromolekul (ki igrajo vlogo zaščitnih koloidov in tako le preprečujejo bistrenje in filtrabilnost), bodisi s pektolitičnimi encimi in/ali glukanaзами, ki traja v odvisnosti od temperature in vsebnosti teh snovi najmanj 24 ur. Ocenjuje se, da je v vinu po končani alkoholni fermentaciji med 30 in 100 g kvasovk na liter. Ta količina predstavlja zelo pomemben vir polisaharidov, manoproteinov, aminokislin, nukleinskih kislin in estrov, kar se potencira predvsem v aromi, seveda ob predpostavki, da so lahke droži zdrave in nevtralne (Košmerl in Jakončič, 2009).

Nevarnost finih droži

Med alkoholno fermentacijo vinskih kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* lahko nastanejo senzorično zaznavne količine žveplovih spojin. Tudi v nadaljevanju zorenja vina obstaja velika nevarnost, da se v primeru statičnih finih droži (torej brez mešanja) dodatno tvorijo žveplove spojine in kovinski okus vina. Nastanek žveplovih spojin je praktično identičen pri živih in mrtvih kvasnih celicah, dejansko pa je nevarnost pri slednjih še večja (kritične so lahko droži, ujete na dnu posode), zato je nujno potrebno ustrezno mešanje celotnih droži in redno odstranjevanje grobih droži, če so le-te v preveliki količini. Z mikrobiološkega stališča lahko žive celice kvasovk rodov *Brettanomyces* in *Pichia* dodatno tvorijo žveplove spojine in tako imenovane animalne vonjave in okuse (po sladkem, zrelem mesu), kar pa je povezano z neustrezno higieno (v kleti in na opremi). Vzrok za njihovo preživetje je hitra vezava prostega SO_2 z veliko maso kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*, dodatno pa se med njihovo avtolizo sprostijo hranilne snovi, ki jih izkoriščajo rodovi kvasovk kvarljivk in oksidativnih kvasovk za svojo rast. Razvoj in preživetje rodu *Brettanomyces* je favorizirano predvsem v prisotnosti velike količine lahkih droži. Tudi mlečnokislinske bakterije najdejo v takšnih vinih zadosti hranil za svojo rast, kar omogoča njihov metabolizem citronske kisline in povečani tvorbi očetne kisline in biogenih aminov. Tako mrtve kot žive celice mlečnokislinskih bakterij predstavljajo omenjeno nevarnost, kar lahko preprečimo in omejimo z ustreznim žveplanjem (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.2 Kvasovke

Kvasovke so netaksonomska kategorija gliv, definirana z ozirom na morfološke in fiziološke značilnosti. So filogenetsko različna skupina organizmov in pripadajo dvema glavnima taksonoma, in sicer *Ascomycotina* in *Basidiomycotina*. Kvasovke se nespolno praviloma razmnožujejo z brstenjem oziroma nekatere s cepljenjem. V aerobnih razmerah metabolizirajo številne sladkorje, medtem ko imajo v anaerobnih razmerah sposobnost fermentacije le nekatere vrste. Nekatere izjeme med kvasovkami so lahko patogene (Raspor, 1996).

2.6.2.1 Rast in razmnoževanje kvasovk

Spremembo osnovnih sladkorjev mošta (glukoze in fruktoze) v etanol in ogljikov dioksid imenujemo alkoholna fermentacija (Bavčar, 2009). Fermentacija je oblika metabolizma, pri katerem sta substrat (glukoza, donor elektronov) in produkt (etanol, akceptor elektronov) organski komponenti in sprošča se energija (Walker, 2000). Od dihanja pa se bistveno razlikuje, ker ne potrebuje kisika. Čeprav obstaja več vrst fermentacij, je prav alkoholna najbolj poznana. Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* imajo tudi sposobnost dihanja, vendar kot glavni način metabolizma uporabljajo alkoholno fermentacijo tudi v prisotnosti kisika (Bavčar, 2009).

Čeprav imajo mnogi mikroorganizmi sposobnost fermentacije sladkorjev, jo uporabljajo predvsem v odsotnosti kisika. Delni vzrok je toksičnost produktov fermentacije, v našem primeru etanola. Fermentacije je tudi relativno slab način sproščanja energije saj se le 6 do 8 % kemijsko vezane energije glukoze spremeni v energetsko razpoložljive oblike (ATP). Večina energije ostane vezane v produktu, ki je v našem primeru etanol. Kombinacija prednostne uporabe alkoholne fermentacije in večje tolerance na etanol omogoča prevlado kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* nad ostalimi organizmi pri pretvorbi mošta v vino. Mehanizem, s katerim kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* uravnavajo toksičnost etanola, še ni popolnoma znan, predvideva pa se hitra difuzija ali prenos etanola iz celic kvasovk. Zavedati se moramo, da se v grozdnem soku nahajajo številni drugi mikroorganizmi, ki za svojo rast in razmnoževanje ravno tako uporabljajo razpoložljive vire energije. Med njimi številčno prevladujejo tako imenovane divje kvasovke, predvsem oksidativne kvasovke rodov *Candida* in *Pichia*, medtem ko bakterije in plesni zaradi odsotnosti kisika med fermentacijo ne rastejo. Izjema so oacetnokislinske bakterije pri pridelavi rdečih vin, saj rastejo na klobuku, ki se neredno potaplja. Število kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* se poveča z dodatkom vrelnega nastavka ali inokuluma. Razlogov, zakaj v anaerobnih pogojih prevladuje vrsta *S. cerevisiae*, je še več: alkoholna fermentacija tudi v prisotnosti kisika, velika toleranca na etanol, relativna neobčutljivost na višje temperature med fermentacijo, uspešno tekmovanje za hranilne snovi v moštu, boljša toleranca na dodan žveplov dioksid. Rast kvasovk lahko opišemo z rastno krivuljo (Bavčar, 2009).

2.6.2.2 Celična stena kvasovk

Značilnost vinskih kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* je, da pripadajo askomicetam, skupini gliv, katerih celična stena je zgrajena iz β -(1,3)-glukana in hitina, pretežno pa iz manoproteinov ali proteoglikanov, katere predstavljajo v 5-20 % peptidi in 80-95 % verige iz manoze. β -(1,3)-glukan in hitin sta netopni komponenti celične stene, medtem ko so manoproteini delno topni in se sproščajo med rastjo kvasovk in alkoholno fermentacijo (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.3 Polisaharidi

Polisaharidi so sestavljeni iz ene ali običajno več glavnih skupin makromolekul, ki jih najdemo v vsakem vinu, imajo pa svoj izvor v grozdju ali pa jih tvorijo različni mikroorganizmi. Najbolj znani polisaharidi v vinu so nedvomno manoproteini, ki jih tvorijo in sprostijo kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* med in po končani primarni alkoholni fermentaciji. Drugo skupino polisaharidov predstavljajo glukani, ki jih tvori plesen vrste *Botrytis cinerea* (Košmerl in Jakončič, 2009).

Značilno je, da se različni sevi kvasovk med seboj razlikujejo po sposobnosti tvorbe polisaharidov. Količina polisaharidov pa je odvisna tudi od pogojev fermentacije in zorenja ali staranja vina. Pri višji temperaturi in pri dvigovanju droži se sprosti več polisaharidov (Košmerl in Jakončič, 2009).

Manoproteini predstavljajo 80 % vseh eksocelularnih polisaharidov kvasovk. Sestavljeni so iz 90 % manoze in 10 % beljakovin. Takoj po alkoholni fermentaciji ta frakcija vsebuje tudi nekaj glukoze, ki pa čez čas izgine. Manoproteini tvorijo linearne polipeptidne verige, na katere so pritrjene krajše verige (do štiri molekule) manoze. Glukomanoproteini predstavljajo le 20 % vseh eksocelularnih polisaharidov. Sestavljeni so iz 25 % glukoze, 25 % manoze in 50 % beljakovin (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.3.1 Izvor manoproteinov

Manoproteine sintetizirajo kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* med alkoholno fermentacijo, lahko pa tudi vrste *Saccharomyces bayanus* med ali po alkoholni fermentaciji. Izločanje manoproteinov iz celične stene kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* je povezano s poroznostjo celične stene. Kvasovke med alkoholno fermentacijo izločajo manoproteine od sredine eksponentne faze do začetka stacionarne faze rasti. Med alkoholno fermentacijo kvasovke sprostijo manoproteine kot neporabljene gradnike celične stene (Košmerl in Jakončič, 2009).

Sprostitev manoproteinov je posledica encimskega delovanja med avtolizo. β -glukanaze, ki so prisotne v celični steni, ohranijo svojo aktivnost tudi nekaj mesecev po odmrtju kvasnih celic in zaradi njihovega delovanja se manoproteini sprostijo v vino. Polisaharidi, ki se pri tem sprostijo, lahko kasneje reagirajo s fenoli, kar zmanjšuje intenzivnost in odtenke barve belih vin (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.3.2 Vloga manoproteinov med vinifikacijo

Manoproteini imajo pozitiven vpliv na tartratno stabilnost. Mehanizem delovanja najverjetneje temelji na kompetitivni inhibiciji, ki omejuje tvorbo kristalov vinskega kamna (Košmerl in Jakončič, 2009).

Dokazano je bilo tudi, da imajo manoproteini značilen vpliv na beljakovinsko stabilnost belih in rose vin, saj omogočajo bistveno manjšo potrebno količino bentonita za doseg beljakovinske stabilnosti, kar pomeni, da se bistveno manj majhnih aromatičnih molekul iz vina odstrani z vezavo na bentonit (Košmerl in Jakončič, 2009).

Nekateri polisaharidi imajo sposobnost vezave s tanini, kar se pozitivno odraža na zmanjšanju trpkosti vina (Košmerl in Jakončič, 2009).

Manoproteini so pomembni tudi pri stabilizaciji aromatičnih spojin, imajo pa tudi pozitiven učinek na začetek, potek in dokončanje biološkega razkisa (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.3.3 Pozitivni učinek polisaharidov v praksi

Večjo vsebnost polisaharidov v vinih lahko vinarji dosežejo na različne načine (Košmerl in Jakončič, 2009):

- z izbiro ustreznega seva vinskih kvasovk;
- z uporabo encimskih preparatov;
- z zorenjem vina na drožeh.

2.6.4 Avtoliza kvasovk

Takoj po zaključeni alkoholni fermentaciji se zmanjša živost kvasnih celic in začne se njihova avtoliza. Avtoliza kvasovk je zelo počasen in kompleksen pojav, v katerega so vključeni hidrolitični encimi, kot so proteaze, nukleaze, lipaze in glukanaže. Pod vplivom teh endogenih encimov hidrolaz se sprostijo v vino komponente celične stene in citoplazme kvasne celice. Te spremembe v sestavi vina so združene z izboljšanjem senzoričnih lastnosti vina, kar se odraža predvsem v boljšem občutku v ustih ter bolj kompleksni aromi. Z nadaljnjim zorenjem vina se pokažejo tudi tehnološke izboljšave v povezavi s sprostitvijo specifične frakcije manoproteinov (Košmerl in Jakončič, 2009).

Značilnost finih droži je, da se oksidirajo s kisikom, kar omogoča počasno in kontrolirano oksidacijo med zorenjem vina. Vsi omenjeni pozitivni učinki in izboljšanja zaradi spontane avtolize kvasovk potekajo zelo počasi med zorenjem vina na drožeh tradicionalno v lesenih hrastovih sodih, s tedenskim premešavanjem oz. dvigovanjem droži, t.i. »battonage«. Količina sproščenih manoproteinov med zorenjem vina se uporablja kot splošni marker za spontano avtolizo kvasovk med zorenjem. V tradicionalnih postopkih se sprostijo manj kot 50 mg/L manoproteinov v desetih mesecih. V kolikor je po tem času celična stena še vedno nespremenjena, to predstavlja oviro za difuzijo drugih komponent kvasovke v vino, kar zelo omeji siceršnje prednosti takšnega zorenja. V takšnih primerih je bilo dokazano, da je

kinetika sprostitve manoproteinov neodvisna od seva kvasovk, čeprav so si mnenja različnih tujih avtorjev o tem nasprotujoča (Košmerl in Jakončič, 2009).

Pozitiven vpliv polisaharidov se nadalje kaže v izboljšanju barvnih parametrov in zmanjšanju vsebnosti reaktivnih taninov, zlasti v belih vinih (Košmerl in Jakončič, 2009). Droži vežejo nase kisik in s tem zaščitijo barvo vina pred oksidacijo (Jiménez Moreno in Ancín Azpilicueta, 2007). Pri zorenju belih vin na kvasovkah v lesenih sodih se nadaljuje sprostitve manoproteinov, ki so sposobni reakcije in vezave s fenolnimi spojinami vina, kot tudi s tanini, ekstrahiranimi iz lesa. Po nekajmesečnem zorenju belega vina v sodih je značilno manjša vsebnost rumenih barvil, skupni fenolni indeks in manjša vsebnost reaktivnih taninov, ki se hitro in zelo radi oksidirajo ob prisotnosti molekularnega kisika. Tako pridelana vina so zato mehkejša v okusu in bolj pitna. Zorenje belih vin na kvasovkah se nadalje pozitivno odraža na zmanjšanju občutljivosti vina na oksidativno rožnato obarvanje. To se običajno kaže v spremembi barve vina v sivo-rožnat odtenek že pri rahli oksidaciji vina pri postopkih stabilizacije ali stekleničenja vina. Temu so zlasti podvržena mlada bela vina npr. sauvignon, zato jih je potrebno ustrezno zaščititi pred oksidacijo in spremembami barve. Žal pa spojini, ki bi bile vključene v popolno zaščito pred tem pojavom, še ne poznamo (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.4.1 Prispevek avtolize kvasovk:

- polisaharidi prispevajo k zaokroženosti in polnosti okusa;
- manoproteini se vežejo z antocianini in tanini, kar poveča stabilnost barve in zmanjša trpkost;
- sproščene hranilne snovi iz odmrlih kvasnih celic služijo za rast mlečnokislinskih bakterij;
- vezava določenih aromatičnih hlapnih komponent v polisaharidno mrežo omogoča večjo stabilnost sadnih arom, ki so zaščitene pred oksidacijo;
- reakcija proteolize omogoča hidrolizo beljakovin do aminokislin, ki so prekursorji aromatičnih snovi (večja kompleksnost arome), in posameznih peptidov (povečanje vsebnosti dušikovih spojin);
- odmrle kvasne celice sproščajo tudi estre zlasti maščobnih kislin s senzoričnimi deskriptorji sladko/sadno, kar sovпада s časom hidrolize med fermentacijo nastalih estrov s prijetno sladko/začimbno/sadnimi aromami;
- z vezavo fenolov lesa in organskih kislin se povečuje senzorična zaznava sladkosti;
- omogočeno je spontano čiščenje vina ob istočasnem zmanjšanju intenzivne rumene barve belih vin;
- dosežena je beljakovinska stabilnost vin, ki preprečuje polimerizacijo taninov, barvil in hlapnih snovi, kar je pospešeno pri višjih temperaturah, podaljšanem času zorenja vina in ustreznem mešanju droži;
- dosežena je lahko tudi tartratna stabilnost, saj so sproščeni manoproteini zaviralci kristalizacije kalijevega hidrogentartrata (vinskega kamna);
- zmanjšanje intenzivnosti barve je posledica velike notranje površine kvasnih celic, na katero se vežejo nestabilna barvila (Košmerl, 2007b).
- odstranitev toksičnih komponent iz vina, kot so mikotoksini, hlapni fenoli in pesticidi. Kot primer lahko navedem odstranitev ohratoksina A (OTA) iz vina.

Bele droži so uspešnejše v odstranjevanju OTA iz vina od rdečih zaradi kompetitivnega delovanja polifenolov in OTA na isto vezavno mesto na površini kvasnih celic (Pérez-Serradilla in Luque de Castro, 2008).

2.6.4.2 Težave, ki se pojavijo med zorenjem na drožeh

Težave, ki se pojavijo med zorenjem vina na drožeh, lahko preprečimo z:

- redno senzorično analizo med podaljšanim zorenjem;
- rahlim zračnim pretokom in ustreznim žveplanjem;
- rednim mešanjem.

Običajno zorenje na kvasovkah poteka skupno 8-10 mesecev, v izjemnih primerih pa tudi 12-24 mesecev (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.6.5 Beljakovinska stabilnost

Na izboljšanje beljakovinske stabilnosti belih vin med zorenjem na kvasovkah močno vplivajo naslednji parametri (Košmerl in Jakončič, 2009):

- čas zorenja na kvasovkah;
- količina droži;
- velikost in starost sodov;
- frekvenca mešanja usedline;
- večjo beljakovinsko stabilnost dosežemo tudi z uporabo rabljenih sodov in pri večji frekvenci dvigovanja usedline.

Izboljšana beljakovinska stabilnost ima velik pomen, saj zmanjša porabo bentonita v postopku čiščenja vina (Košmerl in Jakončič, 2009).

Mlada vina, ki jih pustimo na drožeh, postajajo z zorenjem vse manj motna. Za dosego stabilnosti takih vin porabimo manjše količine bentonita. Kvasovke ne asimilirajo nestabilnih beljakovin, niti jih ne absorbirajo. Nestabilne beljakovine postanejo termostabilne v prisotnosti določenih koloidov-manoproteinov. Tako lahko postavimo hipotezo, da so določeni manoproteini, ki se sprostijo z avtolizo v vino med zorenjem na kvasovkah, sposobni zmanjšati toplotno občutljivost (termolabilnih) beljakovin (Košmerl in Jakončič, 2009).

2.7 BELJAKOVINE IN UPORABA BENTONITA

Vina vsebujejo različne količine nestabilnih beljakovin, ki zlasti pri izpostavljenosti vina višjim temperaturam, denaturirajo ali aglomerirajo, tvorijo t.i. beljakovinsko motnost in/ali usedlino, kar je zlasti neprijetno, če do tega pojava pride v stekleničenem vinu.

Vse skupine beljakovin, ki so toplotno nestabilne, prispevajo k tvorbi beljakovinske motnosti in sedimenta, ki se razlikuje v odvisnosti od njihove izoelektrične točke. Pri beljakovinah z visoko izoelektrično točko ($pI \approx 7,0$) se tvori kompaktna usedlina, medtem ko proteini z nižji izoelektričnimi točkami tvorijo kosmičaste oborine kar rezultira v suspendirani motnosti. Samo ocena vsebnosti skupnih beljakovin v vinu ni realen in

zanesljiv podatek s stališča napovedi beljakovinske (ne)stabilnosti, kajti beljakovinsko motnost povzročajo kompleksi beljakovin, polisaharidov, polifenolov in kovin. Beljakovine so pri pH-ju vina pozitivno nabite, zato jih iz vina odstranimo z bentonitom (Košmerl, 2007a).

Bentonit je široko uporabljeno čistilno sredstvo iz gline vulkanskega izvora. Razlike med posameznimi bentoniti se pojavljajo zaradi različnih razmerij med ioni magnezija, kalcija in kalija. Ko dodamo bentonit v vino, tvori koloidno suspenzijo, ki vsebuje delce z negativnim nabojem na površini. Ti delci elektrostatsko vežejo beljakovine, ki imajo pozitiven naboj pri pH vina. Relativno učinkovito se vežejo proteini z izoelektrično točko nad 6. Odstranitev beljakovin z nižjo izoelektrično točko zahteva večje količine bentonita (Ribéreau-Gayon in sod., 2000b). Učinkovitost bentonita je odvisna od časa kontakta, metode rehidracije in narave posameznih uporabljenih bentonitov. (Košmerl, 2007a).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

Material za diplomsko nalogo smo dobili v Ptujski vinski kleti iz vinorodnega okoliša Štajerska Slovenija. Vse fizikalno-kemijske, mikrobiološke in senzorične analize so potekale na desetih vzorcih vin različnih letnikov (2007-2009), ki so bili zoreni na drožeh. Od tega je bilo osem vzorcev belih sort in dva vzorca rdečih sort.

Preglednica 1: Opis vzorcev vin

Oznaka vzorca	Opis vzorca
1BP	BELI PINOT – inox 2008, hitra klasična predelava, se bo najprej porabil
2CH	CHARDONNAY – barrique 2008, alkoholna fermentacija (AF) v barrique
3MF	MODRA FRANKINJA – barrique 2006
4MP	MODRI PINOT – barrique 2007
5SAU	SAUVIGNON – barrique 2008, AF 1.4.2009 v inoxu, še moten
6SPa	SIVI PINOT – barrique 2007, AF tudi v barrique, potekla spontana jabolčno-mlečnokislinska fermentacija (MLF-malolactic fermentation)
6SPb	SIVI PINOT - barrique 2008, AF v inoxu, maceracija v stiskalnici z dodanimi encimi
6SPc	SIVI PINOT – inox 2008, maceracija v stiskalnici z encimi
7ZS	ZELENI SILVANEK – inox 2008, hitra klasična predelava, se bo najprej porabil
8ZV	CUVEE-zvrst, predikat: sušeno grozdje +normalna trgatev, 100 g/L reducirajočih sladkorjev

3.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE

3.2.1 Določanje pH vina

Opis metode: za določanje pH vina smo uporabili pH meter znamke METTLER TOLEDO, DL 50, Graphix, s skalo v enotah pH. Merili smo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna), pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini (Košmerl in Kač, 2007).

Oprema: Za merjenje smo uporabili kombinirano stekleno elektrodo znamke METTLER TOLEDO, DG 114-SC, 0-14 pH, 0-70 °C.

Reagenti: pufne raztopine s pH 4,0, pH 7,02 in pH 3,0.

3.2.2 Določanje hlapnih kislin

Hlapne kisline v vinu smo določili z destilacijsko metodo (Košmerl in Kač, 2007).

3.2.3 Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu

Relativno gostoto, ekstrakt in alkohol v vzorcih smo določili z denzimetričnimi in destilacijskimi metodami, ki so opisane v literaturi (Košmerl in Kač, 2007).

3.2.4 Določanje prostega aminokislinskega dušika (FAN) v vinu

FAN smo določili s spektrofotometrično metodo ali metodo IASMA (Košmerl in Kač, 2007).

3.2.5 Določanje skupnih fenolnih spojin v vinu

Skupne fenolne spojine smo določili s spektrofotometrično metodo (Košmerl in Kač, 2007).

Vzorca 9 in 10 sta bila pred analizo razredčena (R=10).

3.2.6 Določanje antioksidativnega potenciala vina

Opis metode: Antioksidativni potencial (AOP) smo določili s stabilnim prostim radikalom DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) (Brand-Williams in sod., 1995), kateremu smo dodali metanol do absorbance približno 1,0. Ko alkoholna raztopina DPPH[•] reagira z antioksidantom, se tvori reducirana oblika DPPH₂, kar povzroča spremembo barve iz vijolične v rumeno ter padec absorbance pri valovni dolžini 515 nm. Bolj kot se absorbanca zmanjša, večji antioksidativni potencial ima vino. Za analizo smo razredčili le rdeča vzorca vina (R=20). Uporabili smo 50 µL vzorca in mu dodali 1,5 mL raztopine DPPH[•]. Referenčne raztopine smo pripravili tako, da smo zmešali 1,5 mL raztopine DPPH[•] in 50 mL metanola. Kontrolni vzorec smo pripravili tako, da smo zmešali 1,5 mL metanola in 50 µL razredčenega vzorca vina. Pripravljene vzorce smo dobro premešali in po 30 min izmerili absorbanco pri 515 nm, kjer je absorpcijski maksimum. Izračunali smo razliko med referenčno raztopino in vzorcem, ki je proporcionalna antioksidacijskemu potencialu vina; bolj kot se absorbanca zmanjša, večji antioksidacijski potencial ima vino. Iz poznane molarne absorptivnosti DPPH[•] (Molyneux, 2004; Košmerl in sod., 2005) in ob upoštevanju razredčitve smo izračunali AOP in ga izrazili kot množino reduciranega DPPH[•] na liter vina (mmol/L) (Košmerl in sod., 2005).

Izračun:

$$\Delta A = A_{\text{standard}} - (x - A_{\text{step1}}) \quad \dots(1)$$

$$\text{DPPH (mol)} = \frac{\Delta A}{12000(\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}) \cdot 1(\text{cm})} \cdot V_{\text{zmes1}}(\text{L}) \quad \dots(2)$$

$$\text{DPPH} \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{DPPH}(\text{mol})}{V_{\text{vzorca}} (\mu\text{L})} \cdot R \cdot 1000000 (\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}) \quad \dots(3)$$

Legenda: A_{standard} – absorbanca standarda
 x – povprečna vrednost izmerjenih treh absorbanc vzorca
 A_{slepa} – absorbanca slepe probe
 V_{zmesi} – volumen reakcijske zmesi (mL)
 12000 – povprečna molarna absorptivnost (L/mol cm)
 V_{vzorca} – volumen vzorca (mL)
 R – razredčitveni faktor
 1000000 – faktor za preračun mikrolitrov v litre

3.2.7 Določanje hlapnih aromatičnih snovi v vinu s plinsko kromatografijo

Opis metode: Hlapne aromatične snovi v vinu smo določili s plinsko kromatografijo. To je metoda, ki se uporablja za ločevanje snovi, ki jih lahko uparimo, ne da bi se pri tem razgradile. Osnova separacije je različna porazdelitev snovi med stacionarno fazo (tekoča ali trdna) in plinsko mobilno fazo. Plinski kromatograf je sestavljen iz naslednjih delov: injektorja, separacijske kolone, detektorja in rekorderja (Kregar, 1996).

Hlapne spojine smo ekstrahirali z mikroekstrakcijo na trdno fazo (SPME). V 20 ml vialo smo dodali 5 ml vzorca, jo zaprli in termostatirali na 50 °C za 15 min, nato pa s SPME vlaknom (DVB/CAR/PDMS faza, debelina filma 50/30 µm) vzorčili hlapne spojine iz plinske faze nad tekočim vzorcem 35 min pri 50 °C v vodni kopeli. Vlakno smo prenesli v injektor, spojine so se sprostile z vlakna in vstopile v kolono, kjer so se ločile.

Nerazdelitveni injektor: prostor, kamor smo nanesti vzorec. Segret je na 250 °C.

Kolona: kolona je tenka in zelo dolga, v notranjosti je stacionarna faza, na katero se vežejo spojine. Plin prenaša spojine po koloni. Plin: helij, pretok: 0,9 mL/min. Kolona: RTX-20, dolžina: 60 m, notranji premer: 0,25 mm, debelina faze na katero se spojine vežejo: 1 µm.

Temperaturni program: segrevanje kolone

- na začetku smo imeli kolono segreto na 50 °C, 5 min smo povečevali temperaturo s hitrostjo 5 °C/min;
- pri temperaturi 180 °C smo začeli povečevati hitrost segrevanja na 50 °C/min, kar je trajalo 5 min;
- pri temperaturi 240 °C smo segrevali kolono 10 min.

Detektor: detektira spojine, ki pridejo posamič iz kolone. Kot detektor smo uporabili masni spektrometer (temperatura ionskega izvora=230 °C, temperatura masnega analizatorja=150 °C, energija elektronov=70 eV).

Vsak vzorec smo analizirali dvakrat, enkrat s starim vlaknom in enkrat z novim vlaknom.

Oprema:

- plinski kromatograf: Agilent Technologies, 7890A GC System;
- masni spektrometer: Agilent Technologies, 5975C inert XL MSD.

3.2.8 Določanje organskih kislin s papirno kromatografijo

Opis metode: Papirna kromatografija je oblika kromatografije, pri kateri predstavljajo celulozna vlakna kromatografskega papirja stacionarno fazo. Mobilna faza pa je lahko mešanica različnih topil. Papirno kromatografijo izvajamo v pokriti posodi. Uporabili smo ascendentni način, pri katerem je topilo na dnu posode in potuje po papirju navzgor zaradi kapilarnosti (Kregar, 1996).

Priprava raztopin za razvijanje kromatogramov (mobilna faza): 500 mL 1-butanola + 250 mL očetne kisline 1:1 + 1 g bromfenol modri. Vse skupaj smo dobro premešali in vlili v posodo za razvijanje.

Standardi za kromatograme: vinska kislina: 10 mg/mL, jabolčna kislina: 10 mg/mL, mlečna kislina: 1 vol%.

Za nanašanje vzorcev smo uporabili kromatografski papir iz celuloznih vlaken. Višina papirja je bila 13 cm, dolžina poljubna. Vzorce smo nanašali 2 cm od spodnjega roba in na razdaljo 3 cm eden od drugega. Kot rezultat smo dobili kromatogram, iz katerega lahko semikvantitativno ocenimo vsebnosti vinske, jabolčne in mlečne kisline v posameznem vzorcu.

3.2.9 Določanje višjih alkoholov

Koncentracijo višjih alkoholov v vzorcih smo določili s plinsko kromatografijo (GC) (Ough in Amerine, 1988). Vzorcem smo po destilaciji alkohola na destilacijski napravi D.E.E. Gibertini določili koncentracijo hlapnih spojin na plinskem kromatografu Hewlett Packard 5890 Series II.

Kromatografski pogoji:

- kolona: HP FFAP, dimenzije 50 m × 0,2 mm × 0,3 mm,
začetna temperatura: 40 °C (6 min),
temperaturni gradient: 25 °C/min,
končna temperatura: 220 °C (5 min),
- injektor: razdelitev 1:50, 200 °C,
volumen injiciranja: 1,0 µL,
tlak: 2,18 bar,
pretok N₂: 45 mL/min,
- detektor: FID, 300 °C,
pretok H₂: 40 mL/min,
pretok zraka: 450 mL/min,
- nosilni plin: He, pretok 1 mL/min,

- obdelava signala in podatkov: programska oprema GC ChemStation.

3.2.10 Določanje kalija

Vsebnost kalija (mg/L) smo določili z atomsko emisijsko spektroskopijo (AES), s katero merimo intenziteto svetlobe, ki jo atomi oddajajo pri prehodu iz zbujenega stanja v nižje ali osnovno stanje. Uporabili smo enožarkovni atomski absorpcijski spektrometer Perkin Elmer 2280 v emisijskem načinu pri valovni dolžini $\lambda=766,5$ nm.

3.2.11 Določanje barve vina

Obarvanost vzorcev vina smo pri vzorcih belih vin izmerili direktno (brez razredčitve) s spektrofotometrom po filtraciji vzorcev skozi 0,45 μ m celulozno acetatni filter firme Sartorius. Vzorec smo odpipetirali direktno v kvarčno kiveto in merili absorbanco pri valovnih dolžinah 420 nm in 600 nm ter snemali absorpcijski spekter v območju valovne dolžine od 400 do 440 nm proti slepemu vzorcu (voda). Z merjenjem absorbance pri valovnih dolžinah 420 nm, 520 nm in 620 nm pa določamo barvo rdečih vin, ki smo jih predhodno ustrezno razredčili ($R=10$). Vsota absorbance predstavlja intenziteto barve, medtem ko razmerje absorbance pri 420 nm in 520 nm pomeni odtenek barve. Za redčenje vina smo uporabili pufrno raztopino, katere pH je čim bolj enak pH analiziranega vzorca vina (Košmerl in Kač, 2007).

3.3 ČISTILNI POSKUS Z BENTONITOM

Najprej smo pripravili 5 % suspenzijo bentonita in nato naredili predposkus. Uporabili smo BENTOLIT SUPER znamke ESSECO. Za vsak vzorec smo naredili dva poskusa in za primerjavo kontrolni poskus. V prvem smo uporabili 0,075 mL pripravljene raztopine bentonita/50 mL vzorca vina (7,5 g/hL), v drugem poskusu pa smo uporabili 0,125 mL raztopine bentonita/50 mL vzorca vina (12,5 g/hL). Za kontrolo smo v merilni valj nalili le vino. Vse vzorce smo dobro premešali in jih pustili stati pri sobni temperaturi 1-2 dni. Vmes smo večkrat premešali. Po dveh dneh smo tako očiščene vzorce prefiltrirali skozi 0,45 μ m filter in filtrat razdelili na dva dela.

3.3.1 Toplotni test

S segrevanjem vina smo ugotovili, ali se vino nagiba k motnosti ali opalescenci, ki je posledica prisotnosti termolabilnih beljakovin. Vino smo 15 min segrevali na vodni kopeli pri temperaturi 70 °C. Med segrevanjem smo stalno mešali in kontrolirali temperaturo. Ker se je med ohlajanjem na sobno temperaturo pojavila motnost, smo vzorce vina nadalje čistili z bentonitom.

Z najmanj 20 mL filtrata smo opravili toplotni test in po ohladitvi na sobno temperaturo vizualno ocenili motnost.

3.3.2 Bentotest

10 mL filtrata smo dodali 1 mL bentoreagenta, premešali in po 10 min opazovali motnost (Košmerl, 2007a).

Oznake vzorcev:

Toplotni test:

- X.0 – kontrolni vzorec
- X.1 – dodatek 0,075 ml 5 % raztopine bentonita/50mL vina=7,5 g bentonita/hL
- X.2 – dodatek 0,125 ml 5 % raztopine bentonita/50 mL vina=12,5 g bentonita/hL

Bentotest:

- Y.0 - kontrolni vzorec
- Y.1 - dodatek 0,075 ml 5 % raztopine bentonita/50mL vina=7,5 g bentonita/hL
- Y.2 - dodatek 0,125 ml 5 % raztopine bentonita/50 mL vina=12,5 g bentonita/hL

3.4 MIKROSKOPIRANJE VZORCEV

3.4.1 Mikroskopiranje droži

Vzorci smo najprej centrifugirali, da smo dobili usedlino droži. Droži smo s kapalko prenesli na objektno stekelce (eno kapljico), pokrili s krovnim stekelcem ter si tako pripravljen preparat ogledali s svetlobnim mikroskopom MOTIC BA 300 pri 100- in 400-kratni povečavi. Nato smo s pomočjo računalniškega programa MOTIC IMAGE PLUS 2.0 kvasne celice in usedlino fotografirali pri enakih povečavah.

3.4.2 Mikroskopiranje usedline vina

S kapalko smo direktno na objektno stekelce nanesti kapljico vzorca in si ga ogledali s svetlobnim mikroskopom MOTIC BA 300 pri 100- in 400-kratni povečavi. Nato smo s pomočjo računalniškega programa MOTIC IMAGE PLUS 2.0 vzorce tudi fotografirali pri enakih povečavah.

3.5 SENZORIČNA ANALIZA VINA Z BAUXBAUMOVO METODO

Bauxbaumova metoda je kvantitativna metoda ocenjevanja vina. To je 20-točkovna metoda, ki jo uporablja vseh pet pooblaščenih organizacij pri ocenjevanju vina v Sloveniji. S to metodo se ocenjuje tudi na lokalnih-društvenih ocenjevanjih, regionalnih in državnih ocenjevanjih. Vino smo senzorično ocenili po sedmih mesecih od vzorčenja. V komisiji je bilo 12 ocenjevalcev.

Vino lahko dobi od 0 do 20 točk, od tega za:

- bistrost 0 do 2,
- barva 0 do 2,
- vonj 0 do 4,
- okus 0 do 6,
- harmonija 0 do 6 točk.

Z metodo smo najprej ocenili bistrost in barvo, nato vonj in okus ter nazadnje harmonijo. Metoda nam je dala oceno splošnega skupnega vtisa. Končno število točk senzorične ocene smo izračunali tako, da smo najnižjo in najvišjo oceno izločili. Končna ocena je srednja vrednost vseh 12 ocen, ki daje trdno in realno oceno o vinu.

Za posamezne kakovostne razrede mora vino po slovenski vinski zakonodaji doseči:

- namizno vino: 12,1-14,0 točk,
- namizno vino PGO, deželno vino PGO: 14,1-16,0 točk,
- kakovostno vino ZGP: 16,1-18,0 točk,
- vrhunsko vino ZGP: 18,1-20,0 točk.

Če vino pridobi manj kot 12,1 točke, ni primerno za promet (Pravilnik o postopku..., 2000).

3.6 STATISTIČNA ANALIZA

3.6.1 Multipla analiza variance – procedura GLM

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke smo statistično obdelali z računalniškim programom SAS (SAS Software, 1999) z multiplo analizo variance-proceduro GLM (General Linear Models).

Statistični model za kemijske parametre vzorcev vin je vključeval vplive različnih sort (model 1) in letnikov (model 2) vin na kemijske parametre.

$$y_{ij} = \mu + S_i + e_{ij} \quad \dots(4)$$

$$y_{ij} = \mu + L_i + e_{ij} \quad \dots(5)$$

kjer y_{ij} = i -to opazovanje; μ =povprečna vrednost; S_i =vpliv sort; L_i =vpliv letnikov in e_{ij} =ostanek.

Srednje vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa in so primerjane pri 5 % tveganju (SAS Software, 1999).

3.6.2 Multivariantna analiza

Kemometrične metode so nadvse uporabne pri obdelavi podatkov analiz živil, ki so zelo kompleksne mešanice. Živila in med njimi tudi vino vsebujejo veliko različnih snovi in tako imamo pri njihovi analizi mnogo parametrov. Z naraščanjem števila vzorcev se tako znatno poveča tudi količina podatkov, posledica je zmeda in nepreglednost. Velikokrat nas ne zanimajo le vrednosti določenih parametrov, ampak tudi odgovori na mnogo kompleksnejša vprašanja o avtentičnosti vzorca, skladnosti vzorca z deklariranimi podatki, kot so sorta, letnik, sladkorna stopnja, alkohol. Na ta vprašanja lahko odgovorimo šele s kombinacijo analiznih podatkov, za kar je nujna uporaba različnih kemometričnih metod. V analizi prehrabnih izdelkov obstajajo tri pomembnejša področja dela, pri katerih je uporaba kemometričnih metod nujna in to so: kvantitativna določitev sestavin in lastnosti proizvoda, ugotavljanje podskupin/razredov med podatki in ugotavljanje podobnosti neznanega vzorca s skupinami drugih poznanih vzorcev (Kropf, 2009).

3.6.2.1 PCA (Principle Components Analysis) ali metoda glavnih osi

Metoda PCA je zelo primerna za vizualizacijo kompleksnih podatkovnih matrik. Z njo skrajšamo informacije na nekaj osi v večdimenzionalnem prostoru. Ponavadi že tri do pet osi predstavlja zadostno vrednost variance, da lahko predstavimo najpomembnejše podatkovne strukture. Metoda glavnih osi je transformacija koordinatnega sistema na osnovi statističnih količin, pri tem tvorimo nove osi iz linearne kombinacije starih (izhodnih) podatkov. Osnovno izhodišče PCA je predpostavka, da so stare koordinate med seboj odvisne, torej obstajajo med njimi določene korelacije. Namen PCA je poiskati tiste koordinate, ki so v danem merskem prostoru najbolj značilne (nosijo največji odstotek vseh informacij) (Adams, 1998).

3.6.2.2 LDA (Linear Discriminant Analysis) ali linearna diskriminantna analiza

LDA se uporablja za ločevanje med dvema ali več skupinami podatkov. Glavni princip delovanja je najti tiste smeri v večvariantnem prostoru, ki najbolje ločujejo posamezne skupine vzorcev. Ko določimo prvo novo smer, poiščemo naslednjo takšno smer z enakimi zahtevami oziroma lastnostmi, toda z omejitvijo, da informacije, vsebovane v obeh smereh, ne korelirajo. Postopek iskanja novih smeri se zaključi, ko poiščemo zadostno število novih smeri, ki zadovoljivo opišejo sistem. V principu se lahko katerakoli matematična funkcija uporabi kot diskriminantna funkcija (Adams, 1998).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 VPLIV SORTE NA FIZIKALNO-KEMIJSKE PARAMETRE

V preglednici 2 so prikazani povprečni rezultati meritev fizikalno-kemijskih parametrov. V prilogi A so prikazani povprečni rezultati meritev ter standardni odklon.

Preglednica 2: Vpliv sorte analiziranih vzorcev na fizikalno-kemijske parametre

Parameter (enota)	Oznaka vzorca								Z.
	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SP	7ZS	8ZV	
pH (/)	3,26e	3,38cd	3,53b	3,59a	3,20f	3,40c	3,38cd	3,34d	***
Hlapne kisline (g/L)	0,31f	0,58b	0,60b	0,52c	0,46d	0,36e	0,44d	0,81a	***
Relativna gostota (/)	0,99124d	0,99250c	0,99416b	0,99437b	0,99139d	0,99024e	0,99237c	1,03519a	***
Alkohol (vol.%)	12,58d	15,22a	13,33c	12,56d	13,15c	14,09b	12,43d	11,33e	***
SE (g/L)	20,03e	31,06b	29,88b	28,08c	22,13d	21,90d	22,57d	130,19a	***
FAN (mg/L)	61,27bc	67,37b	50,80bc	41,13bc	61,20bc	63,12bc	35,70c	99,30a	**
AOP (mmol DPPH/L)	0,81e	1,60c	19,66a	17,60b	1,44c	1,59c	1,08d	1,52c	***
Skupni fenoli (mg/L)	239e	375cd	2400a	2267b	399cd	359d	243e	483c	***
Intenziteta barve	0,10d	0,18d	6,97b	8,14a	0,43cd	0,37cd	0,14d	0,66c	***
Kalij (mg/L)	980d	1345b	1185dbc	1365b	1100dc	1053dc	1259bc	1730a	***

*** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv; ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv; * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv.

a, b, c, d, e, f, g, h sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Statistično zelo visoko značilne razlike smo opazili pri večini kemijskih parametrov, razen pri vsebnosti FAN, kjer so med sortami analiziranih vzorcev visoko značilne razlike.

4.1.1 pH

Vpliv pH se kaže v selektivnem delovanju na mikroorganizme, v intenzivnosti in odtenku barve, okusu, oksidacijsko-redukcijskem potencialu, v občutljivosti na pojav motnosti (zaradi železovih spojin) idr. Običajno je pH vina manjši od 3,6 (Košmerl in Kač, 2007).

Iz preglednice 2 je razvidno, da ima med vsemi vzorci najnižji pH vzorec 5SAU (sauvignon), najvišjega pa vzorec 4MP (modri pinot). Oba vzorca imata vrednost pH v običajnem območju, saj njuna vrednost ne presega 3,6. Vzorca 2CH (chardonnay) in 7ZS (zeleni silvanec) se statistično med seboj ne razlikujeta. Visok pH vzorcev 3MF (modra frankinja) in 4MP (modri pinot) je posledica biološkega razkisa, ki je potekel pri teh dveh vzorcih, pri tem je jabolčna kislina, ki ima dve karboksilni skupini, z dekarboksilacijo izgubila eno karboksilno skupino in nastala je mlečna kislina. Iz 1 g JK (jabolčne kisline) nastane 0,67 g MK (mlečne kisline), padec kislin pa je odgovoren za dvig pH. To smo potrdili pri določanju organskih kislin s papirno kromatografijo.

4.1.2 Hlapne kisline

Preglednica 3: Največja dovoljena vrednost hlapnih kislin v vinih (Pravilnik o pogojih..., 2004)

	Največja dovoljena koncentracija hlapnih kislin(g/L)
Grozdni mošt v vrenju	1,0
Bela in rose vina	1,0
Rdeča vina	1,2
Vrhunska vina ZGP – suhi jagodni izbor	2,1
Vrhunska vina ZGP – jagodni izbor	1,8
Vrhunska vina ZGP – ledeno vino	1,8

Hlapne kisline (HK) v vinu so predvsem mravljinčna, očetna in butanojska kislina. Običajno vsebujejo mlada vina manj hlapnih kislin kot stara vina. Prav tako je tvorba le teh bistveno manjša v vinih, pridelanih iz moštov z manjšo oziroma z normalno koncentracijo sladkorja, v primerjavi s poznimi trgatvami, pri katerih delujejo kvasovke na začetku alkoholne fermentacije v značilno bolj ozmofilnih razmerah.

Iz preglednic 2 in 3 je razvidno, da so vsi vzorci v mejah dovoljene koncentracije hlapnih kislin.

Največ hlapnih kislin vsebuje vzorec 8ZV (zvrst) (0,81 g/L), najmanj pa vzorec 1BP (beli pinot) (0,31 g/L). Vzorec 8ZV vsebuje največjo koncentracijo hlapnih kislin, ker je sladko vino. Sladka vina, pri katerih delujejo kvasovke na začetku alkoholne fermentacije v značilno bolj ozmofilnih razmerah, imajo več hlapnih kislin (Košmerl in Kač, 2007). Vzorec 8ZV sledijo po vsebnosti hlapnih kislin vzorci 2CH (chardonnay), 3MF (modra frankinja) in 4MP (modri pinot). Precej veliko vsebnost hlapnih kislin v vzorcih 3MF in 4MP lahko pojasnimo z biološkim razkissom, ki je potekel pri teh dveh vzorcih, saj med biološkim razkissom tvorijo mlečnokislinske bakterije tudi manjše količine očetne kisline, predvsem z razgradnjo citronske kisline. Vzorca 2CH (chardonnay) in 3MF (modra frankinja) se med seboj statistično ne razlikujeta, ostali vzorci se med seboj statistično razlikujejo.

4.1.3 Relativna gostota, alkohol in skupni suhi ekstrakt

Relativna gostota je razmerje med gostoto mošta ali vina pri 20 °C in gostoto vode pri isti temperaturi. Suha vina imajo relativno gostoto blizu 1; izjema so le suha in hkrati zelo alkoholna vina, ki imajo relativno gostoto občutno manjšo od 1. Vina s preostankom sladkorja imajo praviloma relativno gostoto večjo od 1. Na gostoto vina vplivajo vse raztopljene snovi (Košmerl in Kač, 2007).

Skupni suhi ekstrakt sestavljajo po definiciji O.I.V. pri 100 °C nehlapne komponente vina (sladkorji, fiksne kisline, organske soli idr). Na osnovi vsebnosti ekstrakta vina lahko sklepamo na začetno vsebnost sladkorja v moštu (Košmerl in Kač, 2007).

Iz preglednice 2 je razvidno, da se vsebnost alkohola pri vzorcih giblje med 11,33 vol.% in 15,22 vol.%. Največ alkohola vsebuje vzorec 2CH (chardonnay) (15,22 vol.%), kar je posledica večjega skupnega ekstrakta, kakor ga imajo ostali vzorci razen vzorca 8ZV (zvrst), ki je alkoholno manj bogat, vendar ima veliko skupnega ekstrakta, saj je to vino pridelano iz sušenega grozdja in je koncentracija sladkorjev večja kot pri ostalih vzorcih. Visok skupni ekstrakt pri vzorcu 8ZV se ujema tudi z relativno gostoto, ki je največja izmed vseh vzorcev. Nekoliko manj alkohola od vzorca 2CH vsebuje vzorec 6SP (sivi pinot), ki vsebuje 14,09 vol.% alkohola nato sledita vzorca 3MF (modra frankinja) in 5SAU (sauvignon), ki se med seboj statistično ne razlikujeta in vsebujeta 13,33 in 13,15 vol.% alkohola. Prav tako se statistično ne razlikujejo vzorci 1BP (beli pinot), 4MP (modri pinot) in 7ZS, ki imajo manj alkohola kot prej omenjeni vzorci (12,58 in 12,56 vol.%). Najmanj alkohola ima vzorec 8ZV (zvrst) (11,33 vol.%), ker je bila pri tem vzorcu ustavljena fermentacija oziroma je bila vsebnost sladkorja v moštu zelo velika, saj je ta vzorec iz posušenih grozdnih jagod.

Pri analiziranih vzorcih imajo različne sorte vin zelo visoko značilen vpliv na vsebnost alkohola v posameznih vzorcih. Statistično se med seboj po vsebnosti alkohola ne razlikujejo le vzorci 1BP, 4MP in 7ZS. Po vsebnosti SE se ne razlikujeta vzorca 2CH in 3MF, ki imata vsebnost SE približno 30 g/L, ter vzorci 5SAU, 6SP in 7ZS, ki vsebujejo SE približno 22 g/L.

Po pričakovanjih ima največ skupnega ekstrakta vzorec 8ZV (130,19 g/L), najmanj pa vzorec 1BP (20,03 g/L), ki je tudi najmanj alkoholn, če izzvzamemo vzorec 8.

4.1.4 Vsebnost prostega aminokislinskega dušika

Med preiskovanimi vzorci se vrednosti FAN gibljejo med 41,1 in 99,3 mg/L, kar je vidno iz preglednice 2. Največ FAN vsebuje vzorec 8ZV (99,3 mg/L) zaradi sušenega grozdja, iz katerega je pridelan. V sušenem grozdju se AK koncentrirajo in s stiskanjem preidejo v vino. Po vsebnosti FAN sledi vzorcu 8ZV vzorec 2CH, ki vsebuje 67,4 mg/L, kar bi lahko povezali z veliko vsebnostjo skupnega ekstrakta. Vzorci 1BP, 3MF, 4MP in 6SP se med seboj statistično ne razlikujejo. Najmanj FAN vsebuje vzorec 7ZS, kar je lahko posledica manjšega dodatka hranil za kvasovke v času fermentacije, uporabljenih kvasovk, ki potrebujejo več dušika ali pa posledica sorte, saj naj bi bil zeleni silvanec sortno bolj osiromašen s FAN.

Velika vsebnost FAN v vinih nakazuje tehnologijo zorenja na drožeh.

4.1.5 Antioksidativni potencial (AOP)

V preglednici 2 so prikazane povprečne vrednosti merjenja antioksidativnega potenciala (AOP) z radikalom DPPH pri posameznih sortah analiziranih vzorcev, izraženi v mmol/L vina.

Najvišji AOP ima vzorec 3MF (19,66 mmol/L) sledi pa mu vzorec 4MP (17,60 mmol/L). Ta dva vzorca zelo izstopata od ostalih, ker sta to vzorca rdečih vin. Na splošno imajo rdeča vina višji AOP, saj vsebujejo večjo koncentracijo skupnih fenolov, ki so antioksidanti v vinu.

Prav tako se po vrednosti AOP med seboj statistično razlikujejo bela vina. Razlike v AOP med posameznimi vzorci belih vin se pojavijo glede na to, v kakšni posodi so zorela. Izmed belih vzorcev ima največji AOP vzorec 2CH (1,60 mmol/L), saj je zorel v barrique sodu, pri čemer se iz lesa v vino izločajo skupni fenoli. Tudi vzorca 5SAU (1,44 mmol/L) in 6SP (1,59 mmol/L) sta zorela v barrique sodu in imata večji AOP v primerjavi z vzorcema 1BP in 7ZS, ki sta zorela v inox posodi in imata nižji AOP od vseh vzorcev, zorenih v barrique sodih.

4.1.6 Skupni fenoli

Fenolne spojine so lahko relativno enostavne fenolne spojine, ki izvirajo iz grozdja, kakor tudi zelo kompleksne fenolne spojine (tanini), ki se ekstrahirajo iz lesene vinske posode med procesom zorenja vina. Fenolne spojine so pomembne, saj prispevajo k barvi in stabilnosti vina, v večjih koncentracijah pa so odgovorne za trpkost ter grenkobo okusa; v prisotnosti kisika se hitro oksidirajo in povzročajo porjavitev vina (Košmerl in Kač, 2007).

Povprečna koncentracija fenolnih spojin v belem vinu je 225 mg skupnih fenolnih spojin/L (razpon od 150-400 mg/L), v rdečem vinu 1800 mg/L (razpon od 700 do 4000 mg/L), v desertnem vinu pa 350-950 mg/L. Fenolne spojine preidejo v mošt in vino iz grozdnih jagod. Na koncentracijo skupnih fenolnih snovi v vinu vplivajo številni dejavniki: čas

kontakta grozdja in grozdnega soka s kožicami in pečkami, koncentracija etanola, temperatura fermentacije, mešanje soka in kožic (pri maceraciji), intenzivnost stiskanja, sorta vinske trte (Košmerl in Kač, 2007).

V preglednici 2 je prikazana povprečna koncentracija skupnih fenolov v vzorcih vina, ki se giblje med 239 mg/L in 2400 mg/L. Najmanj skupnih fenolov vsebuje vzorec 1BP (beli pinot) (239 mg/L), kar se ujema tudi z vrednostjo AOP, ki je pri tem vzorcu najmanjša. Majhna vsebnost skupnih fenolov je pri vzorcu 1BP posledica sorte in načina zorenja oz. posode, v kateri je vino zrelo, saj je zrelo v inox posodi.

Največ skupnih fenolov vsebuje vzorec 3MF (modra frankinja) (2400 mg/L), sledi pa mu vzorec 4MP (modri pinot) (2267 mg/L). Vzorca sta rdeči vinski sorti, ki na splošno vsebujejo več skupnih fenolnih snovi v primerjavi z belimi, kar se ujema tudi z rezultati AOP.

Med belimi vzorci vsebuje največ skupnih fenolov vzorec 8ZV, kar smo tudi pričakovali, saj je vzorec 8ZV zvrst, ki je pridelana iz polovice posušenega grozdja in iz polovice grozdja iz normalne trgatve, pri čemer se je iz posušene pecljevine in kožic ekstrahiralo veliko fenolnih snovi oziroma so se fenolne snovi skoncentrirale in jih je zato več prišlo v mošt oziroma vino.

Med ostalimi belimi vzorci se pojavijo razlike v vsebnosti fenolnih spojin glede na posodo, v kateri so zreli. Tako vsebujejo vzorci 2CH (chardonnay), 5SAU (sauvignon) in 6SP (sivi pinot), ki so zreli v barrique sodih, več skupnih fenolnih snovi kot vzorca 1BP in 7ZS, ki sta zreli v inox posodah, kjer ni prišlo do ekstrakcije fenolnih spojin iz posode. Po vsebnosti skupnih fenolov se statistično ne razlikujeta vzorca 1BP in 7ZS, saj vsebujeta približno 240 g/L, ter vzorci 2CH, 5SAU in 6SP, kjer se vsebnost skupnih fenolov giblje med 359 in 399 mg/L.

4.1.7 Kalij

Iz preglednice 2 je razvidno, da vsebuje največ kalija vzorec 8ZV (zvrst) (1730 mg/L). Vzorca 2CH (chardonnay) in 4MP (modri pinot) se po vsebnosti kalija ne razlikujeta (1345 mg/L in 1365 mg/L). Med seboj sta primerljiva tudi vzorca 3MF (modra frankinja) in 7ZS (zeleni silvanec) (1185 mg/L in 1259 mg/L). Prav tako se statistično ne razlikujeta vzorca 5SAU (sauvignon) in 6SP (sivi pinot), ki vsebujeta 1100 mg/L in 1053 mg/L. Izmed vseh vzorcev vsebuje vzorec 1BP (beli pinot) najmanj kalija, saj ga vsebuje le 980 mg/L.

4.1.8 Intenziteta barve

V preglednici 2 so zbrane povprečne vrednosti intenzitete barve proučevanih vzorcev, ki se gibljejo v mejah od 0,10 do 8,14. Po pričakovanjih imata največjo intenziteto vzorca 3MF (modra frankinja) (6,97) in 4MP (8,14) (modri pinot). Sledi jima vzorec 8ZV (zvrst), ki ima visoko intenziteto barve zaradi tehnologije, s katero je bil pridelan, saj se je iz

posušenih grozdnih jagod ekstrahiralo tudi veliko fenolov, ki vplivajo na intenziteto barve. Vzorca 5SAU (sauvignon) in 6SP (sivi pinot) se med seboj statistično ne razlikujeta. Razliko v intenziteti barve med SP in vzorci 1BP (beli pinot), 2CH (chardonnay) in 7ZS (zeleni silvanec) lahko pripišemo sorti, saj ima sivi pinot rožnato obarvane grozdne jagode, iz katerih med stiskanjem preide več fenolov, ki vplivajo na barvo. Vzorec z najnižjo intenziteto barve je vzorec 1BP (beli pinot), kar je lahko sortno pogojeno. Razlike v intenziteti barve se lahko pojavijo tudi zaradi posode, v kateri je vino zrelo. Tako imajo vina, ki so zorela v barrique sodih 3MF, 4MP, 5SAU in 6SP, večjo intenziteto barve kot vina, ki so zorela v inox posodi (1BP, 7ZS).

4.1.9 Vsebnost višjih alkoholov in hlapnih aromatičnih spojin

Višje alkohole v alkoholnem destilatu vina smo določali s plinsko kromatografijo (GC) na katedri za Tehnologije, prehrano in vino, Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta.

Preglednica 4: Vpliv sorte analiziranih vzorcev na vsebnost hlapnih snovi in višjih alkoholov (mg/L)

	Oznaka vzorca								
Spojina (mg/L)	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SP	7ZS	8ZV	z.
acetaldehid	27,03dc	35,60bc	21,00d	22,50d	0,00e	23,87d	37,30b	55,20a	***
etil acetat	12,50bc	6,60c	28,60a	36,60a	28,30a	31,30a	26,10ab	0,00c	***
metanol	57,03e	66,20de	186,63a	148,70b	75,70d	77,80d	97,90c	112,40c	***
1-propanol	40,90ab	39,20ab	27,20c	23,60c	33,50cb	40,57ab	48,90a	40,60ab	**
izobutanol	8,40b	13,80b	57,80a	60,20a	13,30b	15,47b	7,90b	13,80b	***
izoamil acetat	1,20ab	1,30ab	1,20ab	1,00ab	1,30ab	1,53a	1,80a	0,70b	nz
izoamilalkohol	175d	200c	409b	454a	188cd	172d	173d	143e	***
2-feniletal acetat	0,00c	0,00c	0,70b	0,00c	1,70a	0,00c	0,00c	0,00c	***
2-feniletanol	7,80f	14,70c	24,70b	31,10a	9,30fde	10,63de	11,03d	8,90fe	***
VA	232	268	519	570	244	239	241	206	

*** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv; ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv; * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv.

a, b, c, d, e, f, g, h sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

V vzorcih smo določili koncentracije acetaldehida, etil acetata, metanola, 2-feniletal acetata, 1-propanola, izobutanola, izoamilalkohola in 2-feniletanola. Povprečni rezultati in standardni odklon so prikazani v prilogi B. V preglednici 4 pa je prikazano povprečje treh ponovitev posameznih vzorcev, razen pri vzorcu 6, kjer je povprečje treh ponovitev treh posameznih vzorcev vina sorte sivi pinot (skupaj devet meritev).

Statistično zelo visoko značilne razlike so bile značilne za vsebnosti acetaldehida, etil acetata, metanola, izobutanola, izoamilalkohola, 2-feniletal acetata in 2-feniletanola. Visoko značilne razlike so značilne za vsebnosti 1-propanola, statistično neznačilne razlike pa so bile značilne za vsebnosti izoamil acetata.

Skupna vrednost vseh višjih alkoholov (VA=1-propanol+izobutanol+izoamilalkohol+2-feniletanol) je bila najmanjša pri vzorcu 8ZV (206 mg/L), sledijo vzorci 1BP, 6SP, 7ZS in 5SAU, kjer se vrednosti VA gibljejo med 232 in 244 mg/L. Največ VA med belimi vini

vsebuje vzorec 2CH (268 mg/L). Vzorca 3MF in 4MP vsebujeta največ VA (519 in 570 mg/L). Vrednosti VA pri vzorcih 3MF in 4MP presegajo željeno vrednost (350 mg/L) višjih alkoholov v vinih.

Iz preglednice 4 je razvidno, da je imel največ acetaldehida vzorec 8ZV (55,2 mg/L). Vzorca 2CH in 7ZS se med seboj statistično nista razlikovala in sta vsebovala 35,6 in 37,3 mg/L acetaldehida. Sledijo vzorci 1BP, 3MF, 4MP in 6SP, ki se statistično ne razlikujejo in vsebujejo primerljive količine acetaldehida. V vzorcu 5SAU ni sledov acetaldehida.

V vsebnosti etil acetata se vzorci 3MF, 4MP, 5SAU, 6SP in 7ZS med seboj statistično niso razlikovali, saj so vsebovali med 26,1 in 36,6 mg/L, kar so tudi pričakovane vrednosti za etil acetat. Sledita jim vzorca 1BP in 2CH, ki pa že vsebujeta občutno manjše koncentracije etil acetata od pričakovanih, in sicer 12,5 in 6,6 mg/L. V vzorcu 8ZV ni sledov etil acetata.

Po vsebnosti metanola izstopata vzorca 3MF (186,6 mg/L) in 4MP (148,7 mg/L), ki ga vsebujeta največ. Ta dva vzorca sta rdeči sorti in sta bila macerirana. Vsebnost metanola je odvisna od aktivnosti encima pektinmetilesteraze, ki odcepi zaestrene metilne skupine na poligalakturonskih verigah pektina in tako doseže maksimalno količino že pred začetkom alkoholne fermentacije. Encimska aktivnost je največja med zorenjem grozdja in se nadaljuje pri podaljšani maceraciji (Košmerl, 2007b), ki je bila prisotna pri teh dveh vzorcih. Vzorcema 3MF in 4MP sledi vzorec 8ZV, ki vsebuje 112,4 mg/L metanola. Razlog za dokaj veliko vsebnost metanola je v tem, da je bilo grozdje sušeno, pri čemer je bila velika aktivnost encima pektinmetilesteraze, katerega delovanje je opisano zgoraj. Ker grozdje ni bilo macerirano, vsebuje manj metanola kot vzorca 3MF in 4MP. Vzorec 7ZS vsebuje 97,9 mg/L metanola. Vzorca 5 in 6 se v vsebnosti metanola statistično ne razlikujeta, saj vsebujeta 75,7 in 77,8 mg/L metanola. Sledita jima vzorca 2CH in 1BP, ki med vsemi vzorci vsebujeta najmanj metanola, 66,2 in 57,0 mg/L.

Koncentracije 1-propanola v vzorcih 1BP, 2CH, 6SP, 7ZS in 8ZV so bile zelo podobne oz. se med seboj statistično niso razlikovale, saj so se gibale med 48,9 mg/L pri vzorcu 7ZS in 39,2 mg/L pri vzorcu 2CH. Sledi jim vzorec 5SAU, ki je vseboval 33,5 mg/L 1-propanola. Najmanj 1-propanola sta vsebovala vzorca 3MF (27,2 mg/L) in 4MP (23,6 mg/L), ki se statistično nista razlikovala.

Največ izobutanola vsebuje vzorec 4MP (60,2 mg/L), ki se po vsebnosti izobutanola statistično ne razlikuje od vzorca 3MF (57,8 mg/L). Vzorci 1BP, 2CH, 5SAU, 6SP, 7ZS in 8ZV vsebujejo manj izobutanola in se med sabo statistično ne razlikujejo.

Največ izoamil acetata vsebujeta vzorec 7ZS (1,80 mg/L), najmanj pa ga vsebuje vzorec 8ZV. Med vzorcema 1BP (1,20 mg/L) in 3MF (1,20 mg/L) ni razlik v vsebnosti izoamil acetata, prav tako se po vsebnosti izoamil acetata ne razlikujeta vzorca 2CH (1,30 mg/L) in 5SAU (1,30 mg/L). Največ izoamilalkohola vsebuje vzorec 4MP s 454 mg/L, sledi mu vzorec 3MF s 409 mg/L. Ta dva vzorca vsebujeta nekoliko preveč izoamilalkohola, kot je predpisano. Od belih vin vsebuje največ izoamilalkohola vzorec 2CH (200 mg/L), sledi mu 5SAU (188 mg/L). Vzorci 1BP, 6SP in 7ZS se med seboj statistično ne razlikujejo. Najmanj izoamilalkohola vsebuje vzorec 8ZV (143 mg/L). Vsebnost 2-feniletil acetata

smo določili le pri vzorcih 3MF in 5SAU v zelo majhnih količinah (0,70 in 1,70 mg/L). V ostalih vzorcih nismo s to metodo določili 2-feniletal acetata. 2-feniletanol je najbolj zastopan v vzorcu 4MP (31,1 mg/L). Sledi mu vzorec 3MF (24,7 mg/L), kar smo tudi pričakovali, saj sta to rdeči sorti. Od belih sort vsebuje največ 2-feniletanola vzorec 2CH (14,7 mg/L). Ostali vzorci 1BP, 5SAU, 6SP in 7ZS se med seboj statistično ne razlikujejo.

S plinsko kromatografijo smo na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo pod mentorstvom prof. dr. Helene Prosen kvalitativno določili hlapne aromatične spojine. Spojine smo določali s starim vlaknom in novim vlaknom. S starim vlaknom smo določili nekoliko manj spojin kot z novim, kar je razvidno iz prilog D in E. V preglednici 5 so le nekatere pomembnejše spojine. Standardni odklon za posamezno spojino je prikazan v prilogi C.

Preglednica 5: Vpliv sorte analiziranih vzorcev na vsebnost hlapnih aromatičnih spojin, ki so bile kvalitativno določene v vzorcih vin (ploščina kromatografskega vrha/10⁶)

	Oznaka vzorca								
Spojina (ploščina kromatografskega vrha/10 ⁶)	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SP	7ZS	8ZV	z.
etanol	1810c	2445b	4293a	4622a	1953c	2244bc	4621a	2627b	***
etil acetat	113cb	95d	134a	99cd	107cd	113cb	124ab	8e	***
3-metil-1-butanol (izoamilalkohol)	186b	178b	408a	426a	180b	145c	165bc	148c	***
2-hidroksi etil propanoat	0,00b	0,00b	33,67a	38,00a	0,00b	6,67b	0,00b	0,00b	***
3-metil-1-butanol acetat (izoamil acetat)	448a	191dc	22e	22e	302bc	272bcd	375ab	183d	***
heksanojska kislina	10,00a	0,00e	5,00d	0,00e	9,00b	6,67c	10,00a	9,00b	***
etil heksanoat	323a	266b	119e	92f	274b	239c	217c	185d	***
heksil acetat	134cab	44de	7e	6e	154ab	102cdb	188a	73cde	***
oktanojska kislina	91,0a	49,0c	17,0e	14,0e	59,0b	40,7d	90,0a	46,0c	***
feniletanol	24,0d	27,0d	88,0b	123,0a	23,0d	24,7d	35,0c	33,0c	***
etil oktanoat	1981a	1801b	670f	536g	1741bc	1625c	1499d	1107e	***
dietil butanedionat	0,00c	6,00c	69,00b	96,00a	0,00c	8,00c	0,00c	8,00c	***
2-feniletal acetat	56,0b	34,0c	7,0d	0,0d	37,0c	34,7c	83,0a	34,0c	***
etil dekanoat	1329a	1157ab	230d	185d	1210ab	989cb	997cb	900c	***
etil dodekanoat	114a	66ab	19b	15b	16b	104ab	72ab	99ab	*
etil butanoat	13,0a	11,0a	0,0b	0,0b	0,0b	13,0a	2,0b	12,0a	***
limonen	0,00c	9,00b	6,00b	6,00b	78,00a	2,00c	0,00c	7,00b	***
1-heksanol	9,00b	0,00c	23,00a	0,00c	0,00c	8,33b	0,00c	0,00c	***
etil heksadekanoat	20,0c	40,0a	0,0d	0,0d	29,0b	20,3c	23,0bc	28,0bc	***

***p≤0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; **p≤0,01 statistično visoko značilen vpliv; *p≤0,05 statistično značilen vpliv; nz p>0,05 statistično neznačilen vpliv.

a, b, c, d,e,f,g,h sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Statistično visoko značilne razlike so bile značilne za večino aromatičnih spojin. Statistično značilen vpliv pa je bil značilen za vsebnost etil dodekanoata (Preglednica 5).

Največ etil acetata je vseboval vzorec 3MF (134) sledil pa mu je vzorec 7ZS (124). Vzorci 1BP, 4MP, 5SAU in 6SP se med seboj niso statistično razlikovali pa vsebnosti etil acetata (med 95 in 107). Vzorec 8ZV je vseboval najmanj etil acetata (8), kar se ujema tudi z

meritvami iz preglednice 4. Izoamil alkohol je najbolj zastopan v rdečih sortah, to je pri vzorcih 3MF (408) in 4MP (426), kar se ujema z rezultati v preglednici 4. Vzorci 1BP, 2CH, 5SAU in 7ZS se statistično med seboj ne razlikujejo po vsebnosti izoamilalkohola. Najmanj izoamilalkohola vsebuje vzorec 6SP (145), ki pa se statistično ne razlikuje od vzorca 8ZV (148). Največ izoamil acetata smo določili v vzorcu 1BP (448), sledi mu vzorec 7ZS. Najmanj izoamil acetata sta vsebovala vzorca 3MF in 4MP (22). Majhne koncentracije heksanojske kisline smo določili v vzorcih 1BP, 3MF, 5SAU, 6SP, 7ZS in 8ZV. Od tega sta je največ vsebovala vzorca 1BP in 7ZS (10). Pri vzorcih 2CH, 3MF, 4MP, 5SAU, 6SP in 8ZV nismo določili heksanojske kisline. Etil heksanoat je bil najbolj zastopan v vzorcu 1BP (323), najmanj pa ga je bilo v vzorcu 4MP (92). Beli vzorci so vsebovali več etil heksanoata kot rdeča vzorca. Največ heksil acetata je vseboval vzorec 7ZS (188), ki je belo vino, najmanj pa vzorca 3MF (119) in 4MP (92), tako smo ugotovili, da vsebujeta rdeča vzorca manj te spojine kot beli vzorci. Oktanojska kislina je bila najbolj zastopana v vzorcih 1BP (91) in 7ZS (90), najmanj pa v vzorcih 3MF (17) in 4MP (14), kar nam pove, da rdeča vina vsebujejo manj oktanojske kisline kot bela. Med belimi vzorci pa vsebuje najmanj oktanojske kisline vzorec 6SP. Največ 2-feniletanola smo določili v vzorcu 4MP (123), sledi mu vzorec 3MF (88), kar se ujema tudi z rezultati v preglednici 4. Oba vzorca sta rdeči sorti. Med belimi vzorci vsebujeta največ 2-feniletanola vzorca 7ZS (35) in 8ZV (33), ki se statistično ne razlikujeta. Vzorci 1BP, 2CH, 5SAU in 6SP vsebujejo med vsemi vzorci najmanj 2-feniletanola in se med seboj statistično ne razlikujejo. Etil oktanoat je imel poleg etanola največjo ploščino vrha, torej ga je količinsko največ izmed vseh spojin v vseh vzorcih. Največ ga vsebuje vzorec 1BP (1981), nato pa si po vrsti sledijo vzorci 2CH, 5SAU, 6SP, 7ZS, 8ZV, 3MF in 4MP, ki vsebuje najmanj etil oktanoata (536). V vzorcu 1BP je tudi največ etil dekanoata (1329). Najmanj te spojine je v vzorcih 3MF (230) in 4MP (185), ki sta rdeča vzorca, ostali beli vzorci vsebujejo približno enako količino etil dekanoata. Sorta vina ima statistično neznačilen vpliv na vsebnost etil dodekanoata, saj med vzorci skoraj ni razlik v vsebnosti le-te. V manjših količinah smo določili naslednje spojine: 2-hidroksietil propanoat, heksanojsko kislino, dietil butanedionat dietilni ester butanediojske kisline, 2-feniletal acetat, etil butanoat, limonen, 1-heksanol idr. (priloga C).

4.2 VPLIV LETNIKA NA FIZIKALNOKEMIJSKE PARAMETRE

Naredili smo statistično primerjavo med sivimi pinoti različnih letnikov. Letnik 2007 predstavlja en vzorec sivega pinota, katerega meritve smo opravili v treh paralelkah, letnik 2008 pa predstavlja dva vzorca sivega pinota, vsak v treh paralelkah.

Preglednica 6: Vpliv letnika analiziranih vzorcev vin sorte sivi pinot na fizikalno-kemijske parametre

Parameter (enota)	Letnik		z.
	2007	2008	
pH	3,34 ± 0,00b	3,43 ± 0,03a	**
Hlapne kisline (g/L)	0,40 ± 0,01a	0,34 ± 0,01b	***
Relativna gostota (g/cm ³)	0,98953 ± 0,00b	0,99063 ± 0,00a	***
Alkohol (vol.%)	14,13 ± 0,06a	14,08 ± 0,45a	nz
SE (g/L)	20,05 ± 0,19b	22,82 ± 1,06a	**
FAN (mg/L)	49,03 ± 9,35a	70,17 ± 29,04a	nz
AOP (mmol DPPH/L)	2,04 ± 0,10a	1,36 ± 0,29b	**
Skupni fenoli (mg/L)	435 ± 22a	322 ± 52b	**
Kalij (mg/L)	805 ± 38b	1178 ± 55a	***
Intenziteta barve	0,23 ± 0,01a	0,45 ± 0,22a	nz

***p≤0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; **p≤0,01 statistično visoko značilen vpliv; *p≤0,05 statistično značilen vpliv; nz p>0,05 statistično neznačilen vpliv.

a, b sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Statistično neznačilne razlike so bile pri analiziranih vzorcih sorte sivi pinot različnih letnikov značilne za vsebnost alkohola, FAN in intenziteto barve. Statistično visoko značilne razlike smo opazili pri vrednosti pH, vsebnosti SE, AOP in vsebnosti skupnih fenolov. Statistično zelo visoko značilne razlike pa so se pojavile pri vrednosti relativne gostote, vsebnosti hlapnih kislin in kalija.

Iz preglednice 6 je razvidno, da vsebuje letnik 2007 več hlapnih kislin kot letnik 2008, kar smo tudi pričakovali, saj vsebujejo mlada vina manj hlapnih kislin kot stara. Vsebnost kalija je večja pri letniku 2008. To je verjetno posledica maceracije enega izmed vzorcev letnika 2008, saj se pri tem iz jagodnih kožic v vino sprosti več kalija. Tudi vsebnost skupnega suhega ekstrakta je večja pri letniku 2008, kar je prav tako posledica maceracije enega izmed vzorcev letnika 2008. Skupni fenoli in AOP sta višja pri letniku 2007. AOP se ujema z meritvami skupnih fenolov, saj sta to parametra, ki se med seboj povezuje. S povečevanjem skupnih fenolov se povečuje tudi vsebnost AOP. V vsebnosti alkohola, FAN in vrednosti intenzitete barve se vzorci med letniki ne razlikujejo. Količina alkohola naj bi bila v mladih vinih nekoliko večja kot v starih.

Preglednica 7: Vpliv letnika analiziranih vzorcev vin sorte sivi pinot na vsebnost hlapnih spojin in višjih alkoholov (mg/L)

Spojina (mg/L)	Letnik		z.
	2007	2008	
acetaldehid	18,30 ± 0,90a	26,65 ± 11,08a	nz
etil acetat	46,00 ± 2,30a	23,95 ± 11,72b	*
metanol	69,90 ± 3,50a	81,75 ± 16,15a	nz
1-propanol	49,20 ± 2,50a	36,25 ± 10,38a	nz
izobutanol	14,50 ± 0,70a	15,95 ± 8,53a	nz
izoamil acetat	1,00 ± 0,00a	1,80 ± 0,77a	nz
izoamilalkohol	179 ± 9a	169 ± 14a	nz
2-feniletanol	12,60 ± 0,60a	9,65 ± 0,67b	***
VA	255,30	230,95	

*** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv; ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv; * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv.

a, b sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Statistično zelo visoko značilen vpliv letnika analiziranih vzorcev je bil značilen le za vsebnost 2-feniletanola. Statistično značilen vpliv letnika se je pokazal pri vsebnosti etil acetata. Statistično neznačilen vpliv pa je bil značilen za preostale višje alkohole in hlapne spojine iz preglednice 7.

Iz preglednice 7 je razvidno, da vina letnika 2008 vsebujejo več acetaldehida, metanola, izobutanola in izoamil acetata kot vino letnika 2007, ki vsebuje več etil acetata, 1-propanola, izoamilalkohola in 2-feniletanola. Vsebnost skupnih višjih alkoholov VA (1-propanol+izobutanol+izoamilalkohol+2-feniletanol) je večja pri vzorcu letnika 2007.

Preglednica 8: Vpliv letnika analiziranih vzorcev vin sorte sivi pinot na vsebnost hlapnih aromatičnih spojin, ki so bile kvalitativno določene v vzorcih vin (ploščina kromatografskega vrha/10⁶)

Spojina (ploščina kromatografskega vrha/10 ⁶)	Letnik		z.
	2007	2008	
etanol	2352 ± 118a	2190 ± 475a	nz
etil acetat	129 ± 7a	106 ± 5b	***
3-metil-1-butanol (izoamilalkohol)	171 ± 9a	133 ± 6b	***
2-hidroksietil propanoat	20,00 ± 1,00a	0,00 ± 0,00b	***
1-butanol-3-metil-acetat (izoamil acetat)	136 ± 7b	341 ± 39a	***
furfural	43,00 ± 2,00a	0,00 ± 0,00b	***
heksanojska kislina	6,00 ± 0,00b	7,00 ± 0,00a	***
etil heksanoat	235 ± 12a	242 ± 20a	nz
heksil acetat	31,00 ± 1,00b	137,50 ± 49,18a	**
benzaldehyd	14,00 ± 1,00a	0,00 ± 0,00b	***
oktanojska kislina	41,00 ± 2,00a	40,50 ± 2,43a	nz
2-feniletanol	27,00 ± 1,00a	23,50 ± 1,05b	**
etil oktanoat	1675 ± 84a	1600 ± 79a	nz
dietil butanedionat	24,00 ± 1,00a	0,00 ± 0,00b	***
2-feniletetil acetat	16,00 ± 1,00b	44,00 ± 6,81a	***
etil dekanat	780 ± 39b	1093 ± 199a	*
etil dodekanat	51,00 ± 3,00a	130,50 ± 88,47a	nz
etil butanoat	10,00 ± 0,00b	14,50 ± 1,87a	**
limonen	6,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00b	***
1-heksanol	11,00 ± 1,00a	7,00 ± 7,69a	nz
etil heksadekanat	10,00 ± 0,00b	25,50 ± 1,87a	***
3-metilbutil oktanoat	0,00 ± 0,00b	4,50 ± 0,55a	***

***p≤0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; **p≤0,01 statistično visoko značilen vpliv; *p≤0,05 statistično značilen vpliv; nz p>0,05 statistično neznačilen vpliv.

a, b sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

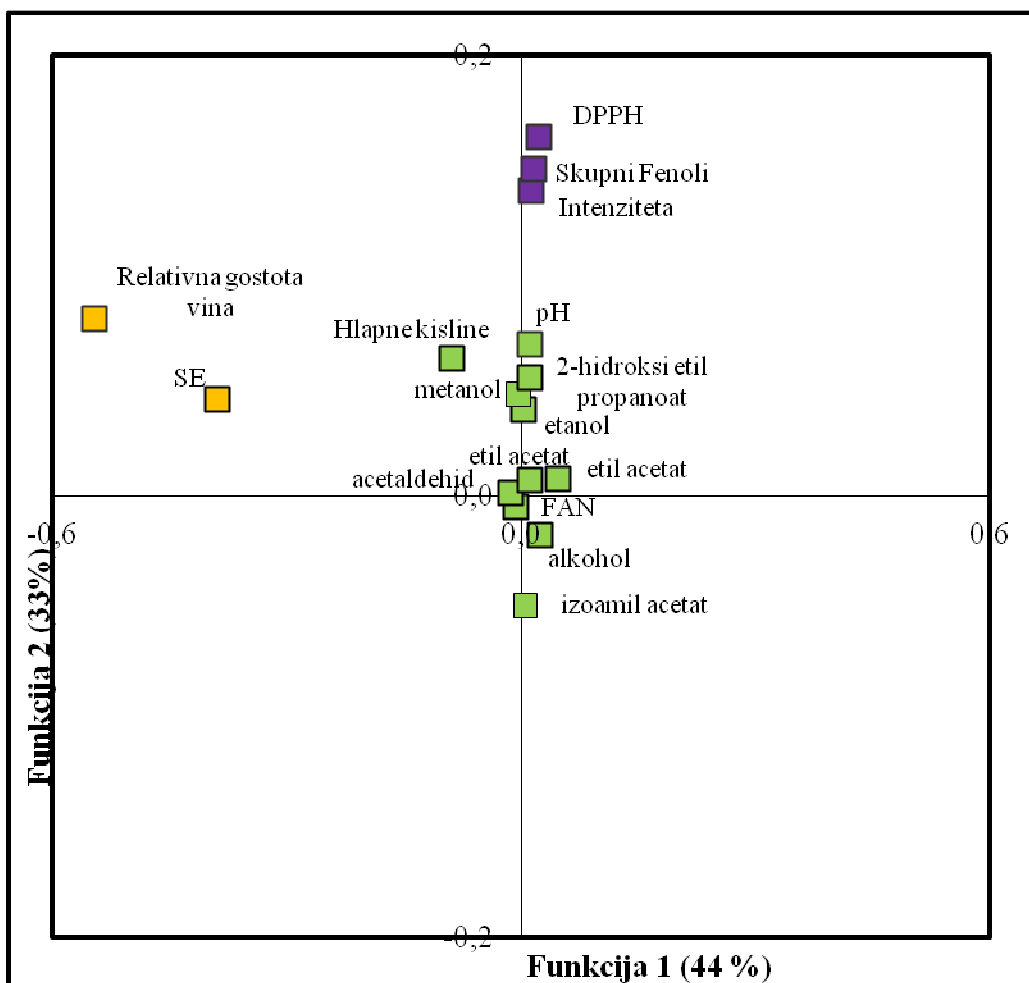
Iz preglednice 8 je razvidno da ima letnik analiziranih vzorcev statistično neznačilen vpliv na vsebnost naslednjih aromatičnih hlapnih spojin: etanola, etil heksanoata, oktanojske kisline, etil oktanoata, etil dodekanoata in 1-heksanola. Statistično značilen vpliv ima na vsebnost etil dekanata. Statistično visoko značilen vpliv ima letnik na vsebnost etil butanoata, 2-feniletanola in heksil acetata. Statistično zelo visoko značilen vpliv pa ima letnik na vsebnost etil acetata, izoamilalkohola, 2-hidroksietil propanoata, izoamil acetata, furfurala, heksanojske kisline, benzaldehida, dietil butanedionata, 2-feniletetil acetata, limonena, etil heksadekanoata, 3-metilbutil oktanoata idr.

Ugotovili smo, da mlada vina vsebujejo več etilnih estrov, butilnega estra, izoamil acetata, heksil acetata kot starejša vina. Starejša vina pa vsebujejo bistveno več etanola, etil acetata, izoamilalkohola, furfurala, benzaldehida in 2-feniletanola kot mlajša vina.

4.3 LDA IN PCA ANALIZA

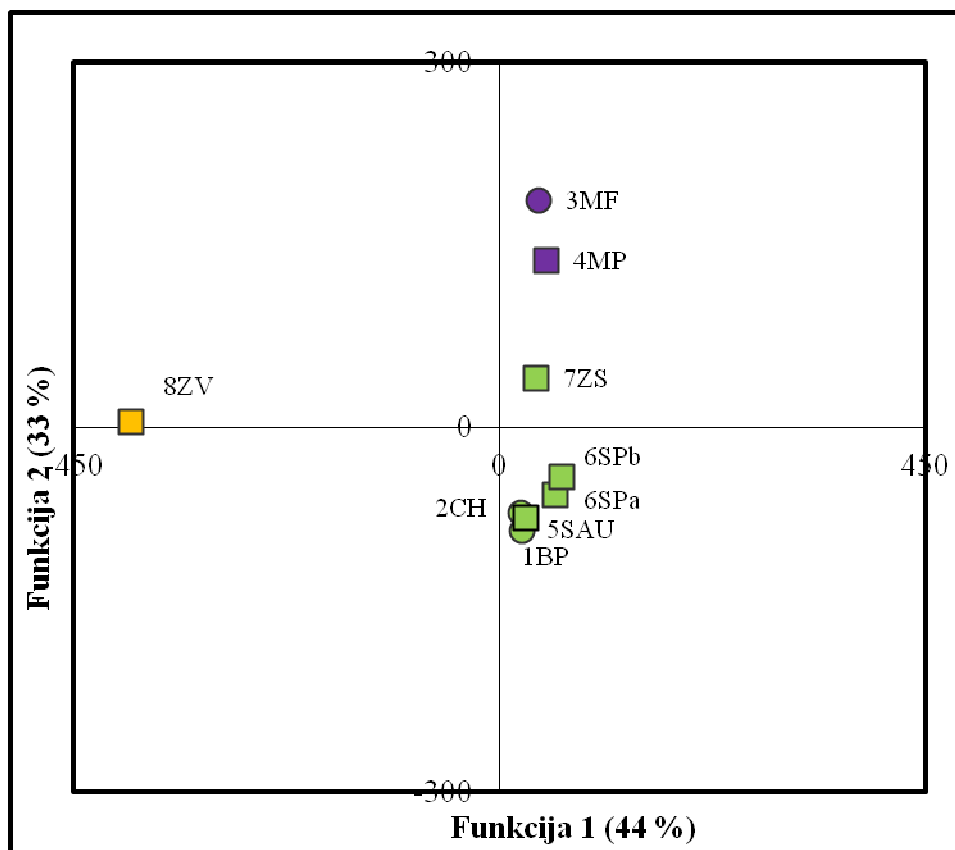
Vzorci smo razvrstili v skupine s pomočjo statističnih metod PCA in LDA. Najprej smo uporabili test PCA, s pomočjo katerega smo ugotovili najpomembnejše lastnosti vzorcev: pH, alkohol, relativno gostoto, SE, hlapne kisline, FAN, skupne fenole, DPPH, intenziteto barve, etanol, metanol, acetaldehid, etil acetat, 2-hidroksi etil propanoat in izoamil acetat, saj smo z njimi dobili najboljšo razdelitev vzorcev glede na sorto.

Rezultati analize LDA so grafično predstavljeni na slikah 11 in 12. Slika 11 prikazuje porazdelitev lastnosti vzorcev z dvema funkcijama.



Slika 11: Razvrstitev posameznih lastnosti analiziranih vzorcev s pomočjo metode LDA

Lastnosti vzorcev so porazdeljene v treh skupinah. V eni skupini na funkciji 2 daleč od koordinatnega izhodišča so DPPH, skupni fenoli in intenziteta. V drugi skupini, ki se nahaja na ob funkciji 1 vidimo relativno gostoto in SE. V tretji skupini je največ lastnosti in se nahajajo ob koordinatnem izhodišču. 2-hidroksietil propanoat in izoamil acetat sta v negativni korelaciji, saj oba ležita na funkciji 2 na nasprotnih straneh.



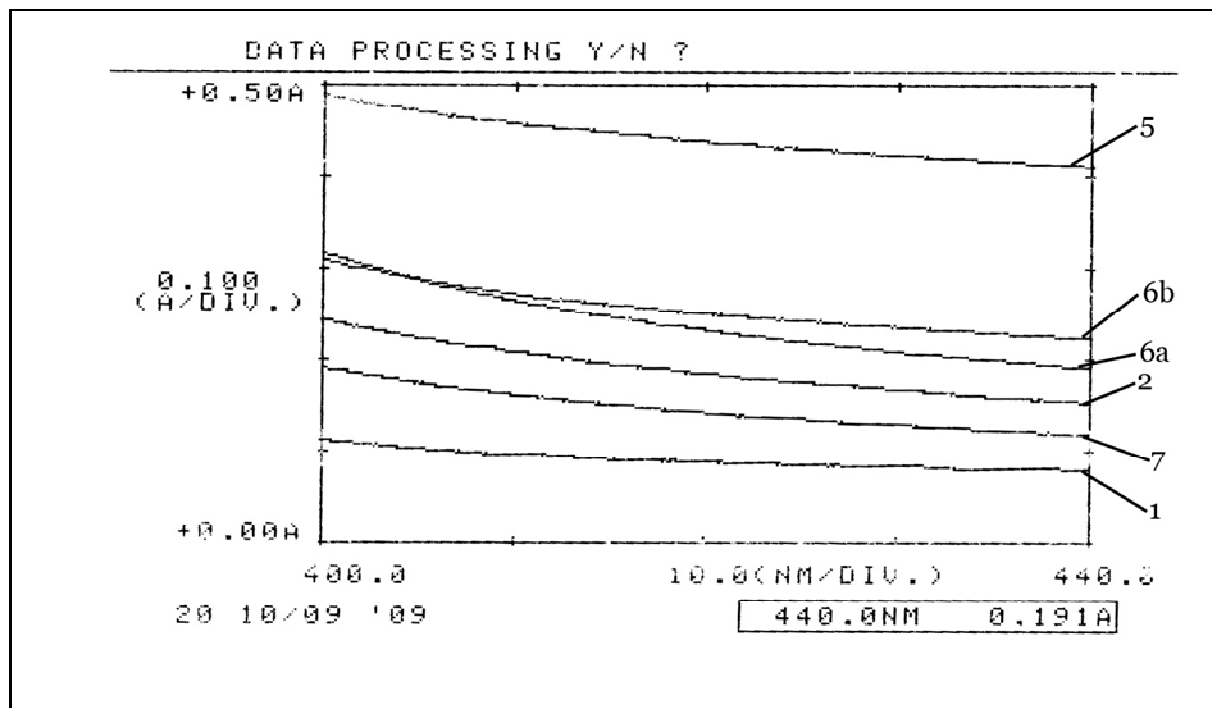
Slika 12: Razvrstitev posameznih sort analiziranih vzorcev s pomočjo metode LDA

Na sliki 12 so prav tako prikazane tri skupine točk, v katerih so porazdeljeni vzorci na podlagi 16 lastnosti, ki smo jih določili s PCA analizo. V prvi skupini ob funkciji 1 na vrhu grafa se nahajata vzorca 3MF in 4MP, kjer prav tako ležijo DPPH, skupni fenoli in intenziteta na sliki 11. V drugi skupini vidimo le vzorec 8ZV, ki se nahaja na funkciji 1 levo od izhodišča, kjer smo na sliki 11 opazili relativno gostoto in SE. Tretja skupina se nahaja blizu izhodišča in je najbolj številčna in heterogena skupina.

Z LDA analizo so se vzorci in lastnosti razporedili glede na barvo vina, saj so rdeča vina v eni skupini, bela pa so v drugi skupini, izjema je le vzorec 8ZV (sladko vino), ki leži v svoji skupini.

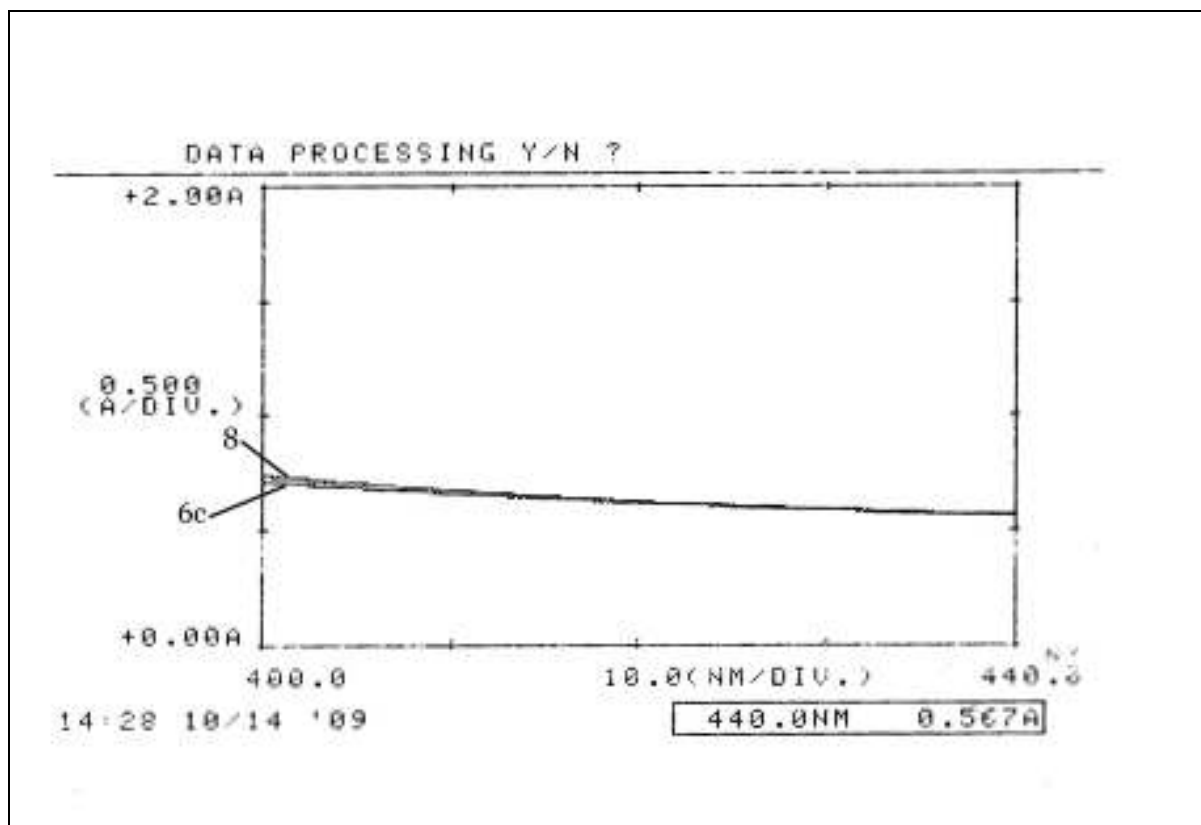
4.4 ABSORPCIJSKI SPEKTRI

Z merjenjem absorpcijskega spektra lahko sklepamo o odtenkih rumene oziroma zelene barve v belih vinih in o odtenkih vijolične oziroma rdeče barve pri rdečih vinih. Iz spodnjih slik 13-15 je razvidno, da se absorpcijski spektri vin različnih sort med seboj razlikujejo.



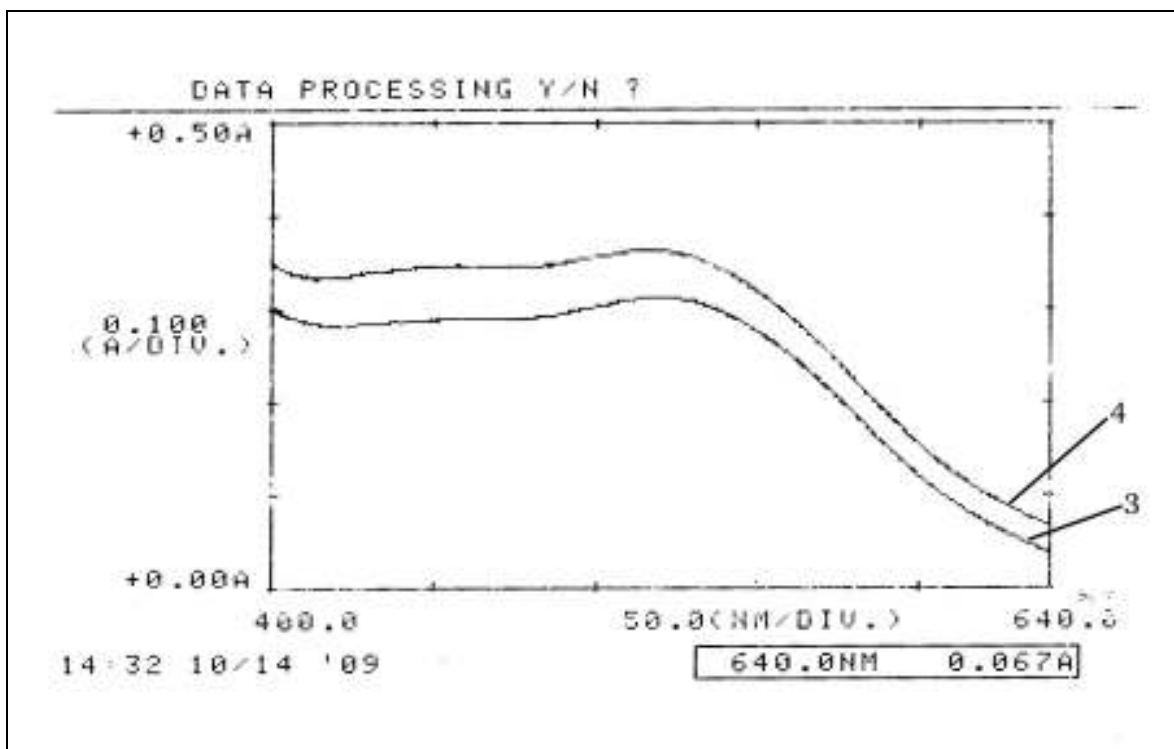
Slika 13: Absorpcijski spekter vzorcev 1, 2, 5, 6a, 6b in 7 v območju valovne dolžine 400-440 nm. 1=1BP, 2=2CH, 5=5SAU, 6a= SP-barrique 2007, 6b=SP-barrique 2008, 7=7ZS

S primerjavo absorpcijskih spektrov vzorcev, prikazanih na sliki 13, smo ugotovili, da ima največjo intenziteto barve vzorec 5SAU. Sledita mu vzorca 6SPa in 6SPb, ki imata precej podobne vrednosti absorpcijskih spektrov. Vzorcema 6SPa in 6SPb sledijo vzorci 2CH, 7ZS in vzorec 1BP, slednji ima najnižjo vrednost absorpcijskega spektra. Vsi spektri se ujemajo tudi z vrednostmi intenzitete barve, ki je bila prav tako največja pri vzorcu 5SAU, najmanjša pa pri vzorcu 1BP (Preglednica 2).



Slika 14: Absorpcijski spekter vzorcev 6c in 8 v območju valovne dolžine 400-440 nm. 6c=SP-inox 2008, 8=8ZV

Iz slike 14 je razvidno, da imata vzorca 6SPc in 8ZV skoraj enake absorpcijska spektra v območju od 400 do 440 nm in obenem višje vrednosti kot vzorci na sliki 13. Takšne rezultate smo pričakovali, saj je bil vzorec 6SPc maceriran, vzorec 8ZV pa je sladko vino iz posušenega grozdja, ki daje vino z večjo intenziteto barve, kar se ujema tudi z rezultati iz preglednice 2.



Slika 15: Absorpcijski spekter vzorcev 3 in 4 v območju valovne dolžine 400-640 nm. 3=3MF, 4=4MP

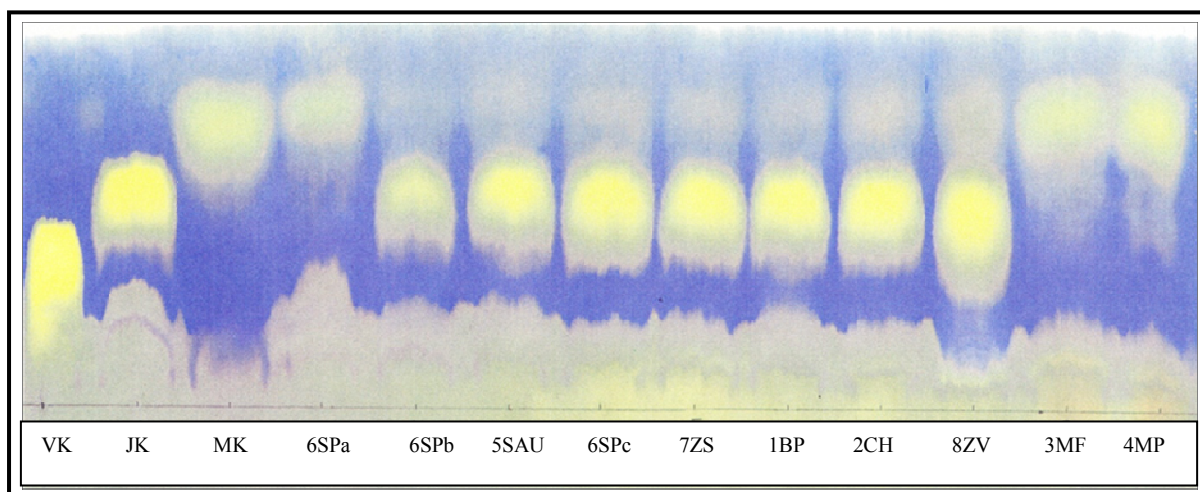
Slika 15 prikazuje absorpcijska spektra vzorcev rdečih vin, zato smo merili absorpcijski spekter v območju valovne dolžine med 400 in 640 nm. Spektra se razlikujeta od prejšnjih, kar smo tudi pričakovali in se ujemata z vrednostmi intenzitete barve v preglednici 2. Vzorec 4MP ima večjo intenziteto barve kot vzorec 3MF.

4.5 REZULTATI KVALITATIVNEGA DOLOČANJA ORGANSKIH KISLIN S PAPIRNO KROMATOGRAFIJO

Iz kromatograma na sliki 16 lahko razberemo, da vsi vzorci vsebujejo mlečno kislino, saj so lise vzorcev na kromatogramu na enaki višini, kot je lisa standardne raztopine mlečne kisline. Največjo koncentracijo mlečne kisline (MK) vsebujejo vzorci 6SPa, 3MF in 4MP, saj imajo ti vzorci intenzivnejše lise od ostalih. Glede na vsebnost mlečne kisline lahko zaključimo, da je pri vzorcih potekel biološki razkis, ki ga povzročijo mlečnokislinske bakterije s pretvorbo jabolčne v mlečno kislino s procesom dekarboksilacije.

Jabolčno kislino (JK) vsebujejo vzorci 6SPb, 5SAU, 6SPc, 7ZS, 1BP, 2CH in 8ZV, saj se višina lise teh vzorcev na kromatogramu ujema z liso standardne raztopine jabolčne kisline. Med temi vzorci najmanj jabolčne kisline vsebuje vzorec 6SPb, največ pa vzorec 8ZV. Če pogledamo kromatogram podrobneje, opazimo zelo malo jabolčne kisline tudi pri vzorcih 3MF in 4MP. V grozdju in moštu je jabolčna kislina večinoma v obliki soli-malatov. Vzorci 6SPa, 3MF in 4MP je vsebujejo le malo JK, saj se je le-ta pretvorila v mlečno med biološkim razkisom.

Vinska kislina naj bi bila prisotna pri vseh vzorcih. Iz kromatograma na sliki 16 ni točno razvidne lise v višini standardne raztopine vinske kisline pri nobenem vzorcu, kar je lahko posledica napake pri izvajanju kromatografije.



Slika 16: Kromatogram kvalitativnega določanja organskih kislin v analiziranih vzorcih

4.6 REZULTATI ČISTILNEGA POSKUSA Z BENTONITOM

4.6.1 Toplotni test

Kontrolni vzorci: Pri vseh kontrolnih vzorcih smo opazili motnost. Najbolj moten kontrolni vzorec je bil vzorec 6SPc, pri vzorcu 5SAU pa smo opazili še beljakovine.

Dodatek bentonita 7,5 g/hL: Ko smo vzorcem dodali 7,5 g/hL bentonita, se je prvotna motnost zmanjšala, vendar je zadostovala za čiščenje le pri vzorcih 2CH in 8ZV. Pri ostalih vzorcih s tem dodatkom nismo popolnoma odstranili motnosti.

Dodatek bentonita 12,5 g/hL: Dodatek 12,5 g/hL bentonita je zadostoval za popolno odstranitev motnosti v vzorcih 1BP in 7ZS. Vzorci 6SPa, 6SPb, 6SPc in 5SAU so ostali motni tudi po dodatku 12,5 g/hL bentonita.

Pri vzorcih 3MF in 4MP smo lahko opazili le, da se je motnost z dodatkom bentonita zmanjšala, nismo pa mogli določiti popolne odstranitve motnosti, saj sta ta dva vzorca rdeča in pri rdečih vinih je zelo težko določiti učinkovitost čiščenja z bentonitom.

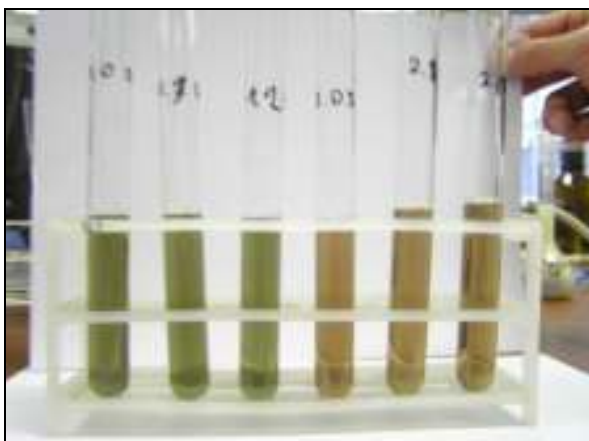
4.6.2 Bentotest

Kontrolni vzorci: Vsi kontrolni vzorci so bili motni, najbolj pa sta bila vzorca 2CH in 8ZV.

Dodatek bentonita 7,5 g/hL: Z dodatkom 7,5 g/hL bentonita se je motnost zmanjšala pri vseh vzorcih. Za popolno odstranitev motnosti je ta količina dodatka zadostovala le pri vzorcu 7ZS, s čimer smo potrdili rezultate toplotnega testa.

Dodatek bentonita 12,5 g/hL: Dodatek 12,5 g/hL bentonita je zadostoval za popolno odstranitev motnosti pri vzorcih 1BP, 2CH in 8ZV. Vzorci 6SPa, 6SPb, 6SPc in 5SAU so ostali motni tudi po dodatku 12,5 g/hL bentonita, zato bi potrebovali večjo količino bentonita za popolno odstranitev motnosti, s čimer smo potrdili tudi rezultate toplotnega testa.

Tako kot pri toplotnem testu smo tudi z bentotestom dokazali, da se pri vzorcih 3MF in 4MP ne da natančno določiti učinkovitosti čiščenja z bentonitom zaradi barve vina, ki nam to onemogoča.



Slika 17: Ocena motnosti vina po čiščenju z bentonitom

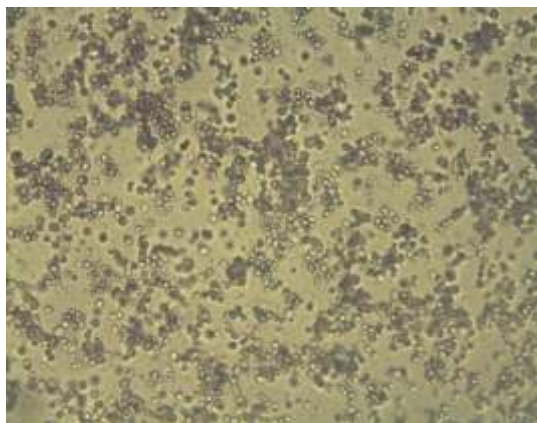
4.7 REZULTATI MIKROSKOPIRANJA VZORCEV

4.7.1 Mikroskopiranje usedline

Droži predstavljajo vse usedline na dnu posode po končanem alkoholnem vrenju ali biološkem razkisu vina in motni delci, ki še plavajo v mladem vinu. Kljub temu, da je sestava droži variabilna, so sestavljene večinoma iz mikroorganizmov predvsem kvasovk ter v manjši meri iz rastlinskih delcev in vinskega kamna (Pérez-Serradilla in Luque de Castro, 2008).

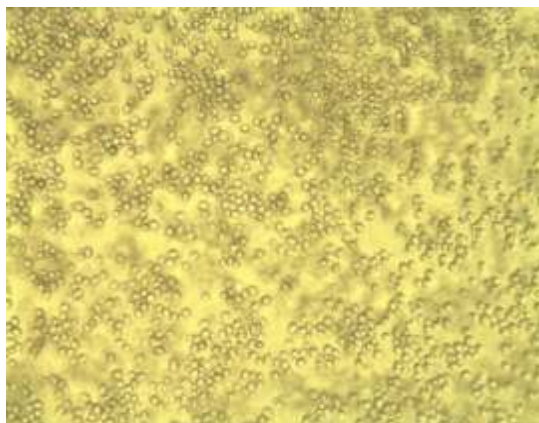
Z mikroskopiranjem droži smo ugotovili, da različne sorte vin vsebujejo različne seve kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*. Prav tako smo opazili razlike v obliki, živosti in sposobnosti razmnoževanja kvasnih celic.

Zelo številčno mešano kvasno populacijo smo videli pri vzorcu 6SPa (slika 18). Te celice so bile različnih oblik in formacij. Opazili smo celice okroglih in limonastih oblik, nekatere so se pojavljale posamezno, nekatere pa v grozdih ali verižicah.

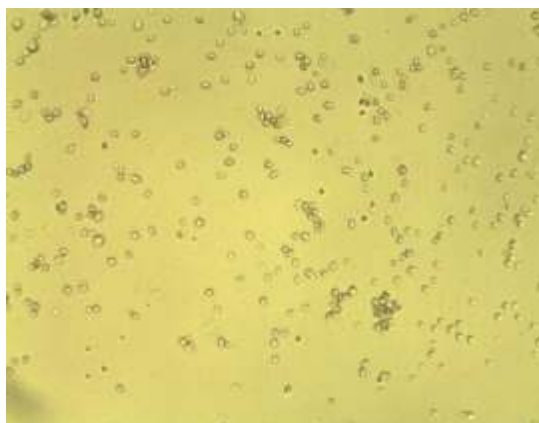


Slika 18: Mikroskopska slika kvasnih celic pri vzorcu 6SPa pri 400-kratni povečavi

Prav tako smo opazili številčno kvasno populacijo pri vzorcu 6SPc (slika 19), vendar pa lahko rečemo, da so vse celice okrogle oblike, nekatere še brstijo. Na podlagi števila kvasovk pri vzorcih 6SPb in 6SPc lahko potrdimo rezultate čistilnega poskusa z bentonitom, saj sta bila ravno ta dva vzorca najbolj motna in bi za njiju potrebovali večje količine bentonita.



Slika 19: Mikroskopska slika kvasnih celic pri vzorcu 6SPc pri 400-kratni povečavi



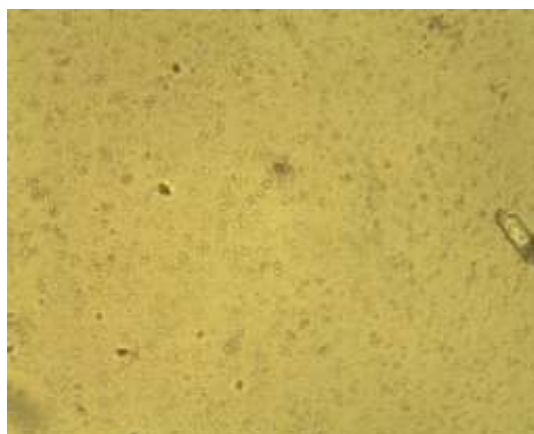
Slika 20: Mikroskopska slika kvasnih celic pri vzorcu 7ZS pri 400-kratni povečavi

Kvasne celice pri vzorcu 8ZV se od prejšnjih dveh vzorcev razlikujejo po velikosti, saj so večje, in po obliki, saj so večinoma limonastih oblik.

Najmanj kvasnih celic smo opazili pri vzorcih 1BP, 2CH in 7ZS. Kvasovke so bile večinoma okrogle oblike. Pri vzorcu 7ZS (slika 20) smo opazili, da se nekatere kvasne celice združujejo v grozde in verižice.

Pri vzorcu 5SAU nismo opazili kvasnih celic, kar je zelo presenetljivo, saj je vzorec 5SAU prav tako zorel na drožeh.

Vzorca 3MF in 4MP vsebujeta številčno kvasno populacijo. Pri vzorcu 4MP smo opazili tudi kristal vinskega kamna (slika 21). Ker je slika v premajhni povečavi, nismo mogli določiti natančne oblike in živosti celic.

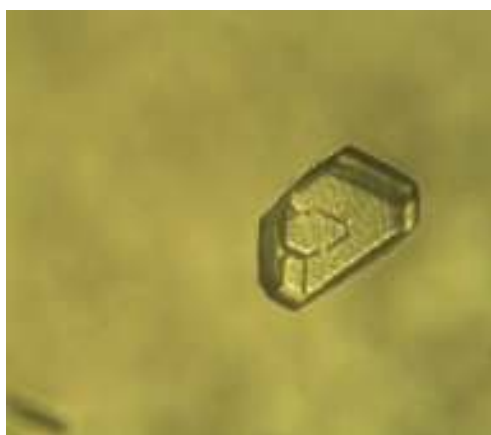


Slika 21: Mikroskopska slika kvasnih celic pri vzorcu 4MP pri 100-kratni povečavi

4.7.2 Mikroskopiranje usedline vina

Z mikroskopiranjem vina smo naredili mikrobiološki pregled usedline. Po pričakovanjih so v vzorcih celice vinskih kvasovk. Tako kot pri mikroskopiranju droži smo tudi z mikroskopiranjem usedline vina ugotovili, da vina vsebujejo različne seve kvasovk, ki se razlikujejo po številu, velikosti, obliki, formaciji. Poleg kvasovk smo opazili tudi kristale vinskega kamna, beljakovine ter rastlinske delce (priloge G do Q).

Pri vseh vzorcih smo opazili kristale vinskega kamna (slika 21). Celice kvasovk so bile prav tako prisotne v vseh vzorcih razen v vzorcu 5SAU, kjer smo opazili le plavajoče delce, ki bi lahko bili beljakovinski ali rastlinski (slika 23). Nekateri vzorci so vsebovali tudi rastlinske delce, to so vzorci 6SPa in 6SPb (slika 24).



Slika 22: Mikroskopska slika vzorca 5SAU pri 400-kratni povečavi, vinski kamen



Slika 23: Mikroskopska slika vzorca 5SAU pri 100-kratni povečavi, plavajoči delec



Slika 24: Mikroskopska slika vzorca 6SPa pri 400-kratni povečavi, rastlinski delec

Na določenih mikroskopskih slikah zaradi slabših posnetkov ni bilo mogoče natančno definirati, kaj je na sliki.

4.8 REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE Z BAUXBAUMOVO METODO

Vzorci smo senzorično analizirali z Bauxbaumovo metodo sedem mesecev po vzorčenju. V ocenjevalni komisiji je bilo 12 ocenjevalcev. Ocena posameznega vzorca je povprečna vrednost desetih ocen, saj smo najnižjo in najvišjo oceno izločili. Ocene posameznega ocenjevalca so zbrane v prilogi F.

Preglednica 9: Rezultati senzorične analize vina po Bauxbaumovi metodi (1-20)

Oznaka vzorca	Ocena
1BP	16,0
2CH	17,7
3MF	15,9
4MP	izločen
5SAU	izločen
6SPa	16,9
6SPb	16,9
6SPc	15,1
7ZS	16,8
8ZV	17,8

Med vsemi vzorci sta bila dva izločena, in sicer vzorca 4MP in 5SAU. 4MP je bil izločen zaradi motnosti, oksidiraniosti in prevelike intenzivne barve, 5SAU pa je bil izločen zaradi motnosti, neharmoničnosti in visoke kisline. Izločitev je posledica neprimernega hranjenja vin pred senzorično analizo, saj je bilo vino v plastenkah, iz katerih smo sicer iztisnili zrak, vendar očitno ne dovolj. Tudi temperatura, pri kateri so bili vzorci skladiščeni, je bila previsoka (18 °C).

Najboljšo oceno je dobil vzorec 8ZV (17,8 točk), sledi mu vzorec 2CH (17,7 točk). Oba vzorca sta kljub neprimernemu skladiščenju zadržala svoje lastnosti, predvsem zaradi visokega alkohola pri vzorcu 2CH in preostanka sladkorja pri vzorcu 8ZV. Sledita vzorca 6SPa in 6SPb, ki sta dobila enako število točk (16,9 točk). Vzorec 7ZS je dobil 16,8 točk, vzorec 1BP 16,0 točk in vzorec 3MF 15,9 točk. Najslabše je bil ocenjen vzorec 6SPc s 15,1 točkami.

Glede na ocene, ki so jih vzorci prejeli, lahko uvrstimo vzorce v dva kakovostna razreda. Vzorci 1BP, 6SPc in 3MF sodijo v kakovostni razred namizno vino PGO, saj imajo povprečno število točk med 14,1 in 16,0. V skupino kakovostnih vin ZGP pa sodijo vzorci 2CH, 6SPa, 6SPb, 7ZS in 8ZV, saj imajo povprečno število točk med 16,1 in 18,0.

5 SKLEPI

V diplomski nalogi smo poskušali s primerjalno analizo osmih vzorcev belih vin in dveh vzorcev rdečih vin ugotoviti značilne razlike v kakovostnih parametrih med belimi in rdečimi vini, med posameznimi sortami v okviru belih vin in med posameznimi sortami v okviru rdečih vin. Prav tako so nas zanimale razlike med različnimi letniki ter razlike, ki so se pojavile glede na to, v kakšni posodi je vino zrelo. Proučevali smo tudi dejanski vpliv zorenja na kvasovkah. Na osnovi opravljene raziskave smo prišli do naslednjih sklepov:

- ❖ Pri analiziranih vzorcih imajo različne sorte vina zelo značilen vpliv na fizikalno-kemijske parametre. Največje razlike so se pokazale med belimi in rdečimi vini, prav tako pa sorta analiziranih vzorcev vpliva na razlike med posameznimi sortami v okviru belih vin in med posameznimi sortami v okviru rdečih vin. Med belimi vini so se največje razlike pokazale med vzorcema 1BP in 2CH.
- ❖ Vzorec vina s preostankom sladkorja se je značilno razlikoval od ostalih vzorcev po vsebnosti hlapnih kislin, SE, relativne gostote in nekaterih hlapnih spojin.
- ❖ Vzorci se med seboj razlikujejo tudi po vsebnost aromatičnih hlapnih spojin in višjih alkoholov. Statistično značilnih razlik med posameznimi vzorci nismo opazili le v vsebnosti etil dodekanoata. Rdeča vina vsebujejo manj etilnih estrov in maščobnih kislin kot bela vina in več višjih alkoholov.
- ❖ Različna letnika analiziranih vzorcev imata značilen vpliv predvsem na vsebnost skupnih fenolov, etilnih estrov in butilnega estra. Vzorec sivega pinota starejšega letnika vsebuje več skupnih fenolov in manj etilnih estrov in butilnega estra kot vzorec mlajšega letnika.
- ❖ Posoda, v kateri je vino zrelo, ima velik vpliv na nekatere fizikalno-kemijske parametre, kot so AOP in vsebnost skupnih fenolov, saj imajo vina zorena v barrique sodih večji AOP in večjo vsebnost skupnih fenolov kot tista, ki so zorela v inox posodah.
- ❖ Na podlagi čistilnega poskusa z bentonitom ne moremo trditi, da so bili vzorci beljakovinsko stabilni, kljub zorenju na drožeh. Najbolj beljakovinsko stabilen je bil vzorec 7ZS.
- ❖ Rezultati senzorične analize sedem mesecev po vzorčenju potrjujejo, da so vina z visoko alkoholno stopnjo (2CH) in s preostankom sladkorja (8ZV) stabilnejša od ostalih kljub neprimernemu skladiščenju.

6 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti vpliv sorte, letnika in posode, v kateri je vino zorelo, na osnovne fizikalno-kemijske parametre, vsebnost aromatičnih hlapnih spojin in višjih alkoholov ter dejanski vpliv tehnologije zorenja na drožeh na kakovostne parametre vina.

Za izvedbo samega poskusa smo izbrali deset vzorcev vin različnih sort in letnikov iz vinorodnega okoliša Štajerska Slovenija, in sicer iz Ptujске kleti. Vzorcem vin smo v treh ponovitvah določili naslednje fizikalno-kemijske parametre: pH, alkohol, SE, relativno gostoto, hlapne kisline FAN, AOP, skupne fenole, intenziteto barve, vsebnost kalija, vsebnost organskih kislin, vsebnost višjih alkoholov in aromatičnih hlapnih spojin. Prav tako smo opravili mikroskopski pregled vzorcev. Po sedmih mesecih od vzorčenja smo vzorce senzorično ocenili z Bauxbaumovo metodo.

Vpliv sorte na kakovostne parametre se je pokazal pri večini fizikalno-kemijskih parametrov. Največ SE, največjo relativno gostoto, največ hlapnih kislin, največ FAN in največ kalija smo določili pri vzorcu 8ZV, kar smo tudi pričakovali, saj je to vino s preostankom prostega sladkorja in pridelano iz polovice sušenega grozdja. Največ alkohola je vseboval vzorec 2CH, najmanj pa vzorec 8ZV. Bela vina so se od rdečih razlikovala predvsem v vrednosti pH, AOP, intenziteti barve ter vsebnosti kalija in skupnih fenolov, ki so jih vsebovala bistveno več od belih vin. Med posameznima rdečima vzorcema smo opazili razlike v vrednosti AOP in vsebnosti skupnih fenolov, kjer je imel vzorec 3MF večje vrednosti od vzorca 4MP. Intenziteta barve pa je bila večja pri vzorcu 4MP. Največje razlike v fizikalno-kemijskih parametrih med belimi vini smo opazili med vzorcema 1BP in 2CH, z izjemo vzorca 8ZV. Vzorec 2CH je bil najbolj alkoholen, imel je največ SE, FAN, AOP in kalija.

Z določitvijo višjih alkoholov in hlapnih aromatičnih spojin smo prav tako opazili značilne razlike med posameznimi sortami. Rdeče sorte so vsebovale bistveno več višjih alkoholov od belih sort in manj etilnih estrov in maščobnih kislin. Med rdečima sortama je največja razlika v vsebnosti 2-feniletanola in limonena. Med belimi vini so se pokazale največje razlike v vsebnosti višjih alkoholov med vzorcema 1BP in 2CH. Vzorca 1BP in 7ZS sta izstopala po veliki vsebnosti hlapnih aromatičnih spojin, če ne upoštevamo vsebnosti etanola.

Letnik analiziranih vin sorte sivi pinot je vplival na vsebnost fizikalno-kemijskih parametrov, višjih alkoholov in hlapnih aromatičnih spojin. Vina, ki so dlje zorela na drožeh, vsebujejo več hlapnih kislin, imajo večji AOP, več skupnih fenolov, več etil acetata, izoamilalkohola, 1-propanola, furfurala, benzaldehida.

S čistilnim poskusom z bentonitom smo ugotovili, da je beljakovinsko najbolj stabilen vzorec 7ZS, saj smo beljakovinsko motnost odstranili že z dodatkom 7,5 g bentonita/hL. Najmanj beljakovinsko stabilni vzorci pa so bili 6SPa, 6SPb, 6SPc in 5SAU, saj za popolno odstranitev motnosti ni zadostovalo niti 12,5 g bentonita/hL. Pri rdečih vzorcih 3MF in 4MP nismo mogli določiti učinkovitosti čiščenja z bentonitom, saj nam je to onemogočala rdeča barva vina. Glede na rezultate čistilnega poskusa ne moremo trditi, da so bili vsi vzorci beljakovinsko stabilni, kljub zorenju na drožeh.

Z mikroskopskim pregledom vzorcev smo potrdili, da vina vsebujejo kvasne celice, razen vzorca 5SAU. Poleg celic kvasovk so nekateri vzorci vsebovali še kristale vinskega kamna, rastlinske in beljakovinske delce.

Po statistični obdelavi podatkov s PCA in LDA analizo smo ugotovili, da lahko vzorce razdelimo v tri skupine. V eni skupini sta se pojavila vzorca 3MF in 4MP (rdeči sorti), v drugi skupini se je pojavil vzorec 8ZV in v tretji skupini preostali vzorci belih vin.

S senzorično analizo nismo dobili realnih ocen vzorcev, saj je bilo ocenjevanje opravljeno sedem mesecev po vzorčenju vina pa so bila shranjena pri neustreznih pogojih. Kljub temu sta bila vzorca 2CH in 8ZV dobro ocenjena.

7 VIRI

- Adams M.J. 1998. The principles of multivariate data analysis. V: Analytical methods of food authentication. Ashurst P.R., Dennis M.J. (eds.). London, Blackie Academic & Professional: 308-336.
- Amerine M.A., Ough C.S. 1988. Methods for analyses of musts and wines. New York, John Wiley & Sons: 377 str.
- Ardö Y. 2006. Flavour formation by amino acid catabolism. *Biotechnology Advances*, 24: 238-242.
- Belitz H.D., Grosch W. 1999. Food chemistry. 2nd ed. Berlin, Springer-Verlag: 992 str.
- Bavčar D. 2009. Kletarjenje danes. 2. izd. Ljubljana, Kmečki glas: 66-183.
- Bertrand A. 2002. Utilisation des fruits de chene pour la vinification et la conservation des vines rouges. V: Vinogradi in vina za 3. tisočletje. 2. Slovenski vinogradniško – vinarski kongres z mednarodno udeležbo, Otočec, 31.1.–2. feb. 2002. Puconja M. (ur.). Ljubljana, Strokovno društvo vinogradnikov in vinarjev Slovenije, Zveza društev vinogradnikov in vinarjev Slovenije in Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo Slovenije: 317.
- Bolčina U. 2002. Vpliv tehnoloških postopkov na vsebnost mineralnih snovi belih vin. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67 str.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie/Food Science and Technology*, 28: 25-30.
- Chatonet P., Dubordieu D., Boidron J.N. 1992. Indidense des conditions de fermentation et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur composition en substances cédés per le bois de chêne. *Science des Aliments*, 12: 665-685.
- De Beer D., Joubert E., Gelderblom C.A.W., Menley M. 2005. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines and selected phenolic compounds: In vitro inhibition of microsomal lipid peroxidation. *Food Chemistry*, 90: 569-577.
- Clark A.C. 2004. Tartaric acid and the production of pigments in model wine solutions. *Australian & New Zeland Grapegrower & Winemaker*, 491: 65-68.
- Dragovan K. 2010. Vpliv zorenja in dodatka antioksidantov na kakovost belokranjskih rdečih vin. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 78 str.
- Fernandez P.A.A., de Nadra M.C.M. 2006. Growthresponse and modifications of organic nitrogen compounds in pure and mixed cultures of lactic acid bacteria from wine. *Current Microbiology*, 52: 86-91.

Garde-Cerdán T., Ancín-Azpilicueta C. 2006. Review of quality factors on wine ageing in oak barrels. *Trends in Food Science & Tehnology*, 17, 8: 438-447.

Gunde-Cimerman N. 1996. Nitaste glive. V: *Biotehnologija*. Raspor P. (ur.). Ljubljana, BIA, d.o.o.: 96-110.

Hazler V. 2007. Vinske kleti na slovenskem. Ljubljana, ČZP Kmečki Glas: 56-56.

Herbert P., Cabrita M.J., Ratola N., Laureano O., Alves A. 2005. Free amino acid and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage. *Journal of Food Enineering*, 66: 315-322.

Hrček L., Korošec-Koruza Z. 1996. Sorte in podlage vinske trte. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas, d.d.: 45-102.

Jackson R.S. 1994. *Wine science*. London, Academic Press Limited: 178-277.

Jackson R.S. 2008. *Wine science: Principles and applications*. 3rd ed. Amsterdam, Academic Press: 751 str.

Jakončič M. 2007. Zorenje vina na drožeh. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 78 str.

Košmerl T., Jakončič M. 2009. »Sur lies« tehnologija pridelave belih in rdečih vin. Permanentno podiplomsko izobraževanje s področja vinarstva za kmetijske svetovalce. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 57 str.
http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2752/Sur_lies.pdf

Jakončič M., Kralj Cigič I., Strlič M., Prosen H., Košmerl T. 2009. Vpliv podaljšanega zorenja vina na kvasovkah na vsebnost in ohranjanje hlapnih aromatičnih spojin vina. V: *Vinarski dan 2009*, Ljubljana, 16. nov. 2009. Čuš F., Marinček L. (ur.). Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije: 29-38.

Jiménez Moreno N., Ancín Azpilicueta C. 2007. Binding of oak volatile compounds by wine lees during simulation of wine ageing. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie/Food Science and Technology*, 40: 619-624.

Košmerl T., Rački M., Cigič B. 2005. Zveza med antioksidacijskim potencialom vina in vsebnostjo fenolnih spojin. V: *Slovenski kemijski dnevi 2005*, Maribor, 22. in 23. sept. 2005. Glavič P., Brodnjak-Vončina D. (ur.). Maribor, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Mariboru: 1-10.

Košmerl T. 2007a. Bistrenje, čiščenje in stabilizacija vina. Laboratorijske vaje za predmet *Tehnologija vina*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67 str.

Košmerl T. 2007b. Alkoholna fermentacija mošta: izbrana poglavja pri predmetu Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 79-88.

Košmerl T., Kač M. 2007. Osnovne kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 3. izd. Popravljen in dopolnjen. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.

Košmerl T., Wondra M. 2001. Spremljanje koncentracije prostega aminokislinskega dušika in prolina med dozorevanjem grozdja. V: Vinarski dan, Ljubljana, 7. februar 2001. Gliha S. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 70-83.

Kregar I. 1996. Kromatografske metode. V: Biotehnologija. Raspor P. (ur.). Ljubljana, BIA, d.o.o.: 610-632.

Kropf U. 2009. Elementna in izotopska sestava medu iz različnih geografskih regij Slovenije. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 54-56.

Kuljaj I. 2005. Trte in vina na Slovenskem. Ljubljana, Založba Magnolija: 208 str.

Loscos N., Hernández-Orte P., Cacho J., Ferreira V. 2009. Fate of grape flavor precursors during storage on yeast lees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 5468-5479.

Luque de Castro M.D., Pérez-Serradilla J.A. 2008. Role of lees in wine production: A review. *Food Chemistry*, 111: 447-456.

Mate S. 2008. Kinetika izločanja vinskega kamna. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 12.

Meško A., Trstenjak D., Kelemina A., Fideršek P. 2004. Vinogradništvo v ormoški okolici. Ormož, Gimnazija Ormož: 11 str.
<http://www.s-gimorm.mb.edus.si/Projektne/vinogradnistvo/splet/2.html> (25.1.2011)

Miller N.J., Rice-Evans C.A. 1997. Cinnamates hydroxbenzoates in the diet: antioxidant activity assessed using the ABTS radical cation. *British Food Journal*, 99, 2: 57-62

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 2: 211-219.

Moreno-Arribas M.V., Gómez-Cordovés C., Martín-Álvarez P.J. 2008. Evolution of red anthocyanins during malolactic fermentation, postfermentative treatments and ageing with lees. *Science direct. Food Chemistry*, 109: 149-158.

Navodilo o fizikalno kemijskih analizah mošta in vina. 2001. Uradni list Republike Slovenije, 11, 43: 4788-4806.

Nekrep F.V. 1996. Bakterije in arheje. V: Biotehnologija. Raspor P. (ur.). Ljubljana, BIA, d.o.o.: 15-50.

Nemanič J. 2005. Droži: Le fine. Vino, revija za ljubitelje vina, kulinarike in drugih užitkov, 3, 3/4: 48-49.

Nemanič J. 1996. Spoznajmo vino. Ljubljana, ČZD Kmečki Glas: 178 str.

Pravilnik o razdelitvi vinogradniškega območja v Republiki Sloveniji, absolutnih vinogradniških legah in o dovoljenih in priporočenih sortah vnske trte. 2003. Uradni list Republike Slovenije, 13, 69: 10681-10683.

Pravilnik o postopku in načinu ocenjevanja vina in drugih proizvodov iz grozdja in vina. 2000. Uradni list Republike Slovenije, 10, 32: 3857-3862.

Raspor P. 1996. Kvasovke. V: Biotehnologija. Raspor P. (ur.). Ljubljana, BIA, d.o.o.: 69-94.

Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A. 2000a. Handbook of enology. Vol. 1. The microbiology of wine and vinifications. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd.: 404 str.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2000b. Handbook of enology. Vol. 2. The chemistry of wine stabilization and treatments. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd.: 454 str.

SAS Software. 1999. Version 8.01. Cary, SAS Institute Inc: software.

Singleton V.L. 1987. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines and model systems: Observation and practical implications. American Journal of Enology and Viticulture, 38: 69-77.

Simčič Z. 1987. Vino med ljudsko modrostjo in sodobno znanostjo. Trst, Založništvo tržaškega tiska: 188 str.

Skaza T. 1994. Srednje Slovenske gorice in Haloze z obrobnim pogorjem.V: Vodnik po slovenskih vinorodnih okoliših. Prunk J. (ur.). Ljubljana, Založba Grad: 201-216.

Šikovec S. 1993. Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, ČZP Kmečki Glas: 38-91.

Vodovnik A., Vodovnik T. 1999. Nasveti za vinarje. Ljubljana, ČZP Kmečki Glas: 265 str.

Vrhovšek U. 1996. Fenoli kot antioksidanti v vinu. V: Zbornik referatov 1. slovenskega vinogradniško-vinarskega kongresa, Portorož, 4.-6. dec. 1996. Ptuj, Slovenska vinska akademija Veritas: 124-134.

Vrhovšek U., Vanzo A., Koruza B., Korošec-Koruza Z. 2002. Polifenolni potencial slovenskega rdečega grozdja. V: Vinogradi in vina za 3. tisočletje. 2. Slovenski vinogradniško – vinarski kongres z mednarodno udeležbo, Otočec, 31.1.–2.2.2002. Puconja M. (ur.). Ljubljana, Strokovno društvo vinogradnikov in vinarjev Slovenije, Zveza društev vinogradnikov in vinarjev Slovenije in Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo Slovenije: 360.

Walker G.M. 2000. Yeasts. V: Encyclopedia of microbiology. Vol. 4. 2nd ed. Lederberg J. (ed.). London, Academic Press: 939-953.

Wondra M. 2005. Zapiski s predavanj pri predmetu Enologija za študente živilske tehnologije v študijskem letu 2005/2006.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Tatjani Košmerl za stokovno pomoč pri nastanku diplomske naloge. Njeni napotki so bili nepogrešljivi.

Zahvaljujem se tudi somentorici izr. prof. dr. Heleni Prosen s Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo za pomoč pri določanju hlapnih aromatičnih spojin s plinsko kromatografijo in za napotke pri nastanku diplomske naloge.

Za pregled diplomske naloge se zahvaljujem doc. dr. Blažu Cigiću.

Za pomoč pri eksperimentalnem delu diplomske naloge se zahvaljujem Zdenki Zupančič.

Prav tako se zahvaljujem doc. dr. Lei Gašperlin za statistično obdelavo podatkov in Lini Burkan Makivić za pomoč pri iskanju in navajanju virov.

Najlepša hvala Ptujski vinski kleti in Bojanu Kobalu za vzorce vin, zorenih na drožeh.

Zahvaljujem se tudi Maticu, Andreju L. in Petru za pomoč pri oblikovanju diplomske naloge .

Posebej bi se rada zahvalila mojim staršem, sestri Jerneji, mami Faniki in Andreju, ki so spremljali moje delo ter me na moji poti finančno in moralno podpirali ter bodrili.

Hvala tudi vsem prijateljem.

PRILOGE**Priloga A: Povprečni rezultati meritev vpliva sorte na fizikalno-kemijske parametre s standardnim odklonom**

	Oznaka vzorca								
Parameter (enota)	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SP	7ZS	8ZV	z.
pH	3,26 ± 0,00e	3,38 ± 0,01cd	3,53 ± 0,00b	3,59 ± 0,00a	3,20 ± 0,00f	3,40 ± 0,05c	3,38 ± 0,00cd	3,34 ± 0,00d	***
Hlapne kisline (mg/L)	0,31 ± 0,00f	0,58 ± 0,01b	0,60 ± 0,01b	0,52 ± 0,01c	0,46 ± 0,01d	0,36 ± 0,03e	0,44 ± 0,01d	0,81 ± 0,01a	***
Relativna gostota vina	0,99124 ± 0,00d	0,99250 ± 0,00c	0,99416 ± 0,00b	0,99437 ± 0,00b	0,99139 ± 0,00d	0,99024 ± 0,00e	0,99237 ± 0,00c	1,03519 ± 0,00a	***
Alkohol (vol.%)	12,58 ± 0,03d	15,22 ± 0,04a	13,33 ± 0,01c	12,56 ± 0,01d	13,15 ± 0,07c	14,09 ± 0,36b	12,43 ± 0,06d	11,33 ± 0,03e	***
SE (g/L)	20,03 ± 0,11e	31,06 ± 0,15b	29,88 ± 0,03b	28,08 ± 0,02c	22,13 ± 0,23d	21,90 ± 1,62d	22,57 ± 0,19d	130,19 ± 1,36a	***
FAN (mg/L)	61,27 ± 2,55bc	67,37 ± 0,45b	50,80 ± 0,70bc	41,13 ± 0,45bc	61,20 ± 1,00bc	63,12 ± 25,70bc	35,70 ± 0,20c	99,30 ± 0,90a	**
AOP (mmol DPPH/L)	0,81 ± 0,04e	1,60 ± 0,08c	19,66 ± 0,98a	17,60 ± 0,88b	1,44 ± 0,07c	1,59 ± 0,41c	1,08 ± 0,05d	1,52 ± 0,08c	***
Skupni fenoli (mg/L)	239 ± 12e	375 ± 19cd	2400 ± 120a	2267 ± 113b	399 ± 20cd	359 ± 70d	243 ± 12e	483 ± 24c	***
Intenziteta barve	0,10 ± 0,01d	0,18 ± 0,01d	6,97 ± 0,35b	8,14 ± 0,41a	0,43 ± 0,02cd	0,37 ± 0,20cd	0,14 ± 0,01d	0,66 ± 0,03c	***
Kalij (mg/L)	980 ± 49d	1345 ± 67b	1185 ± 59dbc	1365 ± 68b	1100 ± 55dc	1053 ± 192dc	1259 ± 63bc	1730 ± 87a	***

*** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv; ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv; * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv.

a, b, c, d, e, f, g, h sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Priloga B: Povprečni rezultati meritev vpliva sorte na fizikalno-kemijske parametre s standardnim odklonom (mg/L)

	Oznaka vzorca								
Spojina (mg/L)	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SP	7ZS	8ZV	z.
acetaldehid	27,03±1,35dc	35,60±1,80bc	21,00±1,00d	22,50±1,10d	0,00±0,00e	23,87±9,71d	37,30±1,90b	55,20±2,80a	***
etil acetat	12,50±0,60cb	6,60±0,30c	28,60±1,40a	36,60±1,80a	28,30±1,40a	31,30±14,45a	26,10±1,30ab	0,00±0,00c	***
metanol	57,03±2,85e	66,20±3,30de	186,63±9,35a	148,70±7,40b	75,70±3,80d	77,80±14,19d	97,90±4,90c	112,40±5,60c	***
1-propanol	40,90±2,00ab	39,20±2,00ab	27,20±1,40c	23,60±1,20c	33,50±1,70cb	40,57±10,53ab	48,90±2,40a	40,60±2,00ab	**
izobutanol	8,40±0,40b	13,80±0,70b	57,80±2,90a	60,20±3,00a	13,30±0,70b	15,47±6,79b	7,90±0,40b	13,80±0,70b	***
izoamil acetat	1,20±0,10ab	1,30±0,10ab	1,20±0,10ab	1,00±0,00ab	1,30±0,10ab	1,53±0,73a	1,80±0,10a	0,70±0,00b	nz
izoamilalkohol	175±9d	200±10c	409±20b	454±23a	188±9cd	172±13d	173±9d	143±7e	***
2-feniletil acetat	0,00±0,00c	0,00±0,00c	0,70±0,00b	0,00±0,00c	1,70±0,10a	0,00±0,00c	0,00±0,00c	0,00±0,00c	***
2-feniletanol	7,80±0,40f	14,70±0,70c	24,70±1,20b	31,10±1,60a	9,30±0,50fde	10,63±1,59de	11,03±0,55d	8,90±0,40fe	***

*** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv; ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv; * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; nz $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv.

a, b, c, d, e, f, g, h sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Priloga C: Povprečni rezultati meritev vpliva sorte na hlapne aromatične spojine s standardnim odklonom (ploščina kromatografskega vrha/10⁶)

Spojina (ploščina kromatografskega vrha/10 ⁶)	Oznaka vzorca								z.
	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SP	7ZS	8ZV	
etanol	1810 ± 91c	2445 ± 122b	4293 ± 215a	4622 ± 231a	1953 ± 98c	2244 ± 388bc	4621 ± 231a	2627 ± 131b	***
etil acetat	113 ± 6cb	95 ± 5d	134 ± 7a	99 ± 5cd	107 ± 5cd	113 ± 13cb	124 ± 6ab	8 ± 0e	***
3-metilbutanol-	186 ± 9b	178 ± 9b	408 ± 20a	426 ± 21a	180 ± 9b	145 ± 20c	165 ± 8bc	148 ± 7c	***
2,3-butandiol	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	11,00 ± 1,00b	13,00 ± 1,00a	11,00 ± 1,00b	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	***
2-hidroksi etil propanoat	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	33,67 ± 7,57a	38,00 ± 2,00a	0,00 ± 0,00b	6,67 ± 10,01b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	***
3-metilbutil acetat	448 ± 22a	191 ± 10dc	22 ± 1e	22 ± 1e	302 ± 15cb	272 ± 107dcb	375 ± 19ab	183 ± 9d	***
furfural	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	13,00 ± 1,00a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	14,33 ± 21,52a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	nz
heksanojska kislina	10,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00e	5,00 ± 0,00d	0,00 ± 0,00e	9,00 ± 0,00b	6,67 ± 0,50c	10,00 ± 0,00a	9,00 ± 0,00b	***
etil heksanoat	323 ± 16a	266 ± 21b	119 ± 6e	92 ± 5f	274 ± 14b	239 ± 17c	217 ± 11c	185 ± 9d	***
heksil acetat	134 ± 7cab	44 ± 2de	7 ± 0e	6 ± 0e	154 ± 8ab	102 ± 66cdb	188 ± 9a	73 ± 4cde	***
benzaldehyd	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	31,00 ± 1,00a	12,00 ± 1,00b	0,00 ± 0,00c	4,67 ± 7,02c	0,00 ± 0,00c	12,00 ± 1,00b	***
oktanojska kislina	91,0 ± 5,0a	49,0 ± 2,0c	17,0 ± 1,0e	14,0 ± 1,0e	59,0 ± 3,0b	40,7 ± 2,2d	90,0 ± 4,0a	46,0 ± 2,0c	***
feniletanol	24,0 ± 1,0d	27,0 ± 1,0d	88,0 ± 4,0b	123,0 ± 6,0a	23,0 ± 1,0d	24,7 ± 2,0d	35,0 ± 2,0c	33,0 ± 2,0c	***
etil oktanoat	1981 ± 99a	1801 ± 90b	670 ± 34f	536 ± 27g	1741 ± 87bc	1625 ± 84c	1499 ± 75d	1107 ± 55e	***
dietil butanedionat	0,00 ± 0,00c	6,00 ± 0,00c	69,00 ± 3,00b	96,00 ± 5,00a	0,00 ± 0,00c	8,00 ± 12,01c	0,00 ± 0,00c	8,00 ± 0,00c	***
2-feniletil acetat	56,0 ± 3,0b	34,0 ± 2,0c	7,0 ± 0,0d	0,0 ± 0,0d	37,0 ± 2,0c	34,7 ± 15,0c	83,0 ± 4,0a	34,0 ± 2,0c	***

Se nadaljuje

Nadaljevanje priloge C: Povprečni rezultati meritev vpliva sorte analiziranih vzorcev na hlapne aromatične spojine s standardnim odklonom (ploščina kromatografskega vrha/ 10^6)

	Oznaka vzorca								
Spojina (ploščina kromatografskega vrha/ 10^6)	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SP	7ZS	8ZV	z.
etil dodekanoat	114 ± 6a	66 ± 3ab	19 ± 1b	15 ± 1b	16 ± 1b	104 ± 80ab	72 ± 4ab	99 ± 5ab	*
etil butanoat	13,0 ± 1,0a	11,0 ± 1,0a	0,0 ± 0,0b	0,0 ± 0,0b	0,0 ± 0,0b	13,0 ± 2,7a	2,0 ± 0,0b	12,0 ± 1,0a	***
limonen	0,00 ± 0,00c	9,00 ± 0,00b	6,00 ± 0,00b	6,00 ± 0,00b	78,00 ± 4,00a	2,00 ± 3,00c	0,00 ± 0,00c	7,00 ± 0,00b	***
3-metil pentadekanoat	0,00 ± 0,00c	3,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	4,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	3,00 ± 0,00b	***
1-heksanol	9,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00c	23,00 ± 1,00a	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	8,33 ± 6,42b	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	***
etil heksadekanoate	20,0 ± 1,0c	40,0 ± 2,0a	0,0 ± 0,0d	0,0 ± 0,0d	29,0 ± 1,0b	20,3 ± 7,9c	23,0 ± 1,0bc	28,0 ± 1,0bc	***
2,6-dimetil-2,6-oktadien,	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	3,00 ± 0,00b	8,00 ± 0,00a	***
3-metilbutil oktanoat	0,00 ± 0,00d	0,00 ± 0,00d	9,00 ± 0,00a	7,00 ± 0,00ab	0,00 ± 0,00d	3,00 ± 2,29c	0,00 ± 0,00d	5,00 ± 0,00cb	***
stiren	0,00 ± 0,00c	5,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	11,00 ± 1,00a	***
pentanojska kislina	0,00 ± 0,00b	8,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	***
5-metil-2- furanokarboksaldehid	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	6,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	2,33 ± 3,50b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	*
1-butanol	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	16,00 ± 1,00a	***
3,7-dimetil -1,6- oktadien-3-ol	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	32,00 ± 2,00a	***

***p≤0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; **p≤0,01 statistično visoko značilen vpliv; *p≤0,05 statistično značilen vpliv; nz p>0,05 statistično neznačilen vpliv.

a, b, c, d, e, f, g, h sorte z enako črko se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Priloga D: Povprečni rezultati hlapnih aromatičnih spojin z novim vlaknom (ploščina kromatografskega vrha/10⁶)

Spojina (ploščina kromatografskega vrha/10 ⁶)	Oznaka vzorca									
	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SPa	6SPb	6SPc	7ZS	8ZV
etanol	1811	2445	4294	4622	1953	2352	2613	1766	4622	2628
etil acetat	113	95	134	99	107	130	108	103	124	9
3-metil-1-butanol	186	178	408	426	180	172	132	133	165	148
2,3-butandiol			11	13	12					
2-hidroksi etil propanoat			37	38		20				
3-metilbutil acetat	448	191	22	22	302	136	373	308	375	183
furfural			13			42				
heksanojska kislina	11		54		9	6	7	7	11	9
etil heksanoat	323	270	119	92	275	236	227	257	217	185
heksil acetat	134	44	7	6	154	31	93	182	188	73
benzaldehyd			31	12		15				12
oktanojska kislina	91	49	17	15	59	41	39	42	90	46
feniletanol	24	27	88	123	23	27	23	24	35	33
etil okatanoat	1981	1801	670	536	1741	1675	1570	1630	1499	1107
dietil butanedionat		6	69	96		24				8
2-feniletal acetat	56	34	7		37	16	38	50	83	34
etil dekanat	1329	1157	230	185	1210	780	917	1269	997	900
etil dodekanat	114	66	19	15	16	51	50	211	72	99
etil butanoat	13	11				10	16	13	2	12
limonen		9	6	6	78	7				7
3-metilbutil pentadekanat		3			4					3
1-heksanol	9		23			11		14		
etil heksanoat	20	40			29	10	27	24	23	28
2,6-dimetil-2,6-oktadien									3	8
3-metilbutil oktanoat			9	7			4	5		5
stiren		5								11

Priloga E: Povprečni rezultati meritev hlapnih aromatičnih spojin s starim vlaknom (ploščina kromatografskega vrha/10⁶)

	Sorta								
Spojina (ploščina vrha/10 ⁶)	1BP	2CH	3MF	4MP	5SAU	6SPb	6SPc	7ZS	8ZV
etanol	1678	3316	3150	2861	5102	2787	2375	1686	2284
etil acetat	90	77	15	80	96	105	98	110	14
3-metilbutil butanol	113	115	336	312	148	128	117	143	138
2,3-butandiol	0	0	0	0	0	0	0	8	0
2-hidroksietil propanoat	0	0	0	24	0	0	0	0	0
metoksifeniloxim	0	0	15	17	0	0	0	0	11
3-metilbutil acetat	318	136	17	15	228	329	264	350	174
furfural	0	6	13	0	0	0	0	0	0
benzaldehyd	0	0	0	11	0	0	0	0	0
heksanojska kislina	8	0	0	0	8	5	6	5	6
etil heksanoat	240	199	95	69	210	192	215	201	165
heksil acetat	100	34	5	5	115	79	149	171	64
benzaldehyd	0	0	31	0	0	0	0	0	12
oktanojska kislina	92	61	12	11	59	38	33	56	33
feniletanol	25	27	85	112	25	2	21	33	29
etil oktanoat	1811	1620	637	493	1625	1457	1509	1436	1070
dietil butanedionat	0	5	60	79	0	0	0	0	6
1-fenoksipropen-2-ol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-feniletal acetat	54	36	7	6	41	47	51	81	33
etil dekanat	1396	1235	254	201	1343	987	1304	1040	927
etil dodekanat	127	77	17	14	228	61	223	62	101
etil butanoat	10	0	0	0	11	13	11	0	0
limonen	0	6	5	0	6	0	0	0	6
3-metil pentadekanat	4	4	0	0	5	0	0	3	4
1-heksanol	0	0	0	0	0	0	11	7	0
etil heksanoat	17	14	14	0	0	0	8	10	0
3-metilbutil oktanoat	7	7	5	3	0	0	0	0	5

Priloga F: Ocene posameznih ocenjevalcev senzorične analize po Bauxbaumovi metodi

	Ocenjevalci											
Oznaka vzorca	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K	L	povprečje
1BP	16,8	16,1	16,4	17,1	16,0	14,6	15,8	16,3	15,3	16,2	16,3	16,0
2CH	17,5	17,8	18,3	18,2	18,2	17,6	17,5	17,3	17,9	17,9	17,8	17,7
3MF	15,5	16,6	15,5	15,5	14,5	17,3	16,5	15,1	15,5	18,2	15,8	15,9
4MP	14,0	14,1	14,5	15,0	10,5	11,4	izločen	izločen	izločen	izločen	izločen	izločen
5SAU	15,5	15,8	14,0	16,0	15,9	izločen	izločen	izločen	izločen	izločen	izločen	izločen
6SPa	16,5	16,9	16,5	18,0	16,9	17,5	16,8	16,3	16,8	17,0	16,8	16,9
6SPb	16,5	17,1	16,3	17,5	17,2	17,1	17,3	15,8	16,8	17,0	17,2	16,9
6SPc	15,5	15,7	13,0	16,9	17,0	14,7	14,0	13,9	14,7	16,5	14,2	15,1
7ZS	17,0	17,0	16,8	17,8	16,5	15,8	16,9	16,5	16,8	16,2	17,3	16,8
8ZV	17,8	17,9	18,3	17,3	18,5	18,1	17,8	16,8	17,8	18,0	17,8	17,8



Priloga G: Mikroskopska slika vzorca 6SPa pri 100-kratni povečavi, kvasne celice in rastlinski delec



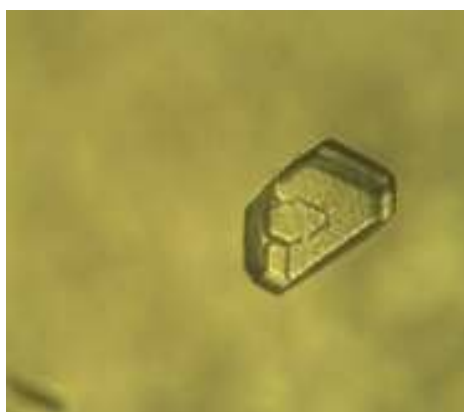
Priloga H: Mikroskopska slika vzorca 6SPa pri 400-kratni povečavi, kvasne celice in rastlinski delec



Priloga I: Mikroskopska slika vzorca 6SPb pri 400-kratni povečavi, kvasne celice in beljakovina



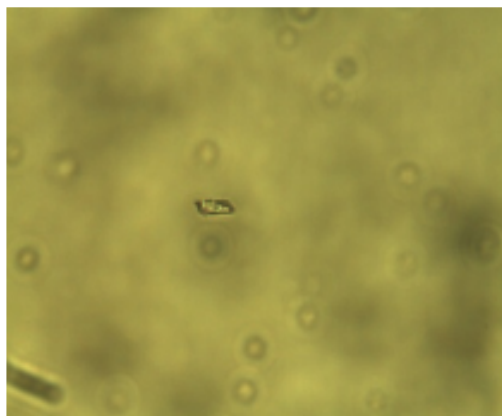
Priloga J: Mikroskopska slika vzorca 5SAU pri 100-kratni povečavi, plavajoči delec beljakovinskega ali rastlinskega izvora



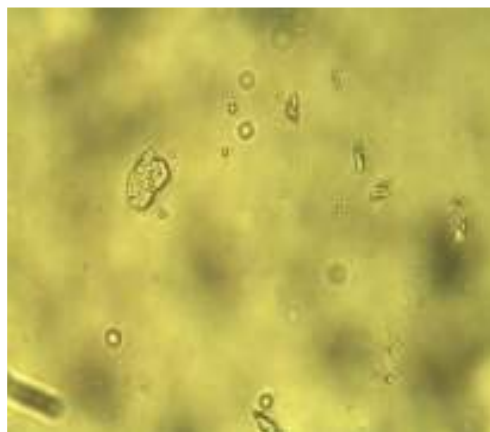
Priloga K: Mikroskopska slika vzorca 5SAU pri 400-kratni povečavi, kristal vinskega kamna



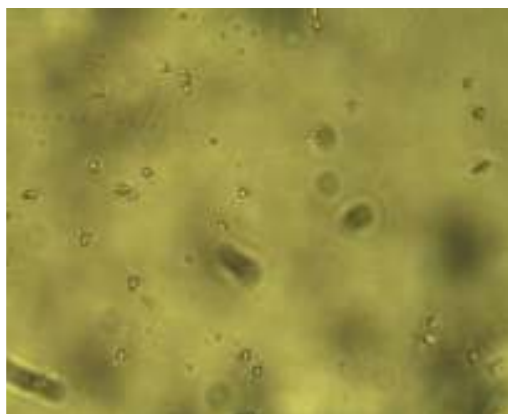
Priloga L: Mikroskopska slika usedline vzorca 6SPc pri 400-kratni povečavi, kvasne celice in kristal vinskega kamna



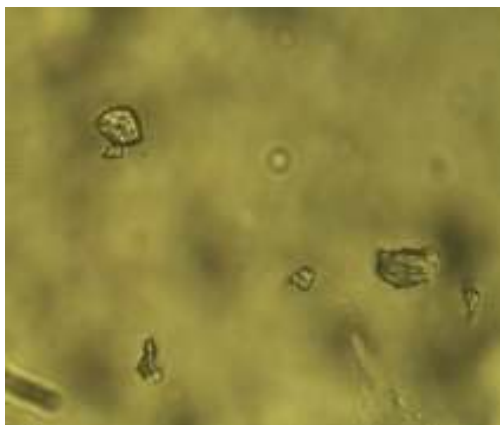
Priloga M: Mikroskopska slika usedline vzorca 7ZS pri 400-kratni povečavi, celice kvasovk in kristal vinskega kamna



Priloga N: Mikroskopska slika usedline vzorca 1BP pri 400-kratni povečavi, celice kvasovk in kristal vinskega kamna



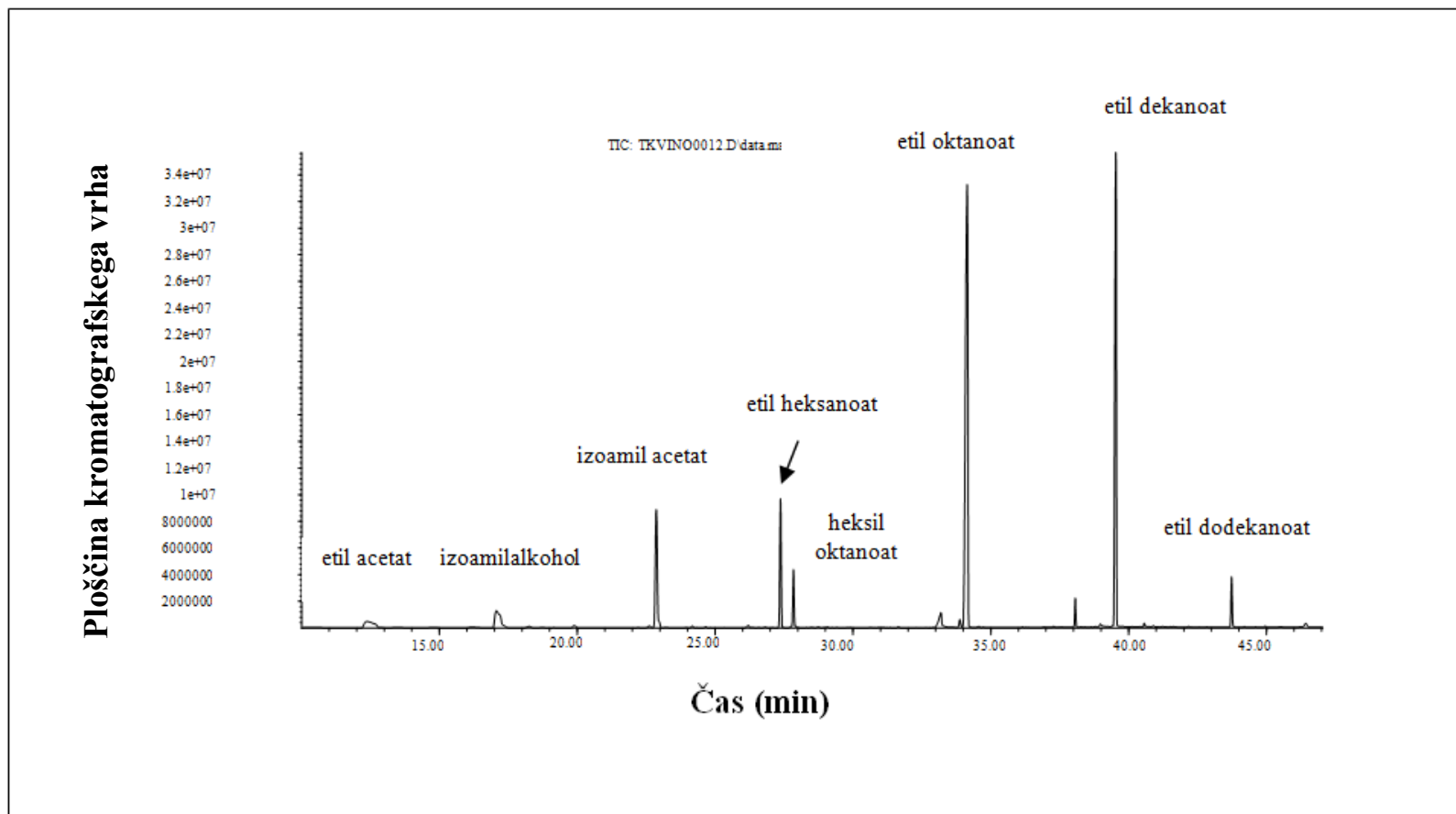
Priloga O: Mikroskopska slika usedline vzorca 8ZV pri 400-kratni povečavi, celice kvasovk



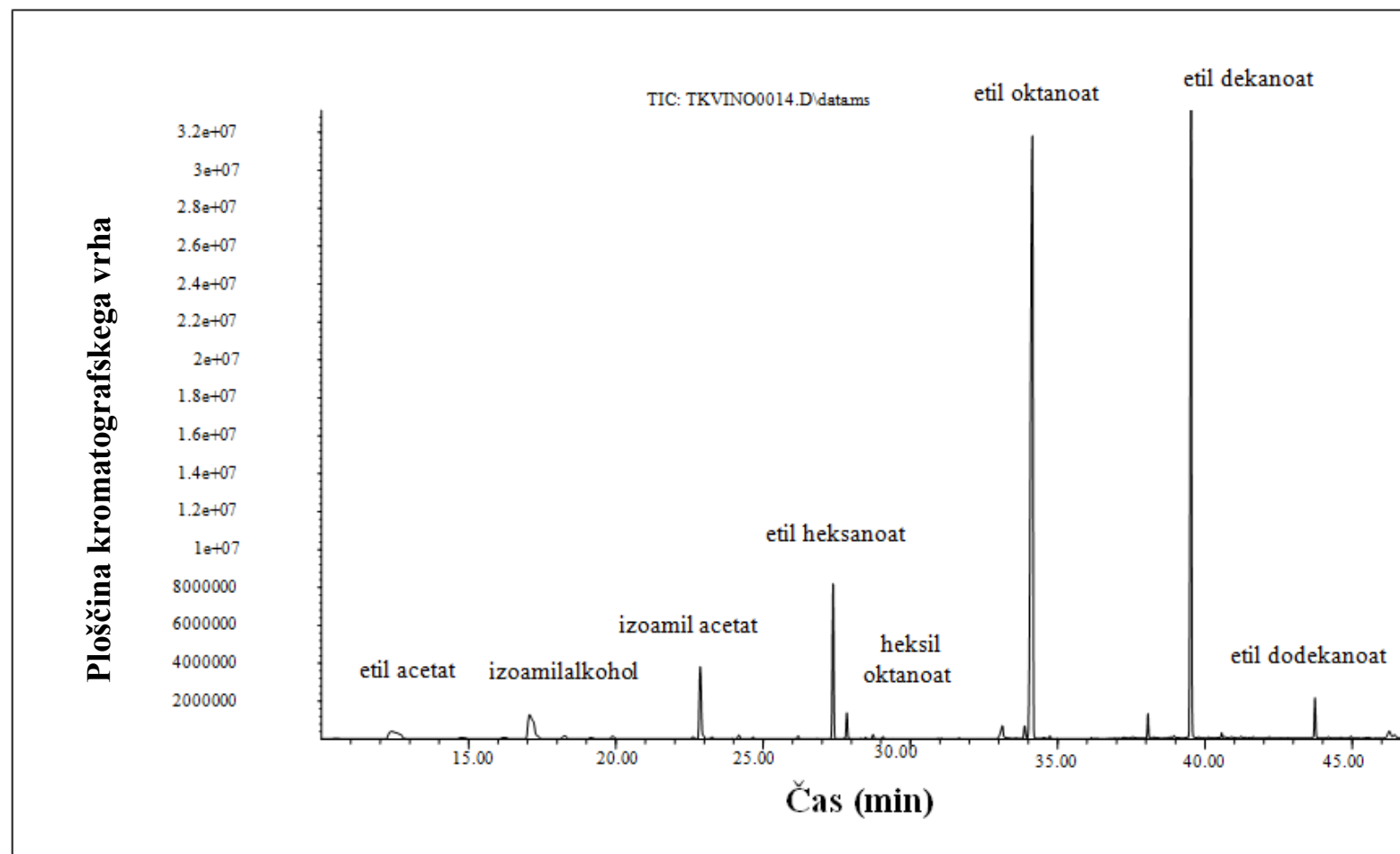
Priloga P: Mikroskopska slika usedline vzorca 3MF pri 400-kratni povečavi, kristal vinskega kamna, celice kvasovk



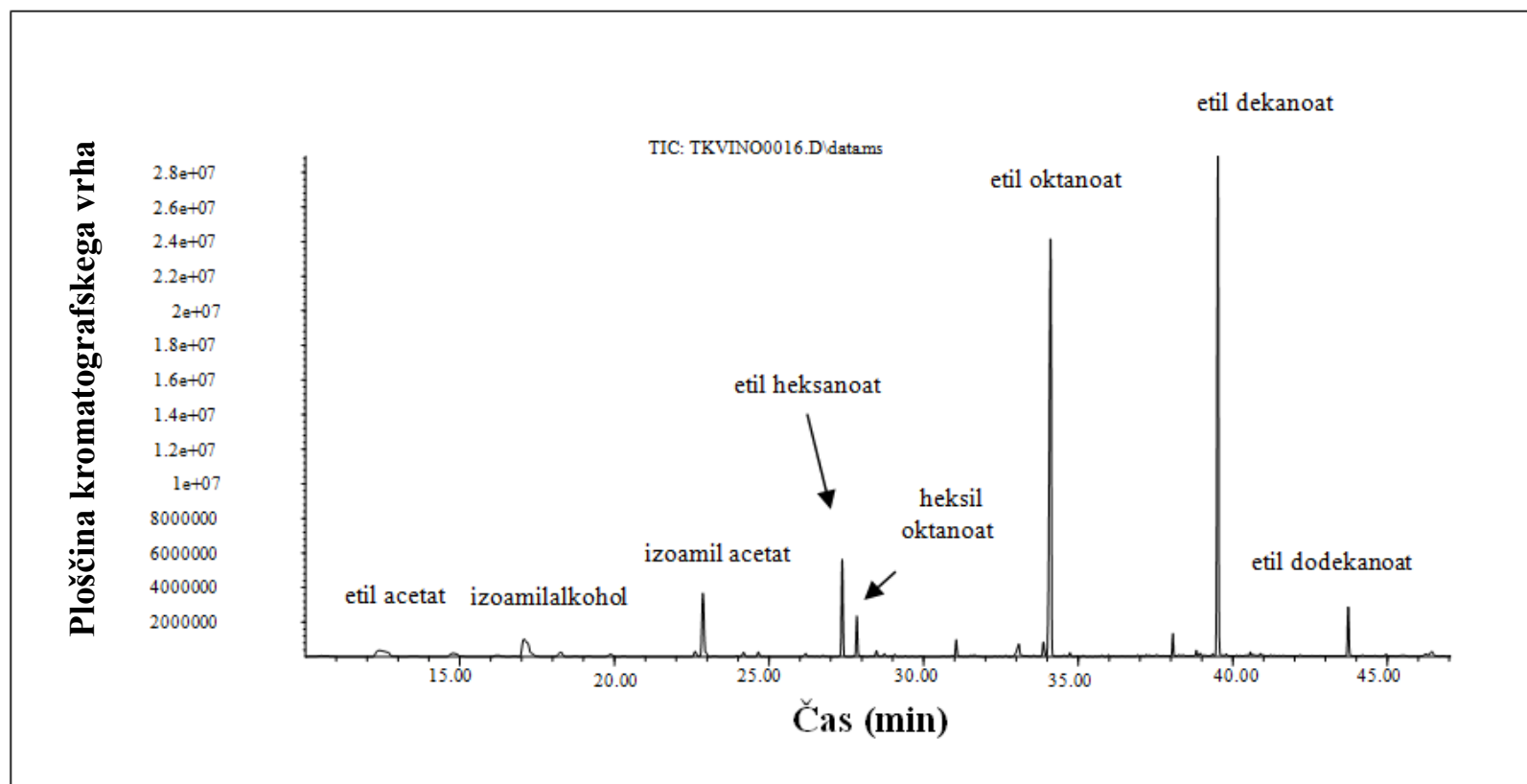
Priloga Q: Mikroskopska slika usedline vzorca 4MP pri 400-kratni povečavi, celice kvasovk in plavajoči delec beljakovinskega ali rastlinskega izvora



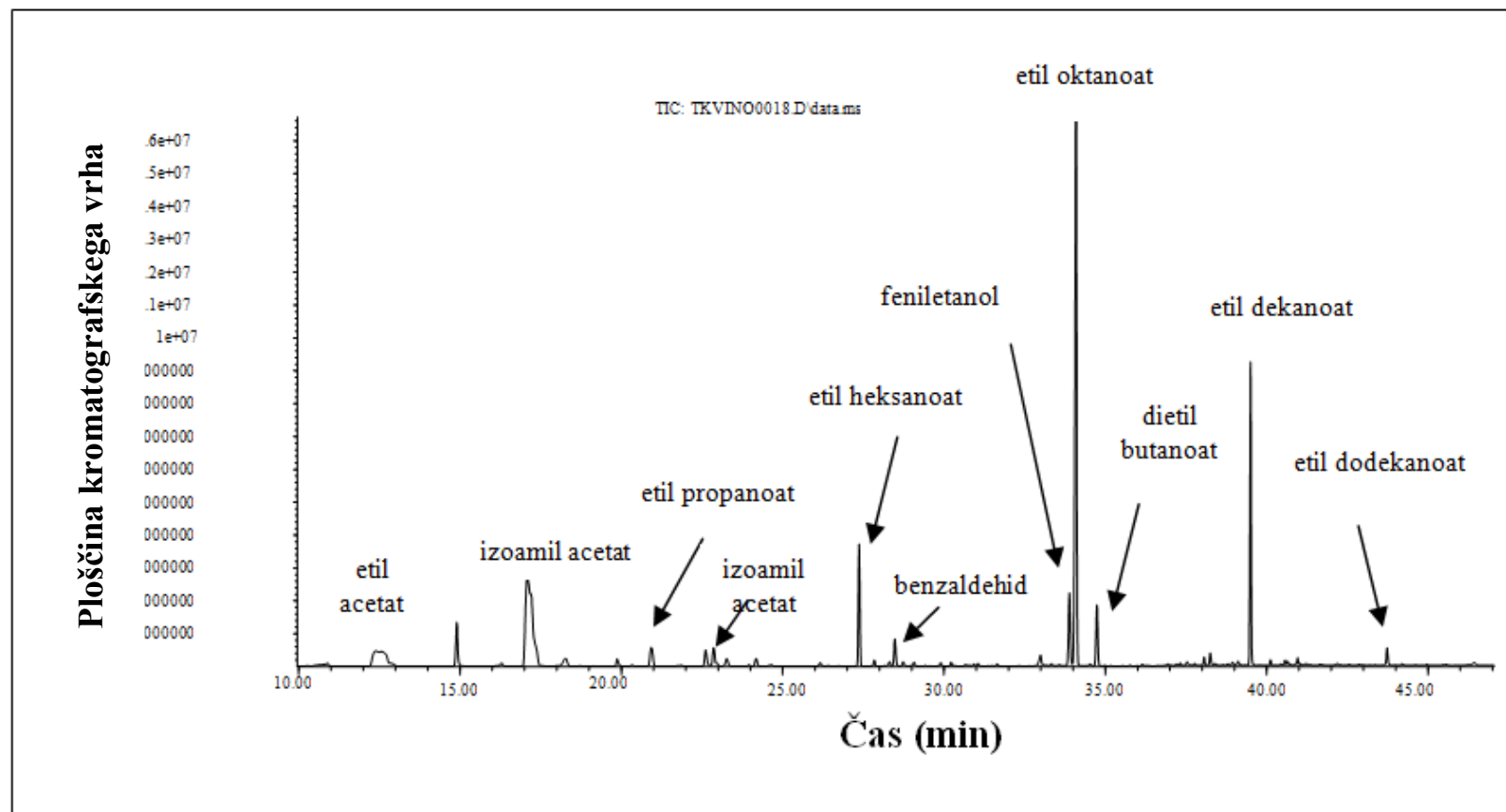
Priloga R: Kromatogram za vzorec 1BP



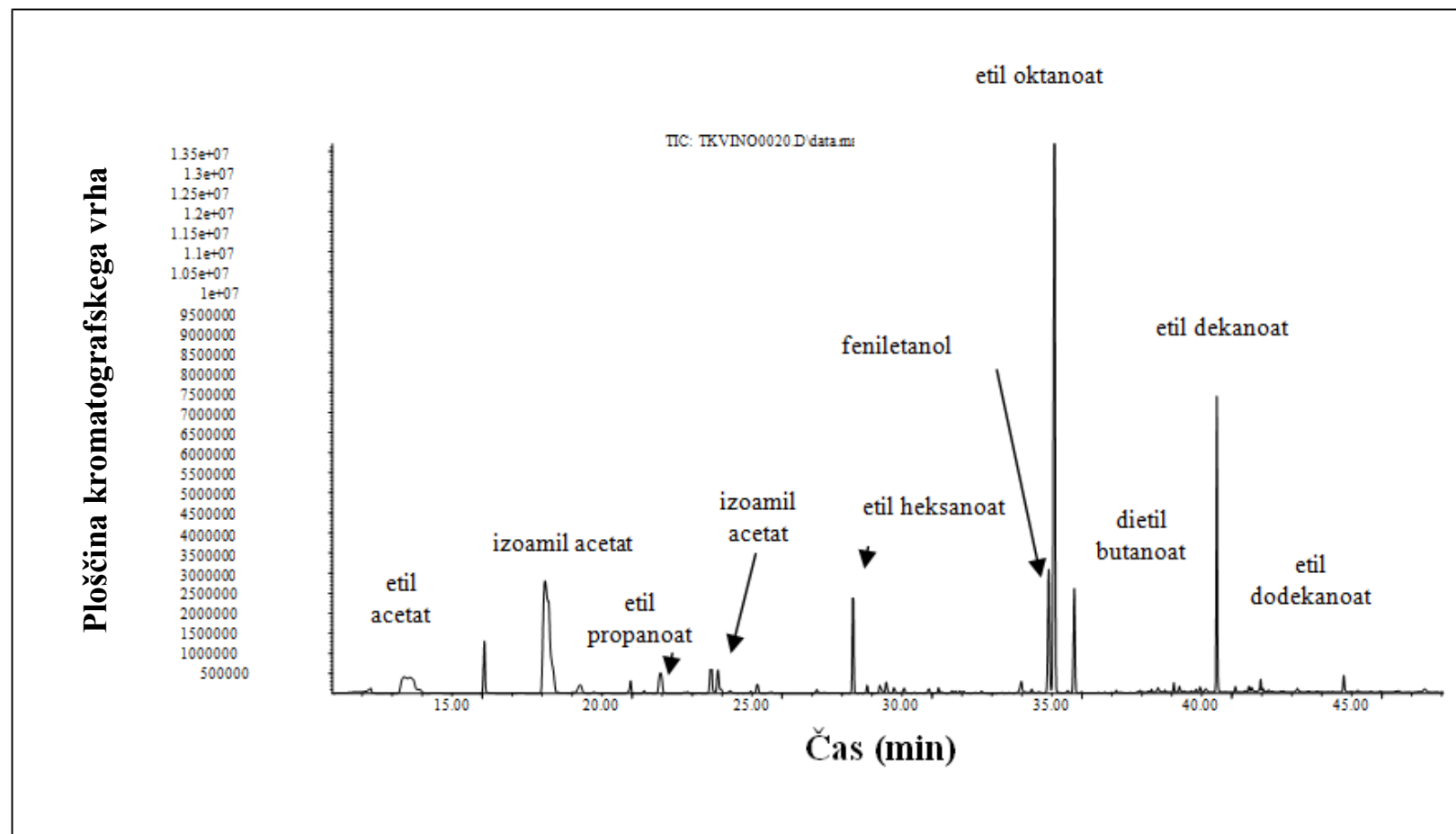
Priloga S: Kromatogram za vzorec 2CH



Priloga T: Kromatogram za vzorec 8ZV



Priloga U: Kromatogram za vzorec 3MF



Priloga V: Kromatogram za vzorec 4MP