

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Jasmina KNAP

**VPLIV LOKACIJE VINOGRADA NA FENOLNO IN
TEHNOLOŠKO ZRELOST GROZDJA SORTE
'REFOŠK' IN 'CABERNET SAUVIGNON'**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Jasmina KNAP

**VPLIV LOKACIJE VINOGRADA NA FENOLNO IN TEHNOLOŠKO
ZRELOST GROZDJA SORTE 'REFOŠK' IN 'CABERNET
SAUVIGNON'**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**IMPACT OF THE VINEYARD SITE ON PHENOLIC AND
TECHNOLOGICAL MATURITY OF GRAPE VARIETIES 'REFOŠK'
AND 'CABERNET SAUVIGNON'**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Diplomsko delo je bilo opravljeno na Kmetijsko gozdarskem zavodu Nova Gorica in v laboratorijih 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 dr. Tjaša Jug in za recenzentko prof. dr. Lea Demšar.

Mentorica: prof. dr. Tatjana Košmerl

Somentorica: dr. Tjaša Jug

Recenzentka: prof. dr. Lea Demšar

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Član:

Datum zagovora: 30. september 2016

Podpisana izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačano, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Jasmina Knap

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
DK UDK 634.8.047(497.4):631.547.66:551.582(043)=163.6
KG grozdje/'Refošk'/'Cabernet Sauvignon'/vinorodni okoliš Slovenska Istra/klima/
vremenske razmere/tehnološka zrelost/fenolna zrelost
AV KNAP, Jasmina
SA KOŠMERL, Tatjana (mentorica)/JUG, Tjaša (somentorica)/DEMŠAR, Lea
(recenzentka)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2016
IN VPLIV LOKACIJE VINOGRADA NA FENOLNO IN TEHNOLOŠKO
ZRELOST GROZDJA SORTE 'REFOŠK' IN 'CABERNET SAUVIGNON'
TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP X, 43 str., 13 pregl., 1 sl., 29 vir.
IJ sl
JI sl
AI Namen diplomskega dela je ugotoviti, kako se spreminjajo parametri fenolne in
tehnološke zrelosti med dozorevanjem grozdja žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera L.*)
izbranih sort 'Refošk' in 'Cabernet Sauvignon' ter kakšen vpliv ima lega vinogradov
na proučevane parametre. V okviru fenolne zrelosti so nas zanimale koncentracije
celokupnih in ekstrabilnih antocianov ter razmerja med njimi, polifenolni potencial
in delež taninov v pečkah. Parametri tehnološke zrelosti so okarakterizirani s
sladkorno stopnjo, vrednostjo pH, relativno gostoto, skupnimi kislinami, jabolčno
in vinsko kislino, izračunali pa smo tudi zrelostni faktor. Poskus je potekal v letniku
2013 na 17 lokacijah vinogradov v vinorodnem okolišu Slovenska Istra, kjer sta
posajeni proučevani sorti. Rezultate smo statistično ovrednotili. Lokacije
vinogradov so se izkazale kot ključen dejavnik zrelosti, saj so v okviru posamezne
sorte istega letnika značilne razlike glede na lokacijo vinograda. Ugotovili smo, da
vinorodna lega sorte grozdja 'Cabernet Sauvignon' statistično zelo visoko značilno
vpliva na šest parametrov fenolne zrelosti, in sicer na koncentracijo celokupnih
antocianov, koncentracijo ekstrabilnih antocianov ter na razmerje med njimi, delež
taninov v pečkah in polifenolni potencial. Vinorodna lega sorte grozdja 'Refošk' pa
poleg teh parametrov statistično zelo visoko značilno vpliva tudi na trpkost taninov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 634.8.047(497.4):631.547.66:551.582(043)=163.6
- CX grapes/'Refošk'/'Cabernet Sauvignon'/Slovenska Istra winegrowing district/climate/
weather conditions/technological maturity/phenolic maturity
- AU KNAP, Jasmina
- AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/JUG, Tjaša (co-advisor)/DEMŠAR, Lea
(reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and
Technology
- PY 2016
- TI IMPACT OF THE VINEYARD SITE ON PHENOLIC AND TECHNOLOGICAL
MATURITY OF GRAPE VARIETIES 'REFOŠK' AND 'CABERNET
SAUVIGNON'
- DT Graduation Thesis (University Studies)
- NO X, 43 p., 13 tab., 1 fig., 29 ref.
- LA sl
- Al sl/en
- AB The purpose of the thesis was to determine how different parameters of phenolic and technological maturities are changing during the ripening of grape varieties (*Vitis vinifera L.*) 'Refošk' and 'Cabernet Sauvignon' and the impact of the vineyard site on the studied parameters. Within the frame of phenolic maturity we were interested in the concentration of total anthocyanins and extractable anthocyanins and the relationship between them, polyphenolic potential and the proportion of tannins in the grape seeds. Parameters of technological maturity are characterized by the sugar content, pH value, relative density, total acidity, malic acid and tartaric acid, we also calculated the maturity factor. The experiment took place in the vintage year 2013 in the 17 vineyard sites in the wine-growing region Slovenska Istra, where the studied varieties are planted. The results were statistically evaluated. Vineyard site has been established as an important factor of maturity, because of characteristic differences found in different grape varieties of the same vintage year depending on the location of the vineyard. We found out that the vineyard site of 'Cabernet Sauvignon' statistically highly affects six parameters of phenolic maturity, namely the concentration of total and extractable anthocyanins, the extraction potential of anthocyanins, the proportion of tannins in grape seeds and phenolic potential. Vineyard site of 'Refošk' statistically highly affects these same parameters and also the astringency of tannins.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 SESTAVA GROZDJA	2
2.1.1 Grozdni pecelj	2
2.1.2 Grozдна jagoda	3
2.1.2.1 Jagodna kožica	3
2.1.2.2 Jagodno meso	4
2.1.2.3 Pečke	5
2.2 FENOFAZE RAZVOJA VINSKE TRTE V RASTNI DOBI	6
2.2.1 Stopnje rasti grozdne jagode	6
2.2.1.1 Razvoj med prvo fazo rasti – hitra faza rasti	6
2.2.1.2 Razvoj med drugo fazo rasti – faza počasne rasti (lag faza)	7
2.2.1.3 Razvoj med tretjo fazo rasti – faza hitre rasti oziroma sortno značilnega obarvanja jagod (faza veraison)	7
2.2.2 Spremembe v grozdju med dozorevanjem	7
2.2.2.1 Sladkorji	8
2.2.2.2 Kisline	8
2.2.2.3 Minerali	8
2.2.2.4 Dušikove spojine	9
2.2.2.5 Pektinske snovi	9
2.2.2.6 Fenolne spojine	9
2.2.2.7 Aromatske spojine	10
2.2.2.8 Lipidi	10
2.3 ZRELOST GROZDJA	10
2.4 VPLIVI NA DOZOREVANJE GROZDJA	11

2.4.1	Pridelek	12
2.4.2	Sončna svetloba	12
2.4.3	Temperatura	12
2.4.4	Padavine in vetrovi	13
2.5	PODNEBJE VINORODNEGA OKOLIŠA SLOVENSKE ISTRE	14
2.6	SORTA 'REFOŠK'	15
2.6.1	Splošne značilnosti sorte 'Refošk'	15
2.6.2	Botanične lastnosti sorte 'Refošk'	15
2.6.3	Agrobiotične značilnosti sorte 'Refošk'	15
2.6.4	Tehnološke značilnosti sorte 'Refošk'	15
2.7	SORTA 'CABERNET SAUVIGNON'	16
2.7.1	Splošne značilnosti sorte 'Cabernet Sauvignon'	16
2.7.2	Botanične lastnosti sorte 'Cabernet Sauvignon'	16
2.7.3	Agrobiotične značilnosti sorte 'Cabernet Sauvignon'	16
2.7.4	Tehnološke značilnosti sorte 'Cabernet Sauvignon'	16
3	MATERIAL IN METODE	17
3.1	MATERIAL	17
3.1.1	Vzorci grozdja	17
3.1.2	Reagenti in priprava raztopin	17
3.1.3	Določanje osnovne kemijske sestave grozdja z infrardečim spektrometrom (Winescan FT 120, Foss, Danska)	18
3.2	METODE	18
3.2.1	Določanje parametrov tehnološke zrelosti grozdja	18
3.2.2	Določanje parametrov fenolne zrelosti grozdja	19
3.2.2.1	Priprava vzorca za analizo in postopek ekstrakcije.....	19
3.2.2.2	Določanje vsebnosti skupnih antocianov	20
3.2.2.3	Določanje polifenolnega potenciala (RPT).....	21
3.2.2.4	Določitev zrelosti pečk.....	21
3.2.2.5	Določitev indeksa želatine	21
3.2.2.6	Določitev deleža taninov	21
3.2.3	Statistična analiza	22
4	REZULTATI	23
4.1	VREMENSKE RAZMERE V OBDOBJU TRAJANJA RAZISKAVE	23
4.2	DOLOČANJE PARAMETROV TEHNOLOŠKE ZRELOSTI GROZDJA	27
4.2.1	Rezultati tehnološke zrelosti grozdja sorte 'Cabernet Sauvignon'	27

4.2.2	Rezultati tehnološke zrelosti grozdja sorte 'Refošk'	28
4.3	DOLOČANJE PARAMETROV FENOLNE ZRELOSTI GROZDJA	29
4.3.1	Rezultati fenolne zrelosti grozdja 'Cabernet Sauvignon'	29
4.3.2	Rezultati fenolne zrelosti grozdja 'Refošk'	30
4.4	REZULTATI MULTIVARIATNE ANALIZE	31
5	SKLEPI	36
6	POVZETEK	38
7	VIRI	41

ZAHVALA

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Lokacije vzorčenih vinogradov leta 2013 in oznake grozdja	17
Preglednica 2: Vremenske razmere leta 2012 na glavni meteorološki postaji Portorož – Letališče (ARSO, 2016)	24
Preglednica 3: Vremenske razmere leta 2013 na glavni meteorološki postaji Portorož – Letališče (ARSO, 2016)	24
Preglednica 4: Vremenske razmere leta 2014 na glavni meteorološki postaji Portorož – Letališče (ARSO, 2016)	25
Preglednica 5: Primerjava količine padavin med leti 2012, 2013, 2014 na glavni meteorološki postaji Portorož – Letališče (ARSO, 2016)	25
Preglednica 6: Primerjava količine padavin leta 2013 v Seči in Strunjanu (ARSO, 2016)	26
Preglednica 7: Primerjava količine padavin med leti 2012, 2013, 2014 v Seči in Strunjanu (ARSO, 2016)	26
Preglednica 8: Razlike v osnovni kemijski sestavi, vrednosti pH grozdja treh 'Cabernet Sauvignon' iz različnih vinorodnih leg v letniku 2013	27
Preglednica 9: Razlike v osnovni kemijski sestavi, vrednosti pH grozdja treh 'Refošk' iz različnih vinorodnih leg v letniku 2013	28
Preglednica 10: Razlike v fenolni sestavi grozdja treh 'Cabernet Sauvignon' iz različnih vinorodnih leg v letniku 2013	29
Preglednica 11: Razlike v fenolni sestavi grozdja treh 'Refošk' iz različnih vinorodnih leg v letniku 2013	30
Preglednica 12: Porazdelitev vinogradniških lokacij dveh sort grozdja na podlagi analize LDA	33
Preglednica 13: Pearsonovi korelacijski koeficienti med spremenljivkami (uporabljeni v LDA analizi)	34

KAZALO SLIK

Slika 1: Projekcija podatkov o kemijskih parametrih grozdja 'Cabernet Sauvignon' in 'Refošk' iz različnih leg vinogradov, v ravnini, definirani s prvima dvema diskriminatnima funkcijama (LDA)	32
--	----

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

A	absorbanca
ANT	koncentracija antocianov (mg/L) preračunana iz izmerjene absorbance pri 520 nm
astr	astringenca oziroma trpkost
Brix	sladkorna stopnja (°Brix)
celANT	koncentracija skupnih antocianov (izluženi v medij pH 1,0)
EA	delež ekstrabilnih antocianov
FAN	prosti aminokislinski dušik (angl. Free Amino Nitrogen)
int_astr	delež trpkih taninov
izlANT	koncentracija izluženih (ekstrabilnih) antocianov (izluženi v medij pH 3,2)
JK	koncentracija jabolčne kisline (g/L)
LDA	linearna diskriminatna analiza (angl. Linear Discriminant Analysis)
Mp	zrelost pečk (delež taninov v pečkah)
ne_astr	delež netrpkih taninov
pH	vrednost pH
RPT	polifenolni potencial
SK	koncentracija skupnih kislin (g/L)
Tehzrel	tehnološka zrelost oziroma razmerje med sladkorno stopnjo (°Brix) in skupnimi kislinami (g/L)
VK	koncentracija vinske kisline (g/L)

1 UVOD

Vinogradniki in vinarji želijo čim bolj kakovostno vino, za kar je potrebno imeti dobre informacije o kakovosti grozdja že pred trgatvijo. Predvsem pri rdečih vinskih sortah sta za določitev datuma trgatve pomembni tako tehnološka kot fenolna zrelost. Izrednega pomena je vsebnost fenolov, ki pa se lahko glede na letnik, lego vinograda ter klimatske razmere zelo spreminja. Velika raznolikost leg v naših razmerah bistveno vpliva na količino in kakovost vin ter na njihov karakter, poleg tega pa omogoča pridelavo široke palete vin. Tudi v okviru istega letnika se v odvisnosti od vinorodnega območja srečamo s sovpadanjem optimalne in tehnološke zrelosti, ki predstavlja optimalno razmerje med reducirajočimi sladkorji in organskimi kislinami. Razumevanje, kako in kdaj se fenolne spojine kopičijo v grozdnih jagodah in kako se odzivajo na okolje, je izjemnega pomena za dobro vinarsko prakso.

1.1 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je ugotoviti, kako se spreminjajo parametri fenolne in tehnološke zrelosti med dozorevanjem grozdja žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera L.*) izbranih sort 'Refošk' in 'Cabernet Sauvignon' ter kakšen vpliv ima lega vinogradov na proučevane parametre. V okviru fenolne zrelosti so nas zanimale koncentracije celokupnih in ekstrabilnih antocianov ter razmerja med njimi, polifenolni potencial in delež taninov v pečkah. Parametri tehnološke zrelosti so najpogosteje okarakterizirani s sladkorno stopnjo, vrednostjo pH, relativno gostoto, skupnimi kislinami, jabolčno in vinsko kislino, izračunali pa smo tudi zrelostni faktor. Poskus je potekal v letniku 2013 na 17 lokacijah vinogradov v vinorodnem okolišu Slovenska Istra, kjer sta posajeni proučevani sorti.

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Predvidevamo, da se sorti grozdja med seboj razlikujejo v proučevanih parametrih fenolne in tehnološke zrelosti ter da bodo v okviru posamezne sorte značilne razlike glede na lego oziroma lokacijo vinograda.

2 PREGLED OBJAV

V vinarskem svetu velja univerzalna resnica o kakovosti letnika, ki je neposredno povezana z optimalno zrelostjo grozdja. Izbira lokacije in vinogradniška praksa imata velik vpliv na doseganje optimalne zrelosti (Kennedy, 2002).

Večje število vinogradniških raziskav je opredelilo strategije, ki jih je mogoče uporabiti za optimizacijo zrelosti grozdja ob trgatvi, npr. namakanje, razlistanje, obremenitev itd. Za popolno razumevanje, kako bi lahko te strategije uporabili za optimizacijo zrelosti grozdja ob trgatvi, morajo vinogradniki in vinarji razumeti razvoj jagod (Kennedy, 2002).

2.1 SESTAVA GROZDJA

Posamezni sestavni deli grozda vplivajo v različni meri (odvisno od kakovosti trgatve, prevoza in prevzema) ne le na tehnološki postopek, ampak tudi na kakovost vina. Zato je pomembno, da se seznanimo s kemijsko sestavo posameznih delov grozda in ugotovimo tudi njihov vpliv na končno kakovost vina. Grozd je sestavljen iz pecljevine ter iz grozdnih jagod, ki predstavljajo sadež, medtem ko grozdno jagodo sestavljajo jagodna kožica, jagodno meso in grozdna pečka (Šikovec, 1993).

2.1.1 Grozdní pecelj

Grozdní pecelj dobi svojo končno obliko v fazi veraison. Čeprav izgubi večino klorofila, ostane zelen med zorenjem in v fazi polne zrelosti oleseni (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Po njem se pretakajo hranilne snovi, in sicer v vodi raztopljene anorganske mineralne snovi preko koreninskega sistema in organske, ki nastanejo z asimilacijo v zelenih delih vinske trte, zlasti v listju. Po olesenitvi peclja se močno zmanjša ali popolnoma preneha dotok hranilnih snovi iz trsa v jagode. Če utrgamo jagodo opazimo na peclju čop, ki ga sestavlja skupina prevodnih žil, preko katerih jagoda sprejema asimilate in anorganske snovi. Osrednje žile gredo skozi jagodo do nasprotnega pola, žile, ki tečejo po zunanjem delu jagode se razvejijo v mrežo ter na popku srečajo z osrednjimi žilami, ter skupina žil, ki vodi v jagodne pečke. Količina pecljev je različna in odvisna od posamezne sorte, stopnje dozorelosti in zdravstvenega stanja grozdja. Ko so jagode še nerazvite, znaša delež pecljevine do 16 %. V polni zrelosti pa pecljevina predstavlja le od 2 do 7 % skupne mase grozda. Na njen vpliva velikost jagod, zbitost jagod in osipanje med cvetenjem. Manjše kot ima sorta jagode, večji delež pripada pecljevini (Šikovec, 1993).

Pecelj ima nizko vsebnost sladkorjev in srednjo koncentracijo kislin, ki so v obliki soli, zaradi velike vsebnosti mineralov (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Njegova celična vsebina ima vrednost pH večinoma nad 4. Prisotnost pecljevine med vinifikacijo rdečega

grozdja povzroči znižanje kislosti in rahel dvig vrednosti pH. Pepel peclja predstavlja 5 do 6 % suhe snovi. Od tega je približno polovica kalija, ki mu sledijo kalcij, magnezij, natrij, železo, baker, mangan in cink (Moreno in Peinado, 2012). Čeprav peclji predstavljajo majhen odstotek celotne mase grozda lahko vsebujejo do 20 % skupnih fenolnih spojin, ki imajo zelo trpek okus (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Poleg tega vsebujejo tudi 15 % taninov, 26 % levkoantocianov, 15 % katehinov, 16 % galne kisline in 9 % kavne kisline (Moreno in Peinado, 2012). Koncentracija teh snovi v vinu posledično naraste, če je pri predelavi vina prisotna pecljevina. Pri predelavi grozdja je zato potrebno paziti in skrbno izbrati opremo, ki pecljev mehanično ne poškoduje (lomi, drobi ali stiska), ter peclje na začetku predelave ločiti od jagod (Moreno in Peinado, 2012).

2.1.2 Grozdna jagoda

Masa jagod se med vegetacijo povečuje. Največjo maso doseže v fazi polne zrelosti, ko znaša od 92 do 98 % skupne mase grozda. Jagodo sestavljajo kožica, meso in pečke (Šikovec, 1993).

2.1.2.1 Jagodna kožica

Obdaja jagodno meso in pečke, ji daje obliko in jo varuje pred zunanjimi vplivi. Njena masa je odvisna od sorte in predstavlja od 8 do 20 % celotne mase jagode (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Kožico sestavlja kutikula, epidermis in hipodermis (Moreno in Peinado, 2012). Debelina kutikule je odvisna od sorte grozdja (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Kutikula je pokrita s prevleko, imenovano oprh, ki je voščenega videza. Ta plast je pomembna, ker predstavlja zaščito pred mikroorganizmi, prisotnimi v zraku. Deluje tudi kot neprepustna plast, ki prepreči evaporacijo vode iz jagode (Moreno in Peinado, 2012). Za razliko od nekaterih drugih rastlinskih površin, izguba vode iz jagodne kožice poteka večinoma skozi voščeno kutikulo, kar je relativno počasen proces. Posledica takšne fiziologije je, da grozdje slabo izgublja toploto preko evaporacije, in da grozdje ni sposobno hitro izločiti odvečno vodo. Zato je grozdna jagoda bolj občutljiva in nagnjena k pokanju kot drugo sadje (Jackson, 2008). Epidermis in hipodermis, ki ležita pod kutikulo, vsebujeta celice različnih velikosti (Moreno in Peinado, 2012).

Pod zunanjo plastjo celic kožice leži plast sploščenih celic, imenovana podkožje ali hipodermis. Te celice so nagnjene k akumuliranju fenolnih spojin v relativno visokih koncentracijah med dozorevanjem grozdja. Te spojine močno vplivajo na aromo, okus in barvo. Zato imajo fenolne spojine ključno vlogo pri določanju kakovosti mošta in vina ter senzoričnih karakteristik. Spojine, koncentrirane v celicah podkožja, vključujejo mnogo vrst taninov, ki močno vplivajo na zaznavo občutka v ustih »mouthfeel«, npr. trpkost ali astringenca, in na okus, kot je grenkoba, dodatno pa tudi na mnogo specifičnih not okusa.

Večina teh spojin je akumuliranih med zgodnjim dozorevanjem grozdja, pred t.i. fazo »veraison«, ki je okarakterizirana z začetkom mehčanja grozdnih jagod in njihovim obarvanjem. V poznejših fazah dozorevanja grozdja se koncentracija taninov ne spreminja značilno, se pa spremeni njihova struktura. Te spremembe vodijo k manjši trpkosti in grenkobi, ter prispevajo k »mehkejšemu« občutku v ustih (Jackson, 2008).

Vsebnost fenolnih spojin v kožici je zelo različna in je odvisna predvsem od sorte grozdja. V kožici je delež skupnih fenolnih spojin od 12 do 61 %, delež taninov od 14 do 50 %, delež procianidinov pa od 17 do 47 %; ta delež v rdečem grozdju odpade skoraj v celoti na antociane (Moreno in Peinado, 2012). Antociani se akumulirajo v celicah podkožja na začetku fenofaze »veraison«. Veliko aromatičnih spojin, kot so terpenoidi, odgovorni za prijetne, sadne arome, se tudi ob tem času začnejo akumulirati v teh celicah (Jackson, 2008).

Bogata je s celulozo, netopnimi pektini in proteini. Ko je grozdje zeleno so v znatni količini prisotni klorofil, ksantofil in karotenoidi, pri zrelem grozdu pa je njihova koncentracija manjša. Vsebnost mineralov v kožici je skoraj enaka tisti v peclju (Moreno in Peinado, 2012). Koncentracija sladkorja v celicah kožice je zelo nizka (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Kožica vsebuje jabolčno kislino, katere koncentracija med dozorevanjem pada. Kožica zrelega grozdja vsebuje predvsem vinsko, jabolčno in citronsko kislino, po tem vrstnem redu (Moreno in Peinado, 2012). Jagodna kožica vsebuje poleg invertaze ter pektolitičnih encimov, tudi veliko škodljivih oksidacijskih encimov. Zaradi tega je potrebno poskrbeti, da kožica pred predelavo in med predelavo grozdja ni poškodovana (Šikovec, 1993).

2.1.2.2 Jagodno meso

Jagodno meso zavzema največji del mase jagode, in sicer od 75 do 85 % (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a; Šikovec, 1993). Sestavljeno je iz 25 do 30 plasti celic z zelo tankimi celičnimi stenami (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Jagodno meso lahko razdelimo na tri cone, ki se razlikujejo po strukturi in sestavi: notranja cona ob pečkah, zunanja cona pod jagodno kožico, in srednja cona. Relativna razmerja sestavin se spreminjajo glede na posamezno cono v jagodi in posamezno jagodo v grozdu. Notranja cona (ob pečkah) zrele jagode vsebuje do 2 % manj sladkorjev in precej več kislin kot srednja cona. Zunanja cona, ki meji na jagodno kožico, v primerjavi z srednjo vsebuje manj sladkorjev in kislin, vendar več taninov (Šikovec, 1993).

Celice jagodnega mesa so tipično večje in bolj okrogle kot celice kožice. Te celice vsebujejo vakuole, ki so primarna mesta za akumulacijo sladkorjev med zorenjem grozdja. Saharoza, ki je transportirana iz krošnje vinske trte v celice jagode, se razgradi na glukozo in fruktozo, ki sta primarna sladkorja v zrelih grozdnih jagodah (Jackson, 2008). Med fazo

veraison je glukoze dvakrat več kot fruktoze, medtem ko sta v zrelem grozdu prisotna v skoraj enakem razmerju. Kljub temu, da je saharoza glavni sladkor sintetiziran v listih, je v grozdju prisotna samo v sledovih, ker se hidrolizira med prenosom v sadež. Poleg glukoze, fruktoze in saharoze so v grozdju tudi sladkorji arabinoza, ksiloza, ramnoza, maltoza in rafinoza. Sladkorji v jagodi niso enakomerno razporejeni, najbogatejša s sladkorji je srednja cona (Moreno in Peinado, 2012).

Pomembne komponente jagode so tudi organske kisline, predvsem vinska in jabolčna kislina. V manjšem deležu je prisotna tudi citronska kislina (Moreno in Peinado, 2012). V srednji coni jagodnega mesa je največja koncentracija vinske kisline, koncentracija jabolčne kisline se povečuje proti notranji coni in obe se zmanjšujeta proti zunanji coni. Ko je jagoda še nezrela je ravno obratno. Citronska kislina je fiksirana na celičnih stenah in je težje ekstrahibilna. Razmerja med kislinami so odvisna predvsem od zrelosti jagod (Šikovec, 1993). Nasprotno kot tistim, ki se nahajajo v kožici, kislinam in taninom v mesu koncentracija med zorenjem grozda pada. Še posebej se zmanjša koncentracija jabolčne kisline. Tanini in kisline v teh celicah so močno razredčeni zaradi pritoka vode, ki se zgodi med dozorevanjem grozdne jagode. Celice jagodnega mesa se hitro delijo do približno treh tednov po cvetenju in na stopnjo delitve vplivajo okoljski dejavniki. Ko se delitev celic upočasni in ustavi, poteka kratka lag faza, med katero je velikost jagode v mirovanju. Lag fazi sledi hitra rast velikosti celic zaradi dotoka vode v jagodo in njene celice. V tej tretji fazi rasti jagode pride do fenofaze »veraison« (začetek obarvanja jagodne kožice in mehčanja jagod), ki je definirana s celičnim številom in predvsem s povečanjem velikosti celic jagodnega mesa vse do zrelosti grozdja. Vakuole v teh celicah se občutno širijo ali krčijo kot odgovor na privzem vode ali izgubo, še posebno po veraison (Jackson, 2008).

Minerali v jagodnem mesu so enaki tistim, ki jih najdemo v drugih delih rastline. Kalijeve soli predstavljajo več kot 50 % mineralnih snovi, drugi po koncentraciji je kalcij, tretji pa magnezij (Šikovec, 1993). V jagodnem mesu odpade na skupni dušik le med 20 do 25 % od celokupne vsebnosti dušika v jagodi (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

2.1.2.3 Pečke

Predstavljajo od 3 do 5 % mase grozdne jagode. Zgrajene so iz zunanjega olesenelega sloja in endosperma, ki je bogat z maščobnimi kislinami. Pečke vsebujejo 25-45 % vode, 34-36 % sladkorjev, 13-20 % olja, 4-6 % taninov, 4-6,5 % dušikovih spojin, 2-4 % mineralov in 1 % prostih maščobnih kislin (Moreno in Peinado, 2012). Pečke so pomemben vir fenolnih snovi, saj vsebujejo od 20 do 55 % skupnih polifenolov jagode, kar je predvsem pomembno med proizvodnjo rdečega vina. Število pečk v jagodah vpliva na sladkorno stopnjo, ki je večja z manjšim številom semen, na kislost, ki je večja z večjim številom semen in na vsebnost dušikovih snovi, ki je večja z manjšim številom semen (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Čeprav so snovi, ki so prisotne v zunanjem sloju pečke, lahko koristne (fenolne spojine, dušikove snovi in fosfati, ki se delno raztopijo med pridelavo rdečih vin), bi tiste znotraj nje imele negativen vpliv na kakovost vina, če bi se raztopile, zato se je bolje izogniti mehanskim poškodbam pečk med drozganjem in stiskanjem (Moreno in Peinado, 2012).

2.2 FENOFAZE RAZVOJA VINSKE TRTE V RASTNI DOBI

Pri vinski trti, ki je večletna rastlina, ločimo veliki cikel razvoja (od začetka do konca življenja) in mali ali letni biološki razvojni cikel. Letni razvojni cikel je razdeljen na obdobje aktivnega življenja ali vegetacije in obdobje mirovanja (Taks, 2000).

Vegetativna rast vinske trte se prične spomladi, ko povprečna dnevna temperatura zraka preseže prag 10 °C. Rastni cikel je sestavljen iz šestih glavnih fenofaz. To so soljenje, brstenje, cvetenje in oploditev, razvoj jagod, zorenje grozdja in odpadanje listov. Pri zgodnejših sortah traja od 95 do 120 dni, pri poznejših tudi 170 dni. Dolžina razvojnega ciklusa pa je odvisna tudi od agroekoloških dejavnikov. Tako se lahko pričetki in trajanje posameznih faz vsako leto spreminjajo (Vršič in Lešnik, 2010).

2.2.1 Stopnje rasti grozdne jagode

Grozdna jagoda je v bistvu samostojna biokemijska tovarna. Poleg primarnih metabolitov, esencialnih za preživetje rastline (voda, sladkorji, aminokisliline, minerali, mikrohranila), ima jagoda sposobnost sintetizirati še vse druge spojine, (na primer spojine, odgovorne za okus in aromo), ki definirajo specifično vino (Kennedy, 2002).

Rast jagode poteka v treh stopnjah: začetna hitra faza rasti, ki ji sledi kratka faza počasnejše rasti, zaključni pa se še z dodatno fazo hitre rasti (Goldammer, 2015).

2.2.1.1 Razvoj med prvo fazo rasti – hitra faza rasti

Prva faza razvoja grozdne jagode se začne kmalu po oploditvi cveta. Po koncu cvetenja začnejo jagode pospešeno rasti zaradi hitre delitve celic. V plodnici se razvijejo pečke. Zanj je značilna močna rast pečk in jagode (Goldammer, 2015). Intenziteta delitve celic je odvisna od obstoja pečk v jagodi. Koncentracija rastnih hormonov (citokinini, giberelini) je tesno povezana s številom pečk. Rast celic se prične približno dva tedna po oploditvi in traja do konca primarne faze rasti (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Med to fazo so jagode čvrste, temno zelene barve, saj kot barvilo prevladuje klorofil, in hitro akumulirajo kislino. V tej fazi se lahko premer jagode podvoji (Goldammer, 2015).

2.2.1.2 Razvoj med drugo fazo rasti – faza počasne rasti (lag faza)

Naslednja stopnja oziroma prehodno obdobje predstavlja čas upočasnjene rasti. Rast se začne zaustavljati, ovojnica pečke pa postane trda. Jagode ostanejo čvrste, vendar začene izgubljati klorofil. Dosežejo največjo koncentracijo kislin in začene počasi akumulirati sladkorje (Goldammer, 2015). Ta faza se zaključi z izgubljanjem zelene barve jagod (Jackson, 2008). Za veraison je značilen pojav barve v obarvanih sortah in prosojne kožice v belih sortah. Sprožitev procesa zorenja je povezana s padcem ravni ravnega hormona in pojavom stresnega hormona, abscisinske kisline (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

2.2.1.3 Razvoj med tretjo fazo rasti – faza hitre rasti oziroma sortno značilnega obarvanja jagod (faza veraison)

Zadnja stopnja rasti grozdne jagode se začne z začetkom zorenja jagode (Goldammer, 2015). Celična rast se ponovno pospeši in pride do različnih fizioloških sprememb. Aktivnost dihanja se zmanjša, medtem ko se povečajo določene encimske aktivnosti (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Med zorenjem se jagoda razvija in doseže končno velikost v petih do osmih tednih po cvetenju. Tkivo se mehča, vsebnost kisline se zmanjša, stopnja sladkorja se poveča, antociani se sintetizirajo, pojavi se tudi sortno značilna aroma (Jackson, 2008).

2.2.2 Spremembe v grozdju med dozorevanjem

Med dozorevanjem grozdne jagode dosežejo normalno velikost, se pričnejo mehčati in spreminjati barvo. V njih se povečuje količina sladkorja in zmanjšuje količina kislin, poleg tega pa grozdje pridobiva značilno sortno aromo (Vršič in Lešnik, 2010). Na začetku zorenja poteka akumulacija sladkorjev in vode. V fazi upočasnjene rasti pride v jagodi do blokiranja ksilema, zato se jagoda oskrbuje s snovmi samo preko floema. Količina vode, ki pride v jagodo je tako močno zmanjšana (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

V času zorenja jagod trta potrebuje veliko količino sončnega sevanja, saj je od njihove intenzitete in trajanja odvisna dozorelost grozdja. S sončno energijo se povečuje tudi dotok asimilatov iz listja v jagode. Preveč intenzivno sončno sevanje lahko povzroči ožige, kar ovira razvoj jagode in poslabša končno kakovost vina. Potrebuje malo padavin, vendar kljub temu ne sme trpeti suše. V primeru obilnejših padavin pričnejo jagode pokati, kar povzroči izgubo jagodnega soka, razvoj bolezni na površini jagode in gnitje (Vršič in Lešnik, 2010).

2.2.2.1 Sladkorji

Od faze veraison dalje se v jagodi pospešeno kopičijo sladkorji. Zmanjšanje rastnih hormonov, auksinov, in povečanje koncentracije abscisinske kisline vpliva na povišanje inhibicije encimskih aktivnosti vpletenih v kopičenje sladkorja v celičnih vakuolah. Koncentracija sladkorja se zvišuje. Sladkorji sintetizirani v listih, potujejo v obliki saharoze čez floem v grozd. Invertaza razgradi saharozo na glukozo in fruktozo. V zelenem grozdu na začetku razvoja, glukosa predstavlja 85 % deleža reducirajočih sladkorjev. Z zorenjem se koncentracija fruktoze povečuje in razmerje glukosa/fruktoza konstantno pada. Ko grozdje dozori je to razmerje med 1.0 in 0.9. Večja koncentracija fruktoze je predvsem posledica tega, da rastlina lažje pri dihanju uporablja glukozo (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Ko se koncentracija sladkorjev ustali zaradi olesenitve peclja in prekinitve asimilacije, se istočasno začne zmanjševati koncentracija kislin. Jagodna kožica postane tanjša, bolj elastična in sortno obarvana. Po prekinitvi asimilacije lahko koncentracija sladkorjev še narašča zaradi izgube vode skozi kožico med izhlapevanjem (Korošec, 2012).

Na večjo sladkorno stopnjo vpliva manjša količina pridelka na trs in večje število sončnih ur, ki obsevajo listje. Osvetljeno grozdje ima večjo vsebnost sladkorjev zaradi izhlapevanja vode. Višje temperature pozitivno vplivajo na kopičenje sladkorja, temperature nad 35 °C pa ne, ker pride do prekinitve fotosinteze. Minimalen vpliv na sladkorno stopnjo ima tudi vlaga, ki jo lahko zmanjša ali poveča (Zadnik, 1997).

2.2.2.2 Kisline

Najpomembnejši kislini sta vinska in jabolčna kislina, ki se sintetizirata v listih in grozdju. Večina je proizvedene v grozdju pred fazo veraison. Jabolčna kislina je zelo aktiven produkt metabolizma grozdja. Nastaja iz sladkorjev, njena sinteza je največja v času do faze upočasnjene rasti. V začetku zorenja nadomesti sladkor v procesih produkcije energije (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Zato se razmerje obeh kislin, ki je v začetku na strani jabolčne kisline, z zorenjem vse bolj nagiba v korist vinske kisline (Šikovec, 1993). Druge pomembnejše organske kisline so še citronska, askorbinska, oksalna, piruvična in druge, katerih vsebnost je zanemarljiva (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Kisline so različno razporejene v jagodi, največ vinske kisline se nahaja proti zunanosti razvijajoče se jagode (v kožici), največ jabolčne kisline pa je v mesu.

2.2.2.3 Minerali

Korenine iz zemlje neprestano črpajo mineralne snovi, ki jih razporejajo po celi rastlini, tudi v plodove. Vnos mineralov je neenakomeren. Dotok je hitrejši na začetku dozorevanja, ker je potreba po mineralih večja, med zorenjem pa se manjša (Zadnik,

1997). Kalij je eden redkih mineralov, ki se transportirajo preko floema, kjer omogoča prenos sladkorjev. Njegova količina se poveča med zorenjem, zaradi povečane akumulacije sladkorjev. Ostali elementi se prenašajo po ksilemu. Koncentracija mineralov je odvisna od vremenskih pogojev, agrotehničnih ukrepov, sorte, stopnje zrelosti in stopnje transpiracije (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

2.2.2.4 Dušikove spojine

V času zorenja koncentracija aminokislin in drugih dušikovitih spojin konstantno narašča. Večja kot je zrelost grozdja, večji delež dušika predstavljajo organske dušikove spojine, manj pa amonijak. Dušik prihaja v obliki amonijaka iz tal, medtem ko v obliki aminskega iona in peptidov prihaja iz listja. Vsi peptidi in proteini, so sintetizirani v sami jagodi. Grozdni sok zrele jagode vsebuje samo 20 % dušika celotne jagode, preostali del pa se nahaja v pečkih in kožici. Ob koncu zrelosti, se iz kožice, v manjšem obsegu pa tudi iz pečk izloča v jagodno meso (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a), v večjem obsegu pa so dušikove spojine prisotne v moštih iz maceriranega grozdja v primerjavi z mošti hitre tehnološke sheme predelave (pecljanje-drozganje-stiskanje).

2.2.2.5 Pektinske snovi

Mehčanje jagod med zorenjem je rezultat pomembnih sprememb na celični ravni jagodnega mesa. Na začetku razvoja grozdja, so celične stene primarno zgrajene iz celuloze. Za obdobje veraison je značilna precejšnja sinteza pektina. Zorenje spremlja raztapljanje pektina. Mehčanje je povezano s povišanjem vodotopnih pektinov in hkratnim sproščanjem lamel med celicami. Te spremembe so rezultat encimske razgradnje ter manjšanjem koncentracije kalcija v pektinih celične stene (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

2.2.2.6 Fenolne spojine

Fenolna sestava grozdja je odvisna od podnebja, kjer rastejo, stopnje zrelosti in sorte vinske trte (Montealegre in sod., 2006).

Fenolne snovi so sekundarni produkti razgradnje sladkorjev. Njihova sinteza se začne v pečkih že ob začetku razvoja grozdja (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Koncentracije fenolnih snovi v drugih delih jagode se povečujejo, dokler ni grozdje dozorelo. V obarvanih sortah se antociani pričnejo kopičiti v kožici približno dva tedna preden je barva vidna. Med zorenjem koncentracija narašča, ko je grozdje dozorelo pa se začne zmanjševati. Pojav antocianov je odvisen od akumulacije sladkorja in sončne svetlobe (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

V grozdju so trije glavni tipi fenolnih snovi: flavonoli, antocianini in flavanoli (tanini). Vloga flavonolov je absorpcija UV sevanja. V vinogradu na njihovo sintezo pozitivno vpliva izpostavljenost jagod sončnemu sevanju. Flavonoli nastanejo v kožici v katerekoli stopnji razvoja jagode. Antocianini pa se oblikujejo med zorenjem. Ta barvila (imenovana nepravilno tudi pigmenti, ker so topna v vodi) vplivajo na temno barvo (rdečo, črno) jagodne kožice in posledično rdečega vina. Čeprav grozdje tvori antocianine tudi ob pomanjkanju svetlobe, bo ob sončnem sevanju tvorilo večje koncentracije antocianinov. Tanine najdemo v pečkih in kožici grozdja (Tarara in sod., 2008).

2.2.2.7 Aromatske spojine

Primarne aromatične snovi nastanejo v grozdni jagodi, sekundarne pa so vezane na sortno določeno aminokislinsko sestavo grozdja in številne druge parametre. Ko se sintetizirajo so lahko proste ali vezane na glikozide, lahko so v obliki derivatov ali polimerov osnovnih spojin. Med dozorevanjem se obe frakciji večata, v prezrelosti pa obe manjšata. Hlapne snovi so enakomerno razporejene med kožico in mesom (Boulton in sod., 1996).

2.2.2.8 Lipidi

Največji delež lipidov vsebujejo pečke, vendar maščobe v obliki voskov srečamo tudi na grozdni jagodi. Tu predstavljajo voščeno prevleko, ki ščiti jagodo pred izparevanjem, pred preveliko zračno vlago in preprečujejo razvoj plesni. Nekaj lipidov pa vsebuje tudi jagodno meso (Kovač, 2006).

2.3 ZRELOST GROZDJA

Razlikujemo različne stopnje zrelosti grozdja.

Fiziološka zrelost grozdja je faza zorenja grozdja, ki poteka pred veraison, v kateri pečke končajo svoj razvoj, dobijo tipično temno barvo, postanejo fiziološko zrele in so sposobne za kalitev (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Meso jagode je dozorelo, ko doseže optimalno razmerje sladkorjev in kislin. Jagodna kožica pa je dozorela, ko fenolne in aromatične snovi dosežejo svojo maksimalno koncentracijo. Posledično se opredelitev zrelosti razlikuje glede na cilj pridelave. Na primer, za proizvodnjo suhega belega vina želimo grozdje, ki vsebuje maksimalno koncentracijo aromatičnih snovi, ob še zadostni vsebnosti kislin (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a). Pri rdečih vinih pa se lahko času optimalne zrelosti grozdja najbolj približamo s spremljanjem fenolne zrelosti, in sicer koncentracije celokupnih in ekstrabilnih (izlužljivih) antocianov ter razmerja med njimi, polifenolnega potenciala in deleža taninov v pečkih (Klenar in sod., 2012).

Večina senzoričnih lastnosti, kot so barva, telo, aroma, trpkost in grenkoba, so direktno povezane s sestavo antocianinov in proantocianinov. Njihova sestava je močno povezana z zrelostjo grozdja. Antocianini se nahajajo samo v kožici, proantocianini pa se nahajajo v kožici in pečkih. Potrošniki zahtevajo vina z globoko rdečo barvo, polnim telesom, mehкими tanini in sadnimi aromami. Tako vino lahko dosežemo samo iz grozdja, ki je doseglo polno fenolno zrelost (Kontoudakis in sod., 2011).

Od fenofaze obarvanja jagode do tehnološke zrelosti se kožica grozdne jagode bogati na polifenolnih spojinah. Antociani, ki se pojavijo ob obarvanju jagode, se kopičijo med dozorevanjem, v času prezrelosti pa prihaja do njihovega razgrajevanja. Vzporedno z dozorevanjem fenolov prihaja do podobne evolucije vsebnosti taninov, katerih koncentracija je velika že v fazi obarvanja jagode in med dozorevanjem le še narašča. Koncentracija taninov iz pečk pa se med dozorevanjem zmanjšuje. Tanini iz pečk dajejo vinu strukturo in telo, vendar obstaja nevarnost astringence (Klenar in sod., 2012).

Tehnološka zrelost pomeni zrelost, pri kateri grozdje doseže optimalno kemijsko sestavo glede na zastavljen tehnološki program v vinski kleti in želeno kakovost, stil ali slog vina, ki ga želimo pridelati. Primerna tehnološka zrelost je odvisna od sorte in ne pomeni nujno polne zrelosti grozdja (Košmerl in Kač, 2009; Bavčar, 2006).

Polna zrelost grozdja nastopi takrat, ko z meritvami določimo, da v razmiku nekaj dni koncentracija sladkorjev zaradi olesenitve pecljev in prekinitve asimilacije v grozdni jagodi ne narašča več (Bavčar, 2006). Dejansko je pri tej zrelosti prekinjen tako dotok mineralnih snovi preko koreninskega sistema kot dotok asimilatov v grozdno jagodo.

V fazi prezrelosti, ki sledi polni zrelosti, ko ni več dotoka vode in hranilnih snovi, se zaradi izhlapevanja vode čez površino grozdne jagode in sušenja jagod, kopičijo vse sestavine, tudi sladkorji. Zato se grozdni sok zgoščuje, masa pa upada (Vršič in Lešnik, 2010).

2.4 VPLIVI NA DOZOREVANJE GROZDJA

Naravni dejavniki, ki omogočajo uspevanje vinske trte, so podnebje, tla in lega. Tukaj je mišljena mikroklima določenega vinogradnega zemljišča v okviru večjega enotnega podnebne območja, kjer so upoštevane tudi talne razmere. Velika raznolikost leg v naših razmerah bistveno vpliva na količino in kakovost vin ter na njihov karakter, poleg tega pa omogoča pridelavo široke palete vin. Močnejši vpliv ima okolje na rast in rodnost trte, kot pa sama sorta ali letnik (Korošec, 2012).

Na kvaliteto pridelka vplivajo svetloba, temperatura in voda, pomembna je predvsem njihova porazdelitev skozi leto. Ugodne vremenske razmere trta potrebuje predvsem med

dozorevanjem. V letih s toplim vremenom in malo dežja imamo veliko sladkorjev, malo kislin ter malo jabolčne kisline. V letih s hladnim in deževnim vremenom je sladkorjev malo, vsebnost skupnih kislin in jabolčne kisline pa je visoka. Ugodne vremenske razmere ob cvetenju in veliko dežja avgusta, vplivajo na zmanjšano količino sladkorja, saj je naraščanje količine sladkorja največje v dneh po fazi upočasnjene rasti in se kasneje zmanjšuje. Deževno vreme med trgatvijo lahko bistveno zmanjša kvaliteto letnika (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

2.4.1 Pridelek

Preobilen pridelek podaljša dozorevanje grozdja, zadrži kislost, podaljša sintezo antocianov in kopičenje sladkorja, omeji razvoj arome, zmanjša nadaljni pridelek ter skrajša življenjsko dobo vinske trte. Premajhen pridelek pa podaljša rast poganjkov in razvoj listov, poveča senčenje in zmanjša kislost grozdja. Ob manjšem pridelku so jagode večje. S tem se zmanjša razmerje med kožico in mesom, kar lahko negativno vpliva na lastnosti, ki izvirajo iz jagodne kožice. Manjši pridelek poveča koncentracijo dobre vinske arome, hkrati pa raste tudi intenziteta okusa. Ta dva parametra morata biti za uravnoteženo vino v pravem razmerju. Uravnovešenost med listi in grozdi izboljša mikroklimatske razmere znotraj in okoli trte, poveča fotosintetsko aktivnost, izboljša dozorevanje grozdja in razvoj okusa (Zadnik, 1997).

2.4.2 Sončna svetloba

Trta potrebuje veliko sončnih dni in zelo intenzivno osvetlitev. Ugodna osvetlitev skrajšuje vse faze rasti, ima pomemben vpliv na dozorevanje in barvo grozdja. Svetloba je potrebna za fotosintezo, pri kateri nastajajo sladkorji. Poleg tega vpliva na brstenje in kasnejšo plodnost trt. Jagode, ki zorijo v senci imajo manj sladkorja, nižji pH in višje skupne kisline ter vsebnost jabolčne kisline. Pomembna je tudi pri akumulaciji polifenolov, arom in obarvanju rdečih sort. Zato je grozdje v letih z neugodnimi vremenskimi razmerami za dozorevanje navadno slabše obarvano. Optimalno število sončnih ur v rastni dobi trte se giblje med 1500 in 2500 ur (Vršič in Lešnik, 2010). Na dostopnost sončnih žarkov vplivamo tudi z zasnovo vinograda in gostoto sajenja trt. Pri pregostem sajenju je onemogočen dostop sončnih žarkov do nekaterih predelov trte, kar pa povzroča večje zadrževanje vlage in nižje temperature neosvetljenih predelov (Colnarič in Vrabl, 1988).

2.4.3 Temperatura

Temperatura je odvisna pretežno od mikroklimne posamezne lege, njene izpostavljenosti sončni svetlobi in sposobnosti tal absorpcije sončne toplote. Največje razlike med legami nastajajo v spomladanskih in jesenskih mesecih, torej med solzenjem in zorenjem grozdja. Poleg temperature zraka je pomembna tudi toplota tal, ki pa je odvisna pretežno od nagiba

in od sončnega sevanja. Pomembna je za razvoj koreninskega sistema, s čimer se poveča črpanje hranilnih snovi in vode iz tal (Vršič in Lešnik, 2010).

Temperatura vpliva na aktivnost fotosinteze, metabolizem trte in prenos snovi v trti. Ima neposreden vpliv na kakovost letnika, in sicer ne le v času dozorevanja, pač pa tudi v času brstenja in cvetenja. Kasnejši kot je razvoj grozdja, večja je verjetnost, da bodo vremenske razmere neugodne (Zadnik, 1997). Optimalna temperatura zraka za rast in razvoj trte je srednja letna temperatura od 9 do 21 °C. Pomembno je, da niso prevelika dnevno-nočna nihanja temperature, zlasti spomladi, ko je možnost spomladanske pozebe toliko večja. Še več škode pa trti povzročijo prenizke temperature, ki preprečujejo brstenje, podaljšujejo faze rasti in preprečujejo dozorevanje grozdja, zaradi česa ima grozdje ob trgatvi ponavadi višjo vsebnost kislin (Vršič in Lešnik, 2010). Trta težko raste in rodi pri temperaturah pod 10 °C. Temperature nad tem pragom imenujemo aktivne temperature (Zadnik, 1997). Razgradnja jabolčne kisline je močno povečana v toplem vremenu, saj aktivnost encima, ki sodeluje pri razgradnji jabolčne kisline, konstantno narašča pri 10 °C do 46 °C (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Temperatura vpliva tudi na aktivnost encimov in prepustnost celičnih membran. Za sintezo antocianov so pri veliko sortah ugodne temperature med 20 do 25 °C podnevi in med 15 do 20 °C ponoči. Višja temperatura ima pozitivne učinke na kopičenje sladkorja, temperature nad 35 °C, ko se fotosinteza prekine, pa so že previsoke (Zadnik, 1997). Temperaturni ekstremi neugodno vplivajo na kopičenje fenolnih snovi, zato je grozdje v takih razmerah pogosto slabo obarvano. Nekatere aromatične sorte lahko razvijejo svoj potencial le v hladnih vinorodnih območjih. Akumulacija arom je sicer počasnejša, vendar ob zrelosti vsebujejo več aromatičnih snovi (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

2.4.4 Padavine in vetrovi

Na razvoj in kakovost pridelka vpliva tudi količina padavin. Potrebna je določena vlažnost zraka in tal. Voda je pomembna za trto, ker ima vlogo medija za prenos hranil iz zemlje v organe rastline. Ohranja tudi napetost celic in sodeluje pri pomembnih fizioloških procesih. Razpoložljivost vode je odvisna predvsem od padavin in sposobnosti zadrževanja vode v tleh (Vršič in Lešnik, 2010). Optimalna letne količina padavin je med 600 in 800 mm, predvsem pa je pomembna njihova razporeditev (Zadnik, 1997).

Velike količine padavin imajo negativen vpliv na kvaliteto grozdja. Pred fazo upočasnjene rasti voda v jagode priteka po ksilemu. Količina razpoložljive vode vpliva na rast jagod in posledično na njihovo velikost. Velikost jagod pa vpliva na kakovost pridelka. Če so jagode manjše, je manjši pridelek, a je zato bolj kakovosten. Po fazi upočasnjene rasti se potreba jagod po vodi močno zmanjša, saj voda v grozdje priteka le preko floema. Minimalna količina vode je še vseeno potrebna, da grozdje pravilno dozoreva. Pomanjkanje vode povzroči povečanje količine fenolov v grozdju, večjo koncentracijo

prolina in manjšo vsebnost jabolčne kisline ter povečano koncentracijo aromatičnih snovi. Če je vode preveč, se poveča volumen jagod in zmanjša količina fenolov. Čeprav je količina kislin višja, je višji tudi pH, zaradi povečanega dotoka kalijevih ionov. Pride tudi do sprememb vsebnosti aromatičnih snovi. Prekomerne količine vode podaljšajo proces dozorevanja in spremenijo kemično sestavo grozdja. Močan dež med dozorevanjem lahko privede do pokanja jagodne kožice zaradi povečanega osmotskega tlaka. Pomanjkanje vode je tudi en od sprožilcev dozorevanja, saj se takrat tvorijo večje količine abscisinske kisline, ki je odgovorna za začetek dozorevanja. Rdeče sorte bolje rastejo v okolju s pomanjkanjem vode. Pri teh sortah je tvorba fenolov bolj pomembna od akumulacije sladkorjev, in sicer največ fenolov nastane ob pomanjkanju vode. Zato navadno sadimo rdeče sorte na legah, kjer so tla lažja in imajo manjšo sposobnost zadrževanja vode (Ribéreau-Gayon in sod., 2006a).

Veter lahko na trto vpliva ugodno in neugodno. Blag veter omogoča mešanje zraka in hitro sušenje po dežju ter zmanjšuje možnosti pojava glivičnih bolezni. Pomaga tudi za boljše cvetenje, premočni vetrovi pa so škodljivi (Taks, 2000).

2.5 PODNEBJE VINORODNEGA OKOLIŠA SLOVENSKE ISTRE

Slovenska Istra leži na skrajnem jugozahodu Slovenije. Zaradi lege povsem ob morju ima zelo izrazite sredozemske podnebne značilnosti. Značilna so vroča in suha poletja ter blage zime. Temperaturni režim je povsem sredozemskega značaja, kar pa ne velja za letno razporeditev padavin, ki je zelo neenakomerna. Najtoplejši mesec je julij. Povprečne temperature v poletnih mesecih so ob morju med 23 °C in 25 °C, v gričevnatem in hribovitem zaledju pa so nekoliko nižje, a še vedno višje od 20 °C. Povprečne temperature v zimskih mesecih se gibljejo od 2 do 3 °C in skoraj nikoli ne padejo pod 0 °C. Pozimi se pojavljata tudi burja in jugo. Burja povzroči močno znižanje temperature, jugo pa temperaturo dvigne in močno poveča vlažnost v ozračju. Največ padavin pade v mesecih oktober in november. Drugi višek nastopi junija. Količina padavin se povečuje od zahoda proti vzhodu in se od okrog 1000 mm v priobalnem pasu, dvigne na 1200 mm do 1350 mm, v vzhodnih delih gričevja. Kljub precejšnji količini padavin, pa se v poletnih mesecih pojavlja suša, saj tudi tu zelo visoke temperature poleti pospešijo izhlapevanje vode, ki pade v obliki padavin (Belec in sod., 1998).

2.6 SORTA 'REFOŠK'

2.6.1 Splošne značilnosti sorte 'Refošk'

Sorta 'Refošk' spada v črnomoško ekološko skupino Negr. - Proles pontica. Pri nas je najbolj razširjena na Primorskem, natančneje v vinorodnih okoliših Kras in Slovenska Istra. Sorta 'Refošk' je poznana tudi pod nazivi kot so Teran, Istrijanac, Refošk Istarski, Refosco d'Istria, Refosco del Carso in Terrano d'Istria (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

2.6.2 Botanične lastnosti sorte 'Refošk'

Mladike se razvijajo zgodaj, so obraščene z dlačicami, ravne, vitke, zelene z rdečimi progami (Ripper, 2003). Vršički mladik so svetlo zeleni in zelo kosmati, robovi mladih listov pa so rdečkasti. Listi so nekoliko podolgovati in okroglasti, precej veliki, lahko so tridelni ali celo petdelni. Zgornja stran lista je izrazito zelena, spodnja pa porasla z volnenimi dlačicami. Grozdni pecelj je srednje dolg, močan in do členka olesenel ter zelene ali rdeče barve. Grozd je srednje velik do velik, širok, ima piramidalno obliko ter je srednje nabit in zelo razvejan. Jagode te sorte so srednje debele do debele, okrogle in temno modre barve. Jagodna kožica je debela, sok kiselkast, njeno meso pa sočno. Rozga je lešnikaste barve in srednje debela, na nodijih pa je nekoliko vijoličaste barve. Internodiji so srednje dolgi (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

2.6.3 Agrobiotične značilnosti sorte 'Refošk'

Sorta 'Refošk' je pozna sorta. Spada med zelo bujne sorte in da obilen pridelek. Masa grozda je povprečno od 150 do 250 g. Je dokaj odporna proti oidiju in gnilobi, proti peronospori pa znatno manj. Hladno in deževno vreme nanjo slabo vpliva (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

2.6.4 Tehnološke značilnosti sorte 'Refošk'

Za vinsko trto 'Refošk' so najbolj ugodne visoke gojitvene oblike. Za to sorto se na Krasu uporablja predvsem latnik, ki je že dolgoletna preizkušena oblika gojenja. Vendar pa ima kraški latnik različne pomanjkljivosti, zato so se v današnjem času začele uveljavljati tudi različne nove, nizke gojitvene oblike. Zahteva sorazmerno dolgo rez (7 do 10 očes). Za dobro uspevanje vinske trte 'Refošk' sta potrebni ustrezna lega in površina oziroma zemlja na kateri uspeva. Zemlja mora biti zračna, vsebovati pa mora veliko mineralov, predvsem je pomembno železo. Spada med zahtevne sorte, saj zahteva sončno lego, ne ustrezajo pa ji težka in mokra tla (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

2.7 SORTA 'CABERNET SAUVIGNON'

2.7.1 Splošne značilnosti sorte 'Cabernet Sauvignon'

Sorta 'Cabernet Sauvignon' pripada skupini zahodnoevropskih sort – *Proles occidentalis*, ki izvira iz Francije (Bordeaux). Originalno ime je 'Cabernet Sauvignon noir'. Najbolj razširjena je prav v Franciji, vendar pa raste v vseh vinorodnih deželah zmerne klime in je tako ena izmed svetovno najbolj razširjenih rdečih sort. V Sloveniji jo največ gojimo na Primorskem. Tuja imena pod katerimi lahko zasledimo to sorto so: Cabernet Sauvignon crni, Cabernet Sauvignon Blauer, Petit Cabernet, Vancluse, idr. (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

2.7.2 Botanične lastnosti sorte 'Cabernet Sauvignon'

Vršiček mladike je belkasto rdeč in volneno obrasel. List je srednje velik, večinoma petdelen, lahko tudi sedemdelen. Stranski gornji sinusi lista so precej globoki, pri vrhu zaprti z značilnimi trioglatimi in okroglimi odprtinami. Zgornja stran lista je temno zelena in gladka, spodnja stran pa rahlo pajčevinasta. Površina lista je valovito nabrana, listni pecelj pa je sorazmerno kratek in nekoliko rdečkast. Vitice so slabo razvite. Grozdni pecelj je srednje debel in srednje dolg ter pri osnovi olesenel. Grozd je sorazmerno majhen, cilindričen in zbit, včasih tudi s krilcem. Jagoda je drobna, okrogla, temnomodra z močnim poprhom in debelo kožico. Jagodno meso je sočno, sok sladek, s specifičnim okusom. Rozga je srednje debela, trda s srednje dolgimi internodiji. Je rjave barve, na nekoliko izraščanih nodijih je rjava barva intenzivnejša (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

2.7.3 Agrobiotične značilnosti sorte 'Cabernet Sauvignon'

'Cabernet Sauvignon' je zelo bujna in pozna sorta. Masa grozda se giblje od 50 do 90 g. Spada med sorte, ki dajo sorazmerno nizke pridelke, pri večji obremenitvi pa kakovost pada. Proti peronospori in sivi grozdni plesni je razmeroma odporna sorta, proti oidiju pa nekoliko manj. Proti pozebi je odporna, saj dobro prenaša mraz (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

2.7.4 Tehnološke značilnosti sorte 'Cabernet Sauvignon'

Sorti ustrezajo kordonske in šparonske gojitvene oblike. Zaradi bujnosti zahteva dolgo rez. Pri izbiri zemlje moramo dati poudarek na zračna in topla tla. Sorta je tako glede zemlje kot tudi glede lege zelo občutljiva in izbirčna (Hrček in Korošec-Koruza, 1996).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Vzorci grozdja

Vzorčenje grozdja je potekalo na območju vinorodnega okoliša Slovenska Istra, kjer sta posajeni proučevani sorti letnika 2013. Grozdje smo vzorčili na 17 različnih lokacijah, ki so predstavljene v preglednici 1. V raziskavo smo vključili grozdje sorte 'Cabernet Sauvignon' iz petih različnih lokacij in grozdje sorte 'Refošk' iz 12 različnih lokacij. Skupno je bilo analiziranih 90 vzorcev grozdja.

Ob vsakem vzorčenju smo iz grozdja ene ponovitve obravnave pripravili reprezentativni vzorec stotih (100) grozdnih jagod.

Preglednica 1: Lokacije vzorčenih vinogradov leta 2013 in oznake grozdja

Vzorec	Sorta	Lokacija	Oznaka	Ponovitev
1	'Cabernet Sauvignon'	Debeli Rtič	CS1	6
2	'Cabernet Sauvignon'	Debeli Rtič - Mlade	CS2	6
3	'Cabernet Sauvignon'	Gordia	CS3	6
4	'Cabernet Sauvignon'	Hrvatini	CS4	6
5	'Cabernet Sauvignon'	Labor	CS5	7
6	'Refošk'	Baredi	R1	3
7	'Refošk'	Bonini	R2	5
8	'Refošk'	Kortina	R3	6
9	'Refošk'	Labor	R4	7
10	'Refošk'	Prade - Mlade	R5	4
11	'Refošk'	Prade - Spodaj	R6	4
12	'Refošk'	Purissima	R7	4
13	'Refošk'	Santoma	R8	6
14	'Refošk'	Sečovlje	R9	5
15	'Refošk'	Sečovlje - Mlade	R10	5
16	'Refošk'	Škocjan	R11	5
17	'Refošk'	Škocjan P.P.	R12	5

3.1.2 Reagenti in priprava raztopin

Pri analizah smo uporabili spodnje reagente

- Pufer 3,2: 5 g vinske kisline dodamo 1 N NaOH do pH 3,2 (50 mL). Zatehtali smo 5 g vinske kisline v 34,5 mL vode in počasi dodajali 15,5 mL 1 N NaOH ter mešali. Približno pri pH 3 je prvi preskok, nato se umiri.

- Pufer 1,0: uporabili smo 0,1 N HCl. Pufer 1,0 smo pripravili tako, da smo 8,3 mL 37 % HCl dodali v 1 L deionizirane vode
- Steklena volna
- Zakisan etanol: 0,1 % HCl v 95 % etanolu, oziroma 0,25 mL HCl smo odmerili v 250 mL etanola
- 2 % (v/v) HCl: pripravili smo jo tako, da smo 54 mL HCl dodali 1 L deionizirane vode in premešali.
- Kalijev metabisulfit: za pripravo bisulfitu smo zatehtali 15 g kalijevega metabisulfitu in mu dodali 100 mL deionizirane vode.
- Želatina: 7 g/100 mL, 2 g/100 mL
- Butanolna zmes: Butanolno zmes smo pripravili tako da smo skupaj zmešali 500 mL 12 N HCl, 500 mL n-butanola in 150 mg Fe₂(SO₄)₃.

3.1.3 Določanje osnovne kemijske sestave grozdja z infrardečim spektrometrom (Winescan FT 120, Foss, Danska)

Vzorci grozdja so bili dostavljeni v agroživilski laboratorij na Kmetijsko gozdarskem zavodu Nova Gorica, kjer smo jim določili tehnološko in fenolno zrelost, tako da smo opravili Winescan analizo grozdnega soka. Winescan FT 120 je sodobna naprava proizvajalca FOOS za sočasno določanje več sestavin grozdja in vina. Omogoča hitre analize (približno 30 sekund) parametrov kakovosti grozdja, mošta in vina (1 dan) (Jug, 2012).

Omenjena analiza osnovne kemijske sestave grozdja zajema določitev (Jug, 2012) :

- specifične teže,
- koncentracije skupnih kislin,
- vrednosti pH,
- polifenolni potencial,
- koncentracije vinske kisline in
- koncentracije jabolčne kisline.

3.2 METODE

V povprečnem vzorcu grozdja (100 jagod) posameznega obravnavanja smo določali tehnološko in fenolno zrelost.

3.2.1 Določanje parametrov tehnološke zrelosti grozdja

Za določitev tehnološke zrelosti (razmerje med sladkorji in skupnimi kislinami) smo vzorcem določili maso 100 jagod. Maso 100-tih jagod smo določili s tehtanjem na

elektronski tehnici pri natančnosti ene decimalke. Nato smo iz teh jagod stisnili sok, v katerem smo z uporabo naprave Winescan določili sladkorno stopnjo ($^{\circ}\text{Brix}$), vrednost pH, relativno gostoto, prosti aminokislinski dušik ali FAN (free amino nitrogen), skupne kisline ter jabolčno in vinsko kislino (g/L). Izračunali smo tudi tehnološko zrelost kot razmerje med sladkorno stopnjo ($^{\circ}\text{Brix}$) in skupnimi kislinami (g/L):

$$\text{Tehzrel} = \frac{\text{sladkorna stopnja } (^{\circ}\text{Brix})}{\text{SK } (\frac{\text{g}}{\text{L}})} \quad \dots(1)$$

3.2.2 Določanje parametrov fenolne zrelosti grozdja

Po Gloriejevi metodi (Glorie v Ribéreau-Gayon in sod., 2006b) smo spektrofotometrično določili parametre fenolne zrelosti: koncentracijo celokupnih in ekstrabilnih antocianov ter razmerja med njimi, polifenolni potencial, delež taninov v pečkah in trpkost taninov. Metoda temelji na hitri ekstrakciji antocianov iz kožic pri zmernih pogojih (pH 3,2, kjer so pogoji ekstrakcije primerljivi pogojem vinifikacije) in pri ekstremnih pogojih (pH 1,0, kjer se ekstrahirajo vsi antociani).

Kislo okolje razgradi fosfoproteinsko membrano rastlinske celice, cepi protinske vezi in sprošča vsebino vakuol v kisel medij. Vsi antociani v jagodi se sprostijo v topilo pri pH 1, medtem ko se le »lažje ekstrabilni« antociani sprostijo v medij s pH 3,2. Iz nastalih homogenatov se odstranijo rastlinski delci s filtracijo preko steklene volne. Tako pridobljene bistre filtrate oz. bistre ekstrakte se izpostavi spektrofotometričnemu določanju absorbance (kolikšen del svetlobe raztopina zadrži) svetlobe različnih valovnih dolžin, ki so karakteristične za fenolne spojine v grozdju: pri 280 nm za določanje polifenolnega potenciala ter pri 520 nm za določanje skupnih antocianov. Potem pridobljene absorbance uporabljamo v različnih izračunih, ki nam fizikalne vrednosti (absorbance) pretvorijo v koncentracije, ki nam lahko pove, kakšna je ekstrabilnost antocianov in ostalih fenolov (Nadal, 2010).

3.2.2.1 Priprava vzorca za analizo in postopek ekstrakcije

Polovico vzorca jagod smo zmleli v homogeno kašo. 50 mL homogenata smo odlili v prvo čašo (do oznake 50) in stehali. Enako maso vzorca smo zatehtali v drugo čašo.

V prvem primeru je bil postopek ekstrakcije izpeljan z dodajanjem 50 mL raztopine s pH-vrednostjo 3,2 (5 g vinske kisline + 34,5 mL vode + 15,5 mL 1 N NaOH). V drugem primeru pa z dodajanjem 50 mL raztopine s pH-vrednostjo 1,0 (0,1 N raztopina HCl (8,3 mL 37 % HCl / 1L deionizirane vode), razredčene v destilirani vodi).

Dobro smo premešali in pustili stati štiri ure. Pripravili smo steklene posodice (cca. 100 mL), lije in stekleno volno (v vrat lije).

Vzorci smo po štiriurnem postopku ekstrakcije prefiltrirali. Filtrate smo izpostavili spektrofotometričnim meritvam absorbance pri valovni dolžini 280 nm za določitev polifenolnega potenciala, meritvam absorbance pri valovni dolžini 520 nm pa za določanje vsebnosti skupnih antocianov in deleža taninov iz pečk glede na skupne fenole (Klenar in sod., 2012).

3.2.2.2 Določanje vsebnosti skupnih antocianov

Princip metode temelji na hitri ekstrakciji fenolov iz grozdja pri zmernih pogojih (pH 3,2, kjer so pogoji ekstrakcije primerljivi pogojem vinifikacije) in ekstremnih pogojih (pH 1,0, kjer se ekstrahirajo vsi antociani).

V stekleno posodico smo odpipetirali 1 mL filtrata, 1 mL zakisanega etanola in 20 mL 2 % vodne raztopine HCl ter dobro premešali.

Tako pripravljeno mešanico pH 3,2 smo v nadaljevanju odpipetirali v dve seriji steklenih epruvt, in sicer v vsako po 5 mL.

V eno serijo smo nato dodali 2 mL deionizirane vode (DI H₂O), v drugo pa 2 mL bisulfit (bisulfit: 15g metabisulfit v 100 mL deionizirane vode). Dobro smo premešali in pustili stati 30 minut.

Po 30 minutah smo obema raztopinama, prvi seriji ($A_{DI\ H_2O}$) in drugi seriji ($A_{bisulfit}$), določili absorbanco pri 520 nm. Le to smo nato preračunali v mg/L antocianov po naslednji formuli:

$$Antociani\ (mg/L) = (A_{bisulfit} - A_{DI\ H_2O}) \cdot 875 = A \quad \dots(2)$$

Postopek smo ponovili tudi za raztopino pH 1,0 in tako dobili kvantitativno dva rezultata skupnih antocianov.

$$Potencial\ ekstrabilnih\ antocianov = A_{pH3,2}\ (mg/L) = 2 \cdot A_{3,2} \quad \dots(3)$$

$$Potencial\ skupnih\ antocianov = A_{pH1}\ (mg/L) = 2 \cdot A_1 \quad \dots(4)$$

Z merjenjem absorbance pri 520 nm dobimo torej ekstrabilne ($A_{3,2}$) oziroma celokupne (A_1) antociane ter razmerje med njimi z naslednjo relacijo:

$$Ekstrabilnost = Ea = \frac{(A_1 - A_{3,2})}{A_1} \quad \dots(5)$$

Z zgornjo formulo (5) smo jih preračunali v delež ekstrabilnih antocianov.

3.2.2.3 Določanje polifenolnega potenciala (RPT)

Podatek za polifenolni potencial smo dobili s pomočjo naprave Winescan, po postopku opisanem v poglavju 3.2.1 (določanje parametrov tehnološke zrelosti grozdja).

3.2.2.4 Določitev zrelosti pečk

Na podlagi izmerjenih vrednosti z empirično formulo smo ocenili zrelost pečk (M_p):

$$M_p = \frac{RPT - A_{3,2} \cdot 0.04}{RPT} \quad \dots(6)$$

3.2.2.5 Določitev indeksa želatine

Želatina je bila predhodno pripravljena v dveh koncentracijah: 7 g/100 mL in 2 g/100 mL. Dve različni koncentraciji smo uporabili zato, da smo lahko preizkusili katera nam da bolj bistro raztopino, ki smo jo nato uporabljali za vse vzorce. Odpipetirali smo 2x5 mL vsakega filtrata 3,2 v epruveto in dodali 0,5 mL raztopine (v eno serijo po 70 g/L, v drugo pa 20 g/L). Prepihali smo z dušikom, zaprli z gumijastim zamaškom in jih spravili v hladilnik, da so stali 3 dni.

Nato smo jih določali po postopku opisanem v poglavju 3.2.2.6.

Za določitev trpkosti določimo indeks želatine (IŽ), ki ga izračunamo z naslednjo relacijo:

$$I\check{Z} = \frac{C_{tanini} - C_{po\ želatini}}{C_{tanini}} \cdot 100 \quad \dots(7)$$

Vzorcem grozdja dodamo želatino, ki veže trpke tanine, v raztopini pa ostanejo netrpki, ki jih določimo na enak način kot celokupne.

3.2.2.6 Določitev deleža taninov

Po treh dneh smo odpipetirali 1 mL filtrata 3,2 v 50 mL bučko in razredčili z deionizirano vodo do oznake. Enako smo naredili še iz filtrata po čiščenju z želatino. Odpipetirali smo 1,5 mL v dve seriji epruвет in v vsako dodali 4,5 mL reakcijske zmesi na osnovi butanola.

Raztopino v epruветah smo dobro premešali. Prvo serijo epruвет (z navojnimi zamaški) smo postavili v vodno kopel (97 °C), drugo serijo tudi zaprtih epruвет pa postavili v temo. Čez 30 minut smo vzeli epruветe iz vodne kopeli, jih 10 min hladili in izmerili absorbanco pri 550 nm. Izmerjeno absorbanco prve serije smo označili kot A_{kuh} , absorbanco druge serije pa kot A_{tema} .

Vsebnost taninov je določena z meritvijo absorbanca pri 550 nm po polimerizaciji z butanolno zmesjo.

Izračun skupnih taninov (g/L):

$$\text{Skupni tanini (g/L)} = (A_{kuh} - A_{tema}) \cdot 0,1736 \cdot 50 \quad \dots(8)$$

3.2.3 Statistična analiza

Rezultate, pridobljene iz analiz, smo pripravili in uredili s programom Microsoft Excel 2013 in statistično obdelali s postopki MEANS, UNIVARIATE, GLM in multivariatno metodo LDA. S postopkom MEANS smo izračunali osnovne statistične parametre. S postopkom UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve (SAS Software, 1999). Analiza podatkov je bila izvedena s programsko opremo Statistical Analysis System (SAS) software, version 8.1 (SAS Institute, Cary, NC, ZDA).

Rezultati poskusa so bili analizirani po metodi najmanjših kvadratov s postopkom GLM (General Linear Model), povezave med parametri pa z multivariatno metodo LDA (Linear Discriminant Analysis).

Za analizo vpliva lokacije na kemijske parametre grozdja smo uporabili statistični model, v katerega smo vključili fiksen vpliv lokacije in vpliv ponovitve (relacija 9):

$$y_{ijk} = \mu + L_i + R_j + e_{ijk} \quad \dots(9)$$

kjer je y_{ijk} ijk-to opazovanje, μ je povprečna vrednost, L_i je vpliv lokacije, R_j je vpliv ponovitve in e_{ijk} je ostanek.

Pričakovane povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo LSM testa in primerjane pri 5 % tveganju. Pearsonovi korelacijski koeficienti (r) med izmerjenimi parametri so bili izračunani s postopkom CORR (SAS Software, 1999). Povezave med parametri so bile analizirane po z multivariatno metodo LDA (Linear Discriminant Analysis) (SPSS).

Linearna diskriminatna analiza (LDA) pa se uporablja za ločevanje med dvema ali več skupinami podatkov. Glavni princip delovanja je najti tiste smeri v večvariatnem 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 zaključí, ko poiščemo zadostno število novih smeri, ki zadovoljivo opišejo sistem (Adams, 1998).

4 REZULTATI

4.1 VREMENSKE RAZMERE V OBDOBJU TRAJANJA RAZISKAVE

Meteorološke podatke smo črpali iz arhiva Agencije Republike Slovenije za okolje (ARSO) za obdobje 2012-2014 za tri meteorološke postaje: Portorož-Letališče, Seča in Strunjan. V Portorožu je glavna meteorološka postaja na Obali, v Seči ter Strunjanu pa sta padavinski meteorološki postaji. Meteorološka postaja Seča je na nadmorski višini 2 m (Nadbath, 2006a). Meteorološka postaja v Strunjanu pa je postavljena na nadmorski višini 30 m (Nadbath, 2006b).

Preglednice 2-4 prikazujejo povprečno letno temperaturo, povprečno maksimalno letno temperaturo, povprečno minimalno letno temperaturo, količino padavin, trajanje sonca in povprečno oblačnost v Portorožu za leto 2012, 2013 in 2014.

Leta 2013 je bila v Portorožu povprečna letna temperatura 14 °C. Če gledamo povprečno temperaturo, je bil najtoplejši mesec julij, s temperaturo 24,3 °C in največjim številom sončnih dni. Julij in avgust sta imela tudi najnižji odstotek oblačnosti. Najhladnejši pa je bil februar s povprečno temperaturo 4,8 °C. Najmanj sončnih dni je imel januar. Najmanj padavin je bilo v mesecu juliju, in sicer 5,2 mm, največ padavin pa je padlo novembra, 190,2 mm. Povprečna količina letnih padavin znaša okoli 1055,1 mm.

Povprečna letna maksimalna temperatura (19,1 °C) je bila nižja kot leta 2012 in 2014. Povprečna najnižja temperatura zraka pa je bila malenkost višja, in sicer za 0,4 °C, kot predhodno leto 2012. Leta 2014 se je še zvišala, saj je bila 10,7 °C. Najvišja temperatura ($T_{\text{povp. max}}$) je bila zabeležena julija in je znašala 31 °C, najnižja ($T_{\text{povp. min}}$) pa je bila februarja le 0,9 °C. Vroči dnevi ($T_{\text{max}} \geq 30$ °C) leta 2013 so bili julija in avgusta. Dni s temperaturo pod 0 °C ni bilo.

Leta 2012 so bili vroči dnevi prav tako julija in avgusta, medtem, ko so januarja in februarja temperature padle pod ničlo. Leta 2014 pa glede na povprečje temperatura ni narasla nad 30 °C in prav tako tudi ni padla pod 0 °C. V poletnih mesecih, julija in avgusta, so izmerili najvišje temperature leta 2012. Leta 2013 in še bolj leta 2014 pa so se temperature znižale, vendar so še vedno presegle 21 °C. Na dozorevanje grozdja vplivajo temperature v mesecih od julija do oktobra oziroma do trgatve. Najvišje temperature zorenja so bile zabeležene leta 2012, sledilo je leta 2013, leta 2014 pa so bile najnižje (preglednice 2-4).

Preglednica 2: Vremenske razmere leta 2012 na glavni meteorološki postaji Portorož – Letališče (ARSO, 2016)

2012	Povprečna temperatura (°C)	Povprečna max T (°C)	Povprečna min T (°C)	Količina padavin (mm)	Trajanje sonca (h)	Povprečna oblačnost (%)
Jan	3,5	9,1	-0,5	20,1	149,4	44
Feb	1,5	6,5	-2,7	20,6	166,4	49
Mar	9,9	17	4,1	0,1	269,7	23
Apr	12,8	17,4	8,2	50,4	186,7	59
Maj	16,6	22	11,2	117,2	303,4	42
Jun	22,7	28	16,5	35,1	320,7	36
Jul	25,5	31,2	19,6	6,9	363,1	25
Avg	24,7	31,3	17,5	36,5	358,5	20
Sep	19,8	25,5	15,4	96,5	188,8	51
Okt	14,9	20,3	11,4	88,2	160,6	51
Nov	11,7	16,3	8,2	145,2	96,7	59
Dec	5	9,5	1,5	72,9	107,7	59
Leto	14	19,5	9,2	689,7	2671,7	43

Preglednica 3: Vremenske razmere leta 2013 na glavni meteorološki postaji Portorož – Letališče (ARSO, 2016)

2013	Povprečna temperatura (°C)	Povprečna max T (°C)	Povprečna min T (°C)	Količina padavin (mm)	Trajanje sonca (h)	Povprečna oblačnost (%)
Jan	5,6	9,3	2,4	89,6	71,8	65
Feb	4,8	9,4	0,9	99,2	117,3	60
Mar	7,4	12	4	166,2	117,8	67
Apr	13,2	18,3	8,5	75,1	194	54
Maj	16,5	20,9	12,4	118,5	211,2	59
Jun	20,5	26,2	15	63,8	325,3	35
Jul	24,3	31	18,1	5,2	360,9	25
Avg	23,2	30,1	17,2	53,1	332,9	25
Sep	18,9	24,7	14,6	77,8	225,5	47
Okt	15,3	19,9	11,9	95,3	123,2	66
Nov	11,1	15,1	7,4	190,2	100,5	63
Dec	6,9	12,1	3,3	21,1	129,9	50
Leto	14	19,1	9,6	1055,1	2310,3	51

Preglednica 4: Vremenske razmere leta 2014 na glavni meteorološki postaji Portorož – Letališče (ARSO, 2016)

2014	Povprečna temperatura (°C)	Povprečna max T (°C)	Povprečna min T (°C)	Količina padavin (mm)	Trajanje sonca (h)	Povprečna oblačnost (%)
Jan	9,4	12	6,5	87,6	28,6	84
Feb	9,8	13,6	6,3	171,7	83,4	73
Mar	10,8	16,4	6,1	47,4	212,4	43
Apr	13,9	19	9	124,1	170	60
Maj	16,2	21,6	10,9	89	245,8	51
Jun	21,6	27,2	15	55	308,2	42
Jul	21,7	26,9	17,1	264,7	254,3	51
Avg	21,5	27	17	94,5	286	39
Sep	17,9	23,2	13,9	208,5	187,3	51
Okt	15,4	21,2	11,6	115,4	181,6	42
Nov	13	17	10,2	139,3	91,6	64
Dec	7,8	11,2	5	65,2	78,5	67
Leto	14,9	19,7	10,7	1462,4	2127,7	56

Preglednica 5: Primerjava količine padavin med leti 2012, 2013, 2014 na glavni meteorološki postaji Portorož – Letališče (ARSO, 2016)

Leto	Povprečna temperatura (°C)	Količina padavin (mm)	Trajanje sonca (h)	Povprečna oblačnost (%)
2012	14	689,7	2671,7	43
2013	14	1055,1	2310,3	51
2014	14,9	1462,4	2127,7	56

Preglednica 5 prikazuje povprečno letno temperaturo, količino padavin, trajanje sonca in povprečno oblačnost v Portorožu za leto 2012, 2013 in 2014. Povprečna letna temperatura je bila leta 2013 enaka kot leta 2012. Nekoliko višja je bila naslednje leto 2014. Sončnega vremena je bilo manj kot predhodno leto 2012. Padavine so bile pogostejše in obilnejše kot v povprečju leta 2012. Najmanj padavin so zabeležili leta 2012, največ pa leta 2014.

Preglednica 6: Primerjava količine padavin leta 2013 v Seči in Strunjanu (ARSO, 2016)

2013	SEČA količina padavin (mm)	STRUNJAN količina padavin (mm)
Jan	99,7	109,4
Feb	91,4	104,2
Mar	175,6	190,8
Apr	87,4	71,2
Maj	129,3	125,7
Jun	41,5	37
Jul	2,7	12,4
Avg	51,4	47,9
Sep	110	135,6
Okt	96	85,2
Nov	186,7	181,4
Dec	22,1	23,1
Leto	1093,8	1123,9

Iz preglednice 6 je razvidno, da je bilo v Seči najmanj padavin v mesecu juliju, saj je padlo samo 2,7 mm padavin. Mesec z najbolj obilnimi padavinami pa je bil november, zapadlo je 186,7 mm padavin. V Strunjanu je bilo najmanj padavin v mesecu juliju, ko je padlo 12,4 mm padavin, največ padavin pa je padlo v marcu, in sicer 190,8 mm padavin.

Preglednica 7: Primerjava količine padavin med leti 2012, 2013, 2014 v Seči in Strunjanu (ARSO, 2016)

Leto	SEČA količina padavin (mm)	STRUNJAN količina padavin (mm)
2012	713,8	811,2
2013	1093,8	1123,9
2014	1584,2	1544,5

Leta 2013 je v obeh krajih padlo več padavin kot predhodno leto, in manj kot naslednje leto. Leta 2013 je v Strunjanu padlo 30,1 mm več padavin kot v Seči (preglednica 7).

4.2 DOLOČANJE PARAMETROV TEHNOLOŠKE ZRELOSTI GROZDJA

4.2.1 Rezultati tehnološke zrelosti grozdja sorte 'Cabernet Sauvignon'

Preglednica 8: Razlike v osnovni kemijski sestavi, vrednosti pH grozdja treh 'Cabernet Sauvignon' iz različnih vinorodnih leg v letniku 2013

Parameter	Vinorodne lege					p _i	SEM
	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5		
Brix	20,6 ^c	23,2 ^a	21,9 ^b	21,1 ^c	19,4 ^d	<0,0001	1,2
FAN	26,4 ^d	20,7 ^d	53,2 ^a	32,3 ^c	47,2 ^b	<0,0001	8,89
JK	1,7 ^c	1,5 ^c	1,4 ^c	2,5 ^b	4,0 ^a	<0,0001	0,6
pH	3,24 ^c	3,29 ^b	3,35 ^a	3,23 ^c	3,04 ^d	<0,0001	0,07
RG	1,0881 ^{cd}	1,0996 ^a	1,0939 ^b	1,0901 ^{cb}	1,0833 ^d	<0,0001	0,0074
SK	6,7 ^c	6,1 ^c	6,5 ^c	7,4 ^b	9,4 ^a	<0,0001	1,0
Tehzrel	3,1 ^{cb}	3,9 ^a	3,4 ^b	2,9 ^c	2,1 ^d	<0,0001	0,5
VK	7,3 ^{ba}	6,8 ^b	7,7 ^a	7,4 ^{ba}	7,8 ^a	0,0083	0,9

Legenda: Brix - sladkorna stopnja (°Brix); FAN - prosti aminokislinski dušik (free amino nitrogen); JK - koncentracija jabolčne kisline (g/L); pH – vrednost pH; SK - koncentracija skupnih kislin (g/L); Tehzrel - tehnološka zrelost oziroma razmerje med sladkorno stopnjo (°Brix) in skupnimi kislinami (g/L); VK - koncentracija vinske kisline (g/L). Značilnost vpliva: $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv, p_i – statistična verjetnost vpliva lege; SEM, standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (^{a-d}) se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med legami).

Iz preglednice 8 je razvidno, da so se vrednosti pH gibale od 3,04 do 3,35, vsebnosti skupnih kislin (TA) pa od 6,1 do 9,4 g/L. Vsebnost jabolčne kisline (JK) je variirala med 1,4 in 4,0 g/L, vinske kisline (VK) pa med 6,8-7,8 g/L. Najnižji pH smo zabeležili pri vzorcu CS5, najvišji pH pa je imel vzorec CS3. Velika variabilnost v vsebnosti jabolčne kisline nakazuje na neenakomerno zrelost grozdja v posameznih vinogradih, ki so bili del raziskave. Sladkorna stopnja, izražena v °Brix, se giblje med 19,4 in 23,2. Največjo sladkorno stopnjo smo izmerili v vzorcu CS2, sledili so vzorci CS3, CS4, CS1 in z najmanjšo vsebnostjo CS5.

4.2.2 Rezultati tehnološke zrelosti grozdja sorte 'Refošk'

Preglednica 9: Razlike v osnovni kemijski sestavi, vrednosti pH grozdja treh 'Refošk' iz različnih vinorodnih leg v letniku 2013

Parameter	Vinorodne lege												p _i	SEM
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12		
Brix	19,8 ^{cde}	20,0 ^{cde}	21,6 ^b	19,2 ^{de}	20,7 ^{cb}	18,7 ^f	23,3 ^a	19,1 ^{de}	18,9 ^{fe}	19,4 ^{de}	18,7 ^f	20,2 ^{cd}	0,3066	30,6
FAN	56,1 ^a	41,4 ^{bc}	17,2 ^f	39,8 ^{bc}	48,5 ^{ba}	56,5 ^a	28,1 ^{de}	43,5 ^b	33,6 ^{dc}	44,9 ^b	19,3 ^{fe}	13,5 ^f	0,1136	9,46
JK	4,1 ^e	5,2 ^{cd}	5,7 ^{cb}	7,2 ^a	4,5 ^{cd}	7,2 ^a	4,1 ^e	5,6 ^{cb}	6,2 ^b	6,3 ^b	4,5 ^{cd}	5,0 ^{cd}	<0,0001	1,0
pH	3,06 ^{bde}	3,02 ^{sd}	2,96 ^f	2,95 ^f	3,07 ^{bac}	3,02 ^{sd}	3,08 ^{ba}	2,98 ^{ef}	3,04 ^{bdc}	3,11 ^a	2,95 ^f	2,94 ^f	<0,0001	0,07
RG	1,0848 ^{cde}	1,0856 ^{cde}	1,0933 ^b	1,0826 ^{cde}	1,0887 ^{cb}	1,0795 ^e	1,1003 ^a	1,0820 ^{dc}	1,0807 ^{de}	1,0826 ^{cde}	1,0798 ^e	1,0864 ^{cd}	<0,0001	0,0076
SK	9,6 ^{ed}	10,3 ^{bed}	10,8 ^{bc}	12,1 ^a	10,1 ^{ecd}	12,0 ^a	9,4 ^e	11,1 ^{ba}	10,6 ^{bc}	10,1 ^{bed}	10,5 ^{bed}	10,4 ^{bed}	<0,0001	1,2
Tehzrel	2,1 ^b	2,0 ^{cbd}	2,1 ^{cb}	1,6 ^e	2,1 ^{cb}	1,6 ^e	2,5 ^a	1,8 ^{ed}	1,8 ^{ced}	1,9 ^{cbd}	1,8 ^{ed}	2,0 ^{cbd}	<0,0001	0,3
VK	7,9 ^{bc}	7,4 ^{ecd}	7,3 ^{ed}	7,7 ^{bed}	8,1 ^{ba}	7,6 ^{bed}	7,7 ^{bed}	8,1 ^{ba}	7,1 ^e	6,5 ^f	8,5 ^a	7,7 ^{bed}	<0,0001	0,7

Legenda: Brix - sladkorna stopnja (°Brix); FAN - prosti aminokislinski dušik (free amino nitrogen); JK - koncentracija jabolčne kisline (g/L); pH – vrednost pH; SK - koncentracija skupnih kislin (g/L); Tehzrel - tehnološka zrelost oziroma razmerje med sladkorno stopnjo (°Brix) in skupnimi kislinami (g/L); VK - koncentracija vinske kisline (g/L). Značilnost vpliva: $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv, p_i – statistična verjetnost vpliva lege; SEM, standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (^{a-f}) se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med legami).

Vrednosti pH so se gibale od 2,94 do 3,11, vsebnosti skupnih kislin pa od 9,4 do 12,1 g/L (preglednica 9). Vsebnosti jabolčne kisline so bile v razponu od 4,1 in 7,2 g/L, vinske kisline pa med 6,5 do 8,5 g/L. Velika variabilnost v vsebnosti jabolčne kisline nakazuje na neenakomerno zrelost grozdja v posameznih vinogradih, ki so bili del raziskave, enako kot smo ugotovili pri sorti 'Cabernet Sauvignon'. Najnižji pH je imel vzorec R12, najvišji pH pa R10. Sladkorna stopnja se je gibala med 18,7 in 23,3 °Brix. Največjo sladkorno stopnjo smo zabeležili pri vzorcu R7 (23,3 °Brix), najmanjšo pa pri vzorcu R11 (18,7 °Brix).

4.3 DOLOČANJE PARAMETROV FENOLNE ZRELOSTI GROZDJA

4.3.1 Rezultati fenolne zrelosti grozdja 'Cabernet Sauvignon'

Pomembna ni le celokupna vsebnost antocianov, ampak tudi njihova ekstrabilnost oziroma izlužljivost; to je parameter, s katerim povemo kakšen delež celotne količine antocianov preide iz kožic v sok, ki gre potem na fermentacijo. Z zrelostjo ta parameter narašča. Pri takšni oceni nam lahko pomaga parameter, do katerega pridemo s pomočjo metode za določanje fenolne zrelosti po Gloriesu. Po tej metodi primerjamo vsebnost antocianov, ki preide v sok med maceracijo grozdja (izluženi v medij pH 3,2) s celotno vsebnostjo antocianov (izluženi v medij pH 1,0).

Preglednica 10: Razlike v fenolni sestavi grozdja treh 'Cabernet Sauvignon' iz različnih vinorodnih leg v letniku 2013

Parameter	Vinorodne lege					p _i	SEM
	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5		
ANT	652 ^c	858 ^a	697 ^{cb}	738 ^b	753 ^b	<0,0001	109
astr	38 ^{ba}	41 ^{ba}	32 ^b	44 ^a	45 ^a	0,0863	15
celANT	2617 ^b	3117 ^a	2599 ^b	2350 ^{cb}	2205 ^c	<0,0001	448
EA	50 ^a	45 ^a	45 ^a	36 ^b	30 ^b	<0,0001	9
int_astr	24,0 ^a	33 ^a	30 ^a	39 ^a	33 ^a	0,485	25
izlANT	1304 ^c	1717 ^a	1393 ^{cb}	1476 ^b	1506 ^b	<0,0001	218
Mp	66 ^b	59 ^c	69 ^a	64 ^b	62 ^b	<0,0001	5
ne_astr	1,01 ^a	0,96 ^a	0,90 ^a	0,83 ^a	0,87 ^a	0,5492	0,35
RPT	75,43 ^d	83,31 ^b	90,24 ^a	82,64 ^{cb}	79,97 ^c	<0,0001	4,08
tanini	1,65 ^a	1,56 ^a	1,36 ^a	1,45 ^a	1,57 ^a	0,3776	0,47

Legenda: ANT - koncentracija antocianov (mg/L) preračunana iz izmerjene absorbance pri 520 nm; celANT - koncentracija skupnih antocianov (izluženi v medij pH 1,0); izlANT - koncentracija izluženih (ekstrabilnih) antocianov (izluženi v medij pH 3,2); EA - delež ekstrabilnih antocianov, astr - astringenca oziroma trpkost; int_astr - delež trpkih taninov; ne_astr - delež netrpkih taninov; tanini - delež skupnih taninov (g/L); Mp - zrelost pečk (delež taninov v pečkah); RPT - polifenolni potencial. Značilnost vpliva: $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv, p_i – statistična verjetnost vpliva lege; SEM, standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (^{a-d}) se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med legami).

Vzorec CS2 je najbolj bogat z antociani, sledita mu CS4, CS5 in CS3, najmanj antocianov pa vsebuje vzorec CS1. Podatki o izmerjeni trpkosti oziroma astringenci pokažejo največjo vrednost pri vzorcih CS5, CS4 in CS2, najmanjšo vrednost pa ima vzorec CS3. V vsebnosti taninov med vzorci ni statističnih razlik. Podatki o vsebnosti antocianov, izluženih v medija s pH 3,2 in pH 1,0, so nam dali podatke o izlužljivosti antocianov grozdja sorte CS. Primerjava tega parametra med posameznimi vinogradi kaže na to, da se pri veliki večini vzorcev lahko izluži približno polovica vseh razpoložljivih ali dostopnih antocianov (ne glede na koncentracijo antocianov in mesto vzorčenja). Nižja kot je

vrednost EA, torej manjša kot je razlika med izmerjenimi antociani v mediju pH 3,2 in pH 1,0, bolj oziroma lažje ekstrahilni so antociani (Ribéreau -Gayon in sod., 2006b). 'Cabernet Sauvignon' s svojo debelo, močno kožico pokaže višje vrednosti EA v primerjavi s sorto 'Refošk'. Najbolj ekstrahilni so bili antociani vzorca CS5, vendar razlike med vzorci niso statistično značilne.

Višja kot je vrednost Mp, večja je vsebnost taninov v pečkah in večje je tveganje, da bo imelo to negativen vpliv na aromo vina. Mp se med zorenjem zmanjšuje. Če imajo pečke veliko vsebnost taninov ($Mp > 50$), je treba biti pazljiv pri predelavi grozdja v vino, da se v vino ne izloči preveč agresivnih taninov (Ribéreau-Gayon in sod., 2006b). Vzorci iz vseh lokacij so imeli veliko vsebnost taninov v pečkah, saj smo določili vrednosti Mp v razponu od 59 (CS2) do 69 (CS3). Statistična verjetnost vpliva vinorodne lege (p_1) je bila pri šestih parametrih fenolne zrelosti statistično zelo visoko značilna.

4.3.2 Rezultati fenolne zrelosti grozdja 'Refošk'

Preglednica 11: Razlike v fenolni sestavi grozdja treh 'Refošk' iz različnih vinorodnih leg v letniku 2013

Parameter	Vinorodne lege												p ₁	SEM
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12		
ANT	1026 ^{dc}	788 ^{fe}	1240 ^a	946 ^d	1189 ^{ba}	816 ^e	1062 ^c	686 ^{fg}	587 ^g	595 ^g	808 ^e	1097 ^{bc}	<0,0001	145
astr	41 ^{ba}	43 ^{ba}	38 ^b	44 ^{ba}	43 ^{ba}	56 ^a	52 ^{ba}	51 ^{ba}	48 ^{ba}	51 ^{ba}	47 ^{ba}	44 ^{ba}	0,2225	19
celANT	2872 ^d	2306 ^e	3596 ^a	2826 ^d	3401 ^{ba}	2170 ^{fc}	3074 ^{dc}	2086 ^{fe}	1886 ^{fg}	1691 ^g	2214 ^e	3237 ^{bc}	<0,0001	1
EA	29 ^{ba}	32 ^{ba}	30 ^{ba}	32 ^{ba}	29 ^b	25 ^b	30 ^{ba}	33 ^{ba}	37 ^a	29 ^{ba}	27 ^b	31 ^{ba}	<0,0001	402
int_astr	43 ^{ba}	40 ^{ba}	28 ^b	30 ^b	40 ^{ba}	50 ^{ba}	45 ^{ba}	47 ^{ba}	58 ^a	48 ^{ba}	44 ^{ba}	34 ^{ba}	<0,0001	12
izlANT	2051 ^{dc}	1576 ^{fe}	2480 ^a	1893 ^d	2378 ^{ba}	1632 ^e	2124 ^c	1372 ^{fg}	1174 ^g	1189 ^g	1615 ^e	2193 ^{bc}	<0,0001	290
Mp	52 ^e	61 ^{bc}	38 ^g	53 ^{de}	46 ^f	62 ^{bc}	52 ^e	66 ^{ba}	70 ^a	71 ^a	58 ^{dc}	42 ^{gf}	<0,0001	8
ne_astr	0,66 ^b	0,73 ^{ba}	0,99 ^a	0,85 ^{ba}	0,69 ^{ba}	0,62 ^b	0,81 ^{ba}	0,70 ^{ba}	0,57 ^b	0,60 ^b	0,69 ^b	0,80 ^{ba}	0,0407	0,35
RPT	85,32 ^{ba}	80,70 ^{dc}	80,45 ^{dc}	81,71 ^{bc}	88,28 ^a	85,15 ^{ba}	87,96 ^a	80,89 ^{dc}	77,70 ^{dc}	81,93 ^{bc}	76,61 ^e	75,94 ^e	<0,0001	4,48
tanini	0,80 ^c	1,21 ^{ba}	1,59 ^a	1,52 ^a	1,18 ^{bac}	1,31 ^{ba}	1,57 ^a	1,37 ^{ba}	1,05 ^{bc}	1,22 ^{ba}	1,31 ^{ba}	1,45 ^{ba}	0,0016	0,48

Legenda: ANT - koncentracija antocianov (mg/L) preračunana iz izmerjene absorbance pri 520 nm; celANT - koncentracija skupnih antocianov (izluženi v medij pH 1,0); izlANT - koncentracija izluženih (ekstrahilnih) antocianov (izluženi v medij pH 3,2); EA - delež ekstrahilnih antocianov, astr - astringenca oziroma trpkost; int_astr - delež trpkih taninov; ne_astr - delež netrkkih taninov; tanini - delež skupnih taninov (g/L); Mp - zrelost pečk (delež taninov v pečkah); RPT - polifenolni potencial. Značilnost vpliva: $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv, p_1 – statistična verjetnost vpliva sorte; SEM, standardna napaka povprečja; vrednosti z različno nadpisano črko znotraj vrstice (^{a-d}) se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$; značilnost razlik med legami).

Vzorca R3 in R5 sta najbolj bogata z antociani, sledijo mu R7 in R1, ki imajo vsebnost tudi nad 1000 mg/L (preglednica 11). Značilno najmanj antocianov so v povprečju vsebovali vzorci R8 (686 mg/L), R9 (587 mg/L) in R10 (595 mg/L). Podatki o izmerjeni astringenci pokažejo najvišjo vrednost pri vzorcu R6 (56), najnižjo vrednost pa pri vzorcu R3 (38).

Vzorec R3 ima največjo koncentracijo taninov (1,59 g/L), sledita mu R7 in R4, medtem ko ima vzorec R1 najmanjšo (0,80 g/L).

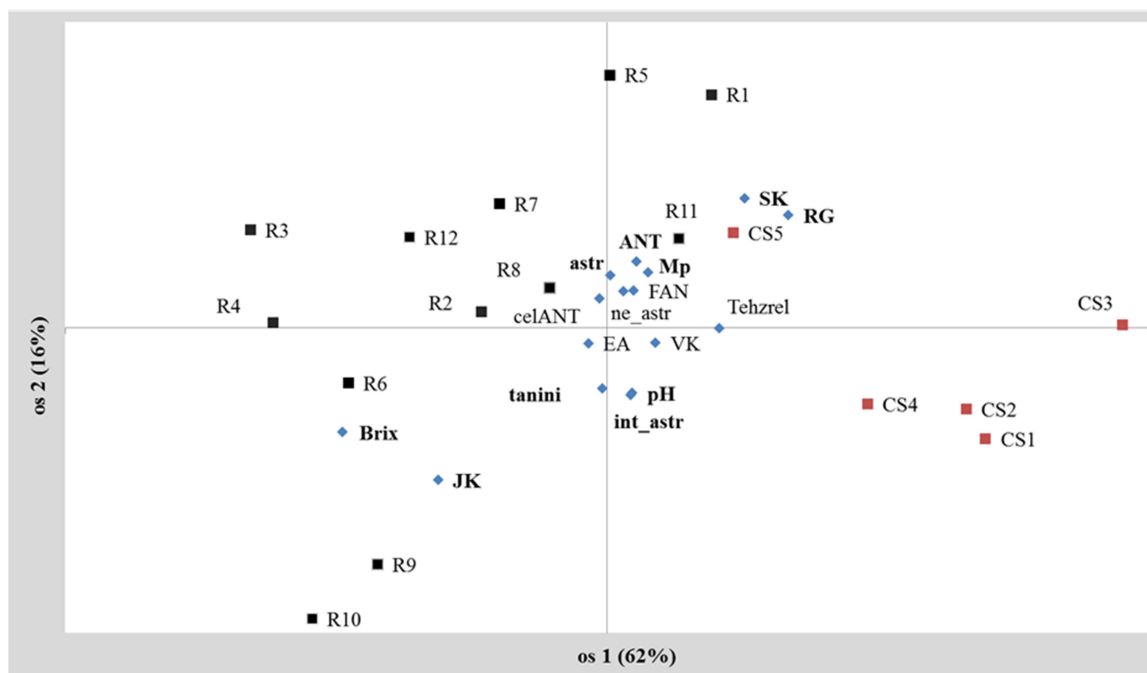
Najbolj ekstrabilni so bili antociani vzorca R6, saj ima najnižjo vrednost EA (25) v primerjavi z vzorcem R9, katerega povprečna vrednost EA je bila največja (37). Vzorci iz vseh lokacij so imeli veliko vsebnost taninov v pečkih ($M_p > 50$), razen R3, R5 in R12. Statistična verjetnost vpliva lege (p_1) je bila pri sedmih parametrih fenolne zrelosti statistično zelo visoko značilna.

4.4 REZULTATI MULTIVARIATNE ANALIZE

Dobljene rezultate smo uporabili v linearni diskriminatni analizi (LDA), ki nam je na podlagi 18 parametrov (vsi parametri izmerjeni v grozdju dveh sort različnih leg) omogočila 93 % pravilno razvrstitev vzorcev glede na lokacijo pridelanega grozdja sort 'Cabernet Sauvignon' in 'Refošk' v 17 skupin.

Vsaka diskriminatna funkcija (os) predstavlja neodvisen vzrok variabilnosti, torej so sosednje lastnosti v pozitivni korelaciji, lastnosti, ki so med seboj pravokotne (90°) so neodvisne, in lastnosti, ki so si nasproti (180°) so v negativni korelaciji. Vse diskriminatne funkcije so linearne kombinacije lastnosti, pri čemer lastnost, katere pravokotna projekcija na določeno diskriminantno funkcijo je največja, predominantno opredeljuje to diskriminatno funkcijo.

Z analizo LDA smo določili najpomembnejše parametre pri determiniranju prve osi, in sicer relativno gostoto (RG), skupne kisline (SK) in tehnološko zrelost (Tehzrel) na pozitivni strani ter vsebnost sladkorjev (Brix) in jabolčno kislino (JK) na negativni strani grafa. Int_astr, pH in tanini ter ANT, M_p in ast pa so parametri, poglobitni pri determiniranju druge osi, saj je njihova pravokotna projekcija na to ordinato največja (Slika 1). Lastnosti, ki ležijo blizu druga drugi, so v visoki pozitivni korelaciji, kot sta npr. FAN in ne_astr. Parametri, ki leže blizu izhodišča (FAN, JK, RG in pH), ne vplivajo pomembno na diskriminatni funkciji in na porazdelitev različnih vzorcev v skupine, parameter izLANT pa je bil iz analize LDA izločen kot nepomemben. Pri LDA analizi (90 vzorcev, 17 parametrov) smo dobili šestnajst diskriminatnih osi. Os 1 pojasnjuje 62 % skupne variance, os 2 16 %, os 3 9 %, ostalih trinajst osi (4-16) pa skupaj 14 %.



Slika 1: Projekcija podatkov o kemijskih parametrih grozdja 'Cabernet Sauvignon' in 'Refošk' iz različnih leg vinogradov, v ravnini, definirani s prvima dvema diskriminatnima funkcijama (LDA)

Dobljene podatke o profilu grozdja smo uporabili za razvrščanje vzorcev v skupine (slika 1), kjer lahko opazimo več skupin. Grozdje sort 'Cabernet Sauvignon' leži na desni strani grafa, na levi strani pa je grozdje sort 'Refošk', kjer sta izražena parametra Brix in JK.

Preglednica 12: Porazdelitev vinogradniških lokacij dveh sort grozdja na podlagi analize LDA

Skupina	%	Predvidena eksperimentalna skupina																Skupaj	
		CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11		R12
Originalna skupina																			
CS1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
CS2	0	83	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
CS3	0	17	83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
CS4	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
CS5	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
R1	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
R2	0	0	0	0	0	0	80	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	100
R3	0	0	0	0	0	0	0	83	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	100
R4	0	0	0	0	0	0	0	14	86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
R5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	100
R6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	100
R7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	100
R8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	100
R9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	100
R10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	80	0	0	0	100
R11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	100
R12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100

Preglednica 12 prikazuje uvrstitev vinogradniških leg dveh proučevanih sort grozdja v pričakovane skupine, na podlagi analize LDA. Iz preglednice je razvidno odstopanje za dva vzorca, in sicer CS5 in R11, ki na sliki 1 ležita skupaj v desnem zgornjem kvadrantu. Zelo podobna sta si tudi vzorca R3 (83 %) in R7 (17 %) v levem zgornjem kvadrantu, ki se tudi glede na deleže, napisane v oklepajih, nista dobro porazdelila. Popolno 100 % ujemanje originalnih in pričakovanih ali predvidenih skupin smo dobili pri vzorcih CS1, CS5, R1, R5, R6, R11 in R12.

Med 14-20 % podobnosti pa zasledimo med naslednjimi vzorci (preglednica 12):

- CS2 s CS3 in CS4,
- R2 z R8,
- R3 z R4 in R7 ter
- med R9 in R10.

Preglednica 13: Pearsonovi korelacijski koeficienti med spremenljivkami (uporabljeni v LDA analizi)

N=270	Brix	RG	SK	pH	VK	JK	FAN	RPT	Tehzrel	ANT	izlANT	celANT	EA	Mp	tanini	ne_ast	astr	int_ast
Brix	1,00	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	**	***	***	***	***
RG	0,90	1,00	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	*	***	***	***	***
SK	-0,69	-0,60	1,00	***	***	***	*	ns	***	*	*	***	***	**	***	***	***	***
pH	0,61	0,56	-0,89	1,00	***	***	ns	***	***	***	***	*	***	***	***	***	***	***
VK	-0,36	-0,32	0,44	-0,31	1,00	***	ns	***	***	ns	ns	ns	ns	ns	***	***	***	***
JK	-0,66	-0,57	0,96	-0,82	0,21	1,00	**	ns	***	ns	ns	***	***	*	***	***	***	***
FAN	-0,35	-0,30	0,13	0,07	-0,09	0,19	1,00	***	**	***	***	***	***	***	**	**	ns	ns
RPT	0,36	0,32	-0,10	0,40	0,30	-0,11	0,27	1,00	**	*	*	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Tehzrel	0,79	0,70	-0,94	0,87	-0,44	-0,89	-0,19	0,19	1,00	ns	ns	***	***	ns	***	***	***	***
ANT	0,28	0,25	0,15	-0,24	0,08	0,10	-0,25	0,14	-0,05	1,00	***	***	***	***	***	***	**	***
izlANT	0,28	0,25	0,15	-0,24	0,08	0,10	-0,25	0,14	-0,05	1,00	1,00	***	***	***	***	***	**	***
celANT	0,61	0,55	-0,22	0,13	0,01	-0,26	-0,41	0,23	0,34	0,76	0,76	1,00	***	***	***	***	***	***
EA	0,45	0,40	-0,54	0,55	-0,10	-0,54	-0,20	0,11	0,55	-0,37	-0,37	0,30	1,00	***	***	***	ns	**
Mp	-0,18	-0,16	-0,17	0,34	0,00	-0,13	0,32	0,12	0,10	-0,96	-0,96	-0,70	0,40	1,00	***	***	***	***
tanini	0,54	0,49	-0,40	0,30	-0,38	-0,33	-0,18	0,02	0,42	0,21	0,21	0,44	0,31	-0,20	1,00	***	*	***
ne_ast	0,54	0,49	-0,51	0,38	-0,43	-0,44	-0,17	-0,03	0,50	0,26	0,26	0,46	0,26	-0,27	0,81	1,00	***	***
astr	-0,26	-0,22	0,40	-0,30	0,30	0,35	0,03	0,11	-0,33	-0,18	-0,18	-0,23	-0,05	0,22	-0,15	-0,64	1,00	***
int_ast	-0,46	-0,40	0,48	-0,37	0,40	0,40	0,11	0,02	-0,42	-0,27	-0,27	-0,40	-0,18	0,28	-0,64	-0,86	0,78	1,00

Legenda: Brix - sladkorna stopnja (°Brix); FAN - prosti aminokislinski dušik (free amino nitrogen); JK - koncentracija jabolčne kisline (g/L); pH – vrednost pH; SK - koncentracija skupnih kislin (g/L); Tehzrel - tehnološka zrelost oziroma razmerje med sladkorno stopnjo (°Brix) in skupnimi kislinami (g/L); VK - koncentracija vinske kisline (g/L); ANT - koncentracija antocianov (mg/L) preračunana iz izmerjene absorbance pri 520 nm; celANT koncentracija skupnih antocianov (izluženi v medij pH 1,0); izlANT - koncentracija izluženih (ekstrabilnih) antocianov (izluženi v medij pH 3,2); EA - delež ekstrabilnih antocianov, astr - astringenca oziroma trpkost; int_ast - delež trpkih taninov; ne_ast - delež netrpkih taninov; tanini - delež skupnih taninov (g/L); Mp - zrelost pečk (delež taninov v pečkih); RPT - polifenolni potencial. Značilnost vpliva: *** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv; ns – statistično neznačilen vpliv

V preglednici 13 so prikazane korelacije med spremenljivkami, ki smo jih določili s pomočjo Pearsonovih koeficientov (r). Statistično značilna povezava med parametroma je označena s simbolom ***.

Sladkorna stopnja (°Brix) je v statistično značilni in visoki ($p \leq 0,001$) pozitivni povezavi z relativno gostoto (0,90), Tehzrel (0,79), pH (0,61), celANT (0,61), tanini (0,54), ne_ast (0,54), EA (0,45), RPT (0,36), ANT (0,28), izlANT (0,28). Najbolj tesno pozitivno povezavo (vrednost koeficienta je najbližje 1) ima torej z relativno gostoto ($r = 0,90$), ki ji sledita Tehzrel (0,79) in celANT (0,61). Negativno povezavo pa ima s parametri SK (-0,69), JK (-0,66), int_ast (-0,46), VK (-0,36), FAN (-0,35), astr (-0,26). Najmanj tesno negativno povezavo pa ima s parametrom Mp (-0,18). Skoraj enako se obnaša relativna gostota, le s parametrom Mp (-0,16) je še v manjši negativni povezavi kot sladkorna stopnja.

Značilna visoka negativna povezava se je pokazala tudi med skupnimi kislinami in EA (-0,54), ne_astr (-0,51) tanini (-0,40), ter celANT (-0,22). Med skupnimi kislinami in parametroma fenolne zrelosti int_astr (0,48) ter neastr (0,40), pa smo ugotovili pozitivno korelacijo.

Prav glede tehnološke zrelosti je zanimiva še dodatna ugotovitev, da je poleg znanih negativnih zvez med Tehzrel in SK (-0,94), VK (-0,44) in JK (-0,89), šibka negativna korelacija tudi s FAN (-0,19), s parametri fenolni zrelosti pa so negativne korelacije z antociani (ANT, izlANT in celANT) in trpkostjo (astr in int_astr).

5 SKLEPI

Na osnovi rezultatov spremljanja parametrov fenolne in tehnološke zrelosti med dozorevanjem grozdja žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera L.*) izbranih sort 'Refošk' in 'Cabernet Sauvignon' ter vpliva lege vinogradov na proučevane parametre smo prišli do naslednjih ugotovitev:

- Sorti grozdja se med seboj razlikujeta v proučevanih parametrih fenolne in tehnološke zrelosti.
- V okviru posamezne sorte istega letnika so značilne razlike glede na lego oziroma lokacijo vinograda.
- Vinorodne lege sorte 'Cabernet Sauvignon' Debeli Rtič (CS1), Labor (CS5), in vinorodne lege Baredi (R1), Prade – Mlade (R5), Prade – Spodaj (R6), Škocjan (R11) in Škocjan P.P. (R12), kjer smo vzorčili grozdje sorte 'Refošk' se popolnoma ujemajo v originalnih in predvidenih skupinah, v katere smo jih razvrstili glede na dobljene podatke o profilu grozdja.
- Grozdje sort 'Cabernet Sauvignon' leži na desni strani grafa (slika 1), na levi strani pa je grozdje sort 'Refošk', kjer sta izražena parametra sladkorna stopnja (Brix) in jabolčna kislina (JK). Odstopata pa legi Labor (CS5) in Škocjan (R11), ki na sliki 1 ležita skupaj v desnem zgornjem kvadrantu.
- Na podlagi analize LDA smo ugotovili, da so si vzorci sorte 'Cabernet Sauvignon' na legi Debeli Rtič - Mlade ter Gordia (CS3) in Hrvatini (CS4) zelo podobni.
- Na podlagi analize LDA smo ugotovili, da sta vzorca sorte 'Refošk' iz vinorodnih leg Kortina in Purissima zelo podobna, prav tako tudi legi Bonini (R2) in Santoma (R8) ter legi Sečovlje (R9) in Sečovlje - Mlade (R10), podobnosti pa smo zasledili tudi med legami Kortina (R3) z Labor (R4) in Purissima (R7) kljub temu, da so lokacije precej oddaljene.
- Sladkorna stopnja ($^{\circ}$ Brix) je v statistično značilni in visoki ($p \leq 0,001$) pozitivni povezavi z relativno gostoto, Tehzrel, pH, celANT, tanini, ne_astr, EA, RPT, ANT, izlANT. Najbolj tesno pozitivno povezavo (vrednost koeficienta je najbližje 1) ima z relativno gostoto (0,90), ki ji sledita Tehzrel (0,79) in celANT (0,61). Negativno povezavo pa ima s parametri SK (-0,69), JK (-0,66), int_astr (-0,46), VK (-0,36), FAN (-0,35), astr (-0,26) in najmanj tesno negativno povezavo s parametrom Mp (-0,18). Skoraj enako se obnaša relativna gostota, kar je pričakovano, saj je v značilni povezavi s količino sladkorja v grozdju. Večja je količina sladkorja, večja bo tudi

gostota. Torej pričakovano je, da parametri, ki vplivajo na sladkorno stopnjo, podobno vplivajo tudi na relativno gostoto.

- Značilna visoka negativna povezava se je pokazala tudi med skupnimi kisljinami in EA (-0,54), ne_astr (-0,51) tanini (-0,40), ter celANT (-0,22). Med skupnimi kisljinami in parametroma fenolne zrelosti int_astr (0,48) ter neastr (0,40), pa smo ugotovili pozitivno korelacijo.
- Prav glede tehnološke zrelosti je zanimiva še dodatna ugotovitev, da je poleg znanih negativnih zvez med Tehzrel in skupnimi kisljinami (-0,94), vinsko kislino (-0,44) in jabolčno kislino (-0,89), šibka negativna korelacija tudi s FAN (-0,19), s parametri fenolni zrelosti pa so negativne korelacije z antociani (ANT, izlANT in celANT) in trpkostjo (astr in int_astr).
- Vinorodna lega sorte grozdja 'Cabernet Sauvignon' statistično zelo visoko značilno vpliva na šest parametrov fenolne zrelosti, in sicer na antociane (ANT, celANT, EA, izlANT), zrelost pečk (Mp) in polifenolni potencial (RPT).
- Vinorodna lega sorte grozdja 'Refošk' (p1) statistično zelo visoko značilno vpliva na sedem parametrov fenolne zrelosti, in sicer na antociane (ANT, celANT, EA, izlANT), zrelost pečk (Mp), polifenolni potencial in tudi na trpkost (int_astr.).

Ugotovili smo, da se sorti grozdja med seboj razlikujeta v proučevanih parametrih fenolne in tehnološke zrelosti. Fenolna zrelost je v največji meri odvisna od sorte grozdja. Lega vinograda je ključen dejavnik, ki vpliva na vsebnost fenolov v grozdju. V okviru posamezne sorte istega letnika so značilne razlike glede na lego oziroma lokacijo vinograda.

6 POVZETEK

Namen diplomskega dela je bil ugotoviti, kako se spreminjajo parametri fenolne in tehnološke zrelosti med dozorevanjem grozdja žlahtne vinske trte (*Vitis vinifera* L.) izbranih sort 'Refošk' in 'Cabernet Sauvignon' ter kakšen vpliv ima lega vinogradov na proučevane parametre. Vzorčenje grozdja je potekalo na 17 lokacijah vinogradov v vinorodnem okolišu Slovenska Istra, kjer sta posajeni proučevani sorti letnika 2013. V raziskavo smo vključili grozdje sorte 'Cabernet Sauvignon' iz petih različnih lokacij (Debeli Rtič, Debeli Rtič – Mlade, Gordia, Hrvatini, Labor) in grozdje sorte 'Refošk' iz 12 različnih lokacij (Baredi, Bonini, Kortina, Labor, Prede – Mlade, Prade – Spodaj, Purissima, Santoma, Sečovlje, Sečovlje – Mlade, Škocjan, Škocjan P.P.). Skupno je bilo analiziranih 90 vzorcev grozdja. Vzorci grozdja so bili dostavljeni v agroživilski laboratorij na Kmetijsko gozdarskem zavodu Nova Gorica. V povprečnem vzorcu grozdja (100 jagod) posameznega obravnavanja smo določali tehnološko in fenolno zrelost.

Za določitev tehnološke zrelosti (razmerje med sladkorji in skupnimi kislinami) smo vzorcem določili maso 100 jagod. Nato smo iz teh jagod stisnili sok, v katerem smo z uporabo naprave Winescan določili sladkorno stopnjo, vrednost pH, relativno gostoto, prosti aminokislinski dušik ali FAN, skupne kisline ter jabolčno in vinsko kislino. Izračunali smo tudi tehnološko zrelost kot razmerje med sladkorno stopnjo in skupnimi kislinami.

Po Gloriejevi metodi smo spektrofotometrično določili parametre fenolne zrelosti: koncentracijo celokupnih in ekstrabilnih antocianov ter razmerja med njimi, polifenolni potencial, delež taninov v pečkih in trpkost taninov. Metoda temelji na hitri ekstrakciji antocianov iz kožic pri zmernih pogojih oziroma pH 3,2, in pri ekstremnih pogojih oziroma pH 1,0. V medij s pH 3,2, se sprostijo le lažje ekstrabilni antociani, medtem ko se v medij s pH 1,0 ekstrahirajo vsi antociani v jagodi. Iz nastalih homogenatov se odstranijo rastlinski delci s filtracijo preko steklene volne. Tako pridobljene filtrate smo izpostavili spektrofotometričnim meritvam absorbance pri valovni dolžini 280 nm za določitev polifenolnega potenciala, meritvam absorbance pri valovni dolžini 520 nm pa za določanje vsebnosti skupnih antocianov in deleža taninov iz pečk glede na skupne fenole. Pridobljene absorbance smo uporabili v različnih izračunih. Z merjenjem absorbance pri 520 nm smo torej dobili ekstrabilne oziroma celokupne antociane ter razmerje med njimi preračunali v delež ekstrabilnih antocianov. Na podlagi izmerjenih vrednosti polifenolnega potenciala in ekstrabilnih antocianov smo ocenili zrelost pečk. Vsebnost taninov smo določili z meritvijo absorbance pri 550 nm po polimerizaciji z butanolno zmesjo. Vzorcem grozdja smo dodali želatino, ki veže trpke tanine, v raztopini pa ostanejo ne trpki, ki smo jih določili na enak način kot celokupne. Za določitev trpkosti smo izračunali indeks želatine.

Dobljene rezultate smo uporabili v linearni diskriminatni analizi, ki nam je na podlagi 18 parametrov, izmerjenih v grozdju dveh sort različnih leg, omogočila 93 % pravilno razvrstitev vzorcev glede na lokacijo pridelanega grozdja sort 'Cabernet Sauvignon' in 'Refošk'. Določili smo najpomembnejše parametre pri determiniranju prve osi, in sicer relativno gostoto, skupne kisline in tehnološko zrelost ter vsebnost sladkorjev in jabolčno kislino. Jasno lahko razlikujemo skupino spremenljivk, poglavitnih pri determiniranju druge osi, katerih pravokotna projekcija na to diskriminantno os je največja. Ta skupina vključuje int_astr , pH in tanini ter ANT, Mp in ast.

Meteorološke podatke smo črpali iz arhiva Agencije Republike Slovenije za okolje za obdobje 2013-2014 za tri meteorološke postaje: Portorož-Letališče, Seča in Strunjan. Vremenske razmere leta 2013, izmerjene na meteorološki postaji Portorož, so bile podobne tistim leta 2012 in 2014. Leta 2013 je bila povprečna letna temperatura enaka kot leta 2012, sončnega vremena je bilo malo manj kot predhodno leto, padavine so bile pogostejše in obilnejše. Nekoliko višjo temperaturo in več padavin so zabeležili naslednje leto 2014. Leta 2013 je bil v Portorožu najtoplejši mesec julij. Povprečne temperature v poletnih mesecih (junij, julij, avgust) so bile ob morju med 20 °C in 24 °C. Povprečne temperature v zimskih mesecih so se gibale od 4,8 do 5,6 °C in niso padle pod 0 °C. Največ padavin je padlo v novembru. Drugi višek je bil marca. V poletnih mesecih je bilo malo padavin, zlasti julija, ko je padlo samo 5,2 mm padavin.

Vinorodna lega sorte grozdja 'Cabernet Sauvignon' statistično zelo visoko značilno vpliva na šesti parametrov fenolne zrelosti, in sicer ANT, celANT, EA, izlANT, Mp in RPT. Vinorodna lega sorte grozdja 'Refošk' (p1) statistično zelo visoko značilno vpliva na sedem parametrov fenolne zrelosti, in sicer ANT, celANT, EA, izlANT, Mp in RPT, in tudi int_astr .

Pri obeh sortah smo ugotovili veliko variabilnost v vsebnosti jabolčne kisline, kar nakazuje na neenakomerno zrelost grozdja v posameznih vinogradih, ki so bili del raziskave.

Sorta 'Cabernet Sauvignon' s svojo debelo, močno kožico je pokazala višje vrednosti deleža ekstrabilnih antocianov v primerjavi s sorto 'Refošk'. Najbolj ekstrabilni so bili antociani vzorca Labor (CS5). Sorta 'Refošk' pa je dosegla največjo ekstrabilnost antocianov na legi Prade - Spodaj (R6), v primerjavi z vzorcem iz Sečovlja (R9), katerega povprečna vrednost EA je bila največja. Vzorci sorte 'Cabernet Sauvignon' so imeli veliko vsebnost taninov v pečkah na vseh lokacijah. Vzorci 'Refošk' so prav tako imeli veliko vsebnost taninov v pečkah na vseh lokacijah, razen R3, R5 in R12.

Potrdili smo, da je sladkorna stopnja v statistično značilni in visoki pozitivni povezavi z relativno gostoto, tehnološko zrelostjo, pH, z antociani (ANT, EA, izlANT in celANT) in tanini (tanini, ne_astr). Najbolj tesno pozitivno povezavo (vrednost koeficienta je najbližje

1) ima z relativno gostoto (0,90), ki ji sledita tehnološka zrelost (0,79) in celANT (0,61). Negativno povezavo pa ima s skupnimi kislinami (-0,69), jabolčno kislino (-0,66), vinsko kislino (-0,36), FAN (-0,35) in trpkostjo (int_astr, astr). Najmanj tesno negativno povezavo ima s parametrom Mp (-0,18).

Pri tehnološki zrelosti je zanimiva tudi ugotovitev, da smo poleg znanih negativnih zvez med tehnološko zrelostjo in skupnimi kislinami (-0,94), vinsko kislino (-0,44) in jabolčno kislino (-0,89), ugotovili šibko negativno korelacijo tudi s FAN (-0,19), s parametri fenolne zrelosti pa so negativne korelacije z antociani (ANT, izlANT in celANT) in trpkostjo (astr in int_astr). Negativna povezanost oziroma korelacija pomeni, da se z večanjem prve spremenljivke manjšajo vrednosti druge spremenljivke. Torej višanje tehnološke zrelosti vpliva na nižanje antocianov in trpkosti.

7 VIRI

- Adams M. J. 1998. The principles of multivariate data analysis. V: Analytical methods of food authentication. 1st ed. Ashurst P. R., Dennis M. J. (eds.). London, Blackie Academic & Professional: 308-336
- ARSO. 2016. Meteorološki podatki za leto 2012, 2013 in 2014. Ljubljana, Arhiv urada za meteorologijo pri Agenciji Republike Slovenije za okolje <http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/webmet/#webmet==8Sdwx2bhR2cv0WZ0V2bvEGcw9ydlJWblR3LwVnaz9SYtVmYh9icIFGbt9SaulGdugXbsx3cs9mdl5WahxXYyNGapZXZ8tHZv1WYp5mOnMHbvZXZulWYnwCchJXYtVGdlJnOn0UQQdSf> (september, 2016)
- Belec B., Fridl J., Gabrovec M., Hrvatina M., Kert B., Kladnik D., Lovrenčak F., Mihelič L., Mihevc A., Mihevc B., Mrak J., Natek M., Olas L., Orožen Adamil M., Pak M., Pavlin B., Pavšek M., Pelc S., Perko D., Plut D., Počkaj Horvat D., Požeš M., Rejec Brancelj I., Repolusk P., Šebenik I., Topole M., Urbanc M., Vovk Korže A., Zupančič J., Žiberna I. 1998. Slovenija: pokrajine in ljudje. Ljubljana, Mladinska knjiga: 268-273
- Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F., Kunkee R.E. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, The Chapman & Hall Enology Library: 13-101
- Colnarič J., Vrabl S. 1988. Vinogradništvo. Ljubljana, Kmečki glas: 21-30
- FOSS. 2016. Winescan™ Flaxdatasheet. Hillerod, FOSS: 2 str. <http://www.foss.dk/industry-solution/products/winescan-so2> (september, 2016)
- Goldammer T. 2015. Grape growers handbook: a guide to viticulture for wine production. 2nd ed. Virginia, Apex Publishers: 728 str.
- Hrček L., Korošec-Koruza Z. 1996. Sorte in podlage vinske trte. Ptuj, Sva Veritas: 191 str.
- Jackson R. 2008. Wine science: principles and applications. 3rd ed. California, Academic Press, Elsevier: 50-107
- Jug T. 2012. Možnosti kemijskih analiz v agroživilskem laboratoriju KGZ Nova Gorica. V: Zbornik referatov, 4. slovenski vinogradniško-vinarski kongres z mednarodno udeležbo, Nova Gorica, Slovenija, 25. in 26.1.2012. Rusjan D. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 219-220

- Kennedy J. 2002. Understanding grape berry development. *Winery and Vineyard Journal*, Jul/Aug: 6 str.
<http://www.practicalwinery.com/julyaugust02/julaug02p14.htm> (september, 2016)
- Klenar I., Ribolica D., Jug T., Gašperlin L., Košmerl T. 2012. Fenolna zrelost v grozdju sorte 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera L.*). V: Zbornik referatov, 4. slovenski vinogradniško-vinarski kongres z mednarodno udeležbo, Nova Gorica, Slovenija, 25. in 26.1.2012. Rusjan D. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 185-190
- Kontoudakis N., Esteruelas M., Fort F., Canals J. M., De Freitas V., Zamora F. 2011. Influence of the heterogeneity of grape phenolic maturity on wine composition and quality. *Food Chemistry*, 124, 3: 767–774
- Korošec J. 2012. Parametri kakovosti sorte 'Sauvignon' od grozdja do vina. Magistrsko delo. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, študijski program kmetijstvo: 94 str.
- Košmerl T., Kač M. 2009. Osnovne kemijske in senzorične analize mošta in vina: laboratorijske vaje pri predmetu Tehnologije predelave rastlinskih živil - vino. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 77 str.
- Kovač J. 2006. Maščobnokislinska sestava grozdnih pečk različnih sort grozdja. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 52 str.
- Montealegre R.R., Peces R.R., Chazon Vozmediano J.L., Gascuena J.M., Romero E.G. 2006. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 6-7: 687-693
- Moreno J., Peinado R. 2012. *Enological chemistry*. 1st ed. Waltham, Academic Press, Elsevier, XI: 429 str.
- Nadal M. 2010. Phenolic maturity in red grapes. V: *Methodologies and results in grapevine research*. Delrot S., Medrano H., Or E., Bavaresco L., Grando S. (eds.). New York, Springer Science and Business Media: 390–406
- Nadbath M. 2006a. Meteorološka postaja Seča. Mesečni bilten. Ljubljana, Agencija Republike Slovenije za okolje, Urad za meteorologijo: 2 str.
<http://meteo.arso.gov.si/uploads/probase/www/climate/text/sl/stations/seca.pdf> (september, 2016)

- Nadbath M. 2006b. Meteorološka postaja Strunjan. Mesečni bilten. Ljubljana, Agencija Republike Slovenije za okolje, Urad za meteorologijo: 2 str.
<http://meteo.arso.gov.si/uploads/probase/www/climate/text/sl/stations/strunjan.pdf>
(september, 2016)
- Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A. 2006a. Handbook of enology. 2nd ed. Vol. 1: The microbiology of wine and vinifications. Chichester, John Wiley & Sons: 497 str.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2006b. Handbook of enology. 2nd ed. Vol. 2: The chemistry of wine stabilization and treatments. Chichester, John Wiley & Sons: 451 str.
- Ripper M. 2003. Kraški teran. Ponatis. Tomaj, Agrarna skupnost: 29 str.
- Šikovec S. 1993. Vinarstvo od grozdja do vina. Ljubljana, Kmečki glas: 22-126
- Taks M. 2000. Spremljanje dozorevanja grozdja kultivarja Laški rizling v vinorodni deželi Podravje. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 3-11
- Tarara M. J., Lee J., Spajd S. E., Scagel C.F. 2008. Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin in merlot grapes. American Journal of Enology and Viticulture 59: 235-247
- Vršič S., Lešnik M. 2010. Vinogradništvo. 2. dop. izd. Ljubljana, Kmečki glas: 28-49
- Zadnik Š. 1997. Kemijske spremembe kultivarja Refošk v fazi dozorevanja grozdja. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 6-20

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici prof. dr. Tatjana Košmerl za strokovni pregled, pomoč in potrpežljivost.

Zahvaljujem se somentorici dr. Tjaša Jug za prijaznost in natančen pregled diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi recenzentki prof. dr. Lea Demšar za hitro in natančno recenzijo diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi univ. dipl. bibl. Barbari Slemenik za izčrpno pomoč pri urejanju diplomske naloge.

Velika zahvala gre tudi staršem, fantu, bratu, babici Jožici, dedku Emilu in babici Cvetki, ki so me podpirali v času študija. Hvala tudi prijateljicama Maji in Bernardi, ki mi vedno stojita ob strani, ko potrebujem pomoč.