

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Martina ZAPUŠEK

**NEZNAČILEN STARIKAV TON BELIH VIN**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**ATYPICAL AGEING OFF-FLAVOUR OF WHITE WINES**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Katedri za vinarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, del instrumentalnih analiz pa v laboratorijih Katedre za tehnologijo rastlinskih živil Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala doc. dr. Tatjano Košmerl, za somentorja doc. dr. Rajka Vidriha, za recenzentko pa prof. dr. Terezijo Golob.

mentorica: doc. dr. Tatjana Košmerl

somentor: doc. dr. Rajko Vidrih

recenzentka: prof. dr. Terezija Golob

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Martina Zapušek

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

- ŠD Dn
- DK UDK 663.221:663.258:543.06:543.9(043)=863
- KG vino / belo vino / staranje vina / neznačilna starikava nota / NST / 2-aminoacetofenon / 2-AAP / staranje in zorenje / kemijska sestava / senzorične lastnosti
- AV ZAPUŠEK, Martina
- SA KOŠMERL, Tatjana (mentorica) / VIDRIH, Rajko (somentor) / GOLOB, Terezija (recenzentka)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo
- LI 2007
- IN NEZNAČILEN STARIKAV TON BELIH VIN
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP X, 60 str., 10 pregl., 4 sl., 35 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Kot metode dela za določevanje neznačilnega starikavega tona (NST) osemnajstim vzorcem belih vin različnih sort, letnikov, proizvajalcev in vinorodnih dežel, ki se pojavljajo na trgu pri nas, smo uporabili hitri Würzburški UTAFIX-Test, določitev koncentracije 2-aminoacetofenona (2-AAP), kot glavne spojine za pojav NST v vinih z GC-MS in deskriptivno senzorično analizo nekaterih vzorcev belih vin. V hitri Würzburški UTAFIX-Test je bilo vključeno devet vzorcev vin, kot pozitivni pa so se pokazali vzorci muškata ottonel 2003, renski rizling 2004 in rumeni muškata letnik 2005. Pri kvantifikaciji 2-AAP z GC-MS so senzorično zaznavno vsebnost (0,7 µg/L) presegli štiri od šestnajstih analiziranih vzorcev in sicer laški rizling 2003 in 2004, ter sauvignon in chardonnay letnika 2003. Največjo vsebnost 2-AAP smo določili v vzorcih letnika 2003, ki je pri nas veljalo za sušno leto, med sortami pa sta imela največjo vsebnost 2-AAP vzorca laški rizling in chardonnay. Pri senzoričnem ocenjevanju vzorcev vin z deskriptivno senzorično analizo smo starikavost določili štirim od sedmih ocenjenih vzorcev vin. Statistična analiza vplivov različnih sort, letnikov, vinorodnih dežel in okolišev na vsebnost 2-AAP in vrednost pH v vzorcih vin je pokazala, da vsebnost 2-AAP v vinu ni odvisna od pH vina, dokazano pa letnik in sorta vina statistično značilno vplivata na koncentracijo 2-AAP v vinu. V okviru naših proučevanih vin se je pokazalo, da vinorodna dežela in vinorodni okoliš na vsebnost 2-AAP v vinu ne vplivata.

**KEY WORDS DOCUMENTATION**

- DN Dn
- DC UDC 663.221:663.258:543.06:543.9(043)=863
- CX wines / white wines / ageing wein / atypical ageing off-flavour / ATA / 2-aminoacetophenone / 2-AAP / winemaking practice / ageing and maturation / chemical composition / sensory properties
- AU ZAPUŠEK, Martina
- AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor) / VIDRIH, Rajko (co-adviser) / GOLOB, Terezija (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2007
- TI ATYPICAL AGEING OFF-FLAVOUR OF WHITE WINES
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO X, 60 p., 10 tab., 4 fig., 35 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB To determine atypical aging in 18 white wine samples of different sorts, years, manufacturers and wine-growing countries, which are present on the Slovenian market, we used the Wuerzburg UTAFIX - Test for determining a 2-aminacetophenone (2-AAP) as the main compound of the atypical aging phenomenon (ATA) in wines with GC-MS and the descriptive analysis on some samples of white wine. The Wuerzburg UTAFIX - Test involved nine wine samples, of which the samples Muscat Ottonel 2003, Rhenish Riesling 2004 and Yellow Muscat 2005 turned out positive. Ed quantification 2-AAP with GC-MS, four of sixteen analysed samples have exceeded the sensorially perceptive concentration (0,7 µg/L): Laški Riesling 2003 and 2004, Sauvignon and Chardonnay, both 2003. The highest content of 2-AAP has been found in samples of the year 2003, which was a dry year in Slovenia. The highest content of 2-AAP has been found in samples of Laški Riesling and Chardonnay. Using the descriptive sensorial analysis within the sensorial evaluation of wine samples atypical aging was found in four of seven evaluated wine samples. The statistical analysis of the influence of different sorts, years, wine-growing countries and regions on the concentration of 2-AAP and the pH value in wine samples have shown that the 2-AAP concentration in wines does not depend on the wine pH, while the year and the wine sort have a demonstrably influence on the 2-AAP concentration in wines. According to the wine study, the wine-growing country and region do not influence the concentration of 2-AAP.

**KAZALO VSEBINE**

<b>KEY WORDS DOCUMENTATION</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC</b>	<b>VII</b>
<b>KAZALO SLIK</b>	<b>VIII</b>
<b>KAZALO PRILOG</b>	<b>IX</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI</b>	<b>X</b>
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 DELOVNE HIPOTEZE	1
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>2</b>
2.1 SPOJINA 2-AMINOACETOFENON	2
2.2 SPOJINA INDOL-3-OCETNA KISLINA	5
2.2.1 Vsebnost IAA v moštih in vinih ter korelacija z NST	6
2.2.2 Mehanizem nastanka NST	7
2.2.3 Vpliv alkoholne fermentacije in skladiščenja vina na vsebnost IAA	8
2.2.4 Razgradnja IAA z žveplovo(IV) kislino	10
2.2.5 Razgradnja drugih snovi presnove triptofana	10
2.2.6 Stopnje pretvorbe IAA v 2-AAP v etanolni raztopini	11
2.2.7 Stopnje pretvorbe IAA v vinih	12
2.2.8 Naravne vsebnosti IAA v moštu in vinih	13
2.3 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA VIN IN POVEZAVA Z NST	13
2.4 VINOGRADNIŠKI UKREPI IN NST BELIH VIN	15
2.4.1 Preskrba tal z dušikom	15
2.4.2 Krovni posevki	17
2.4.3 Namakanje, gostota sajenja in odstranjevanje listov vinske trte	18
2.4.4 Količina pridelka in čas trgatve	19
2.5 VINARSKI UKREPI IN NEGA VINA	19
2.5.1 Staranje vina, vpliv mikroorganizmov med alkoholno fermentacijo in beta-glukozidazna aktivnost	19
2.5.2 Povezava med pojavom NST in koncentracijo proste žveplove(IV) kisline	21
2.5.3 Možnost dodajanja askorbinske kisline za zmanjšanje pojava NST	22
2.5.4 Nadaljnji kletarski ukrepi za preprečevanje nastanka NST	23

<b>3</b>	<b>MATERIAL IN METODE DELA</b>	<b>25</b>
3.1.	MATERIAL	25
3.2	METODE DELA	27
3.2.1	Würzburški UTAFIX - Test za preverjanje možnega nastanka NST v mladem vinu	27
3.2.2	Analiza 2-AAP s plinsko kromatografijo in masno detekcijo (GC-MS) po predhodni ekstrakciji (tekoče-tekoče, SPME)	30
3.2.3	Senzorična analiza posameznih vzorcev sort belega vina	31
3.2.4	Statistična analiza zbranih podatkov	31
<b>4</b>	<b>REZULTATI IN RAZPRAVA</b>	<b>33</b>
4.1	REZULTATI ANALIZE 2-AAP S PLINSKO KROMATOGRFIJO	33
4.2	REZULTATI SENZORIČNEGA PREVERJANJA Z UTAFIX-TESTOM	35
4.3	REZULTATI DESKRIPTIVNE SENZORIČNE ANALIZE VZORCEV VINA	37
4.4	REZULTATI STATISTIČNE ANALIZE PODATKOV	39
<b>5</b>	<b>SKLEPI</b>	<b>43</b>
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURA</b>	<b>47</b>
	<b>ZAHVALA</b>	<b>52</b>
	<b>PRILOGE</b>	<b>53</b>

**KAZALO PREGLEDNIC**

Preglednica 1	Vzorci belih vin	24
Preglednica 2	Vzorci belih vin, uporabljeni za analizo 2-AAP s plinsko kromatografijo im masno detekcijo	24
Preglednica 3	Kemijski parametri in vsebnosti 2-AAP v izbranih vzorcih vina	32
Preglednica 4	Rezultati UTAFIX - Testa v izbranih vzorcih vina	34
Preglednica 5	Rezultati deskriptivne senzorične analize vzorcev belih vin	36
Preglednica 6	Razlike v vsebnosti 2-AAP in vrednosti pH med različnimi sortami vin (Duncanov test, $\alpha=5\%$ )	37
Preglednica 7	Razlike v vsebnosti 2-AAP in vrednosti pH med različnimi letniki vin (Duncanov test, $\alpha=5\%$ )	37
Preglednica 8	Razlike v vsebnosti 2-AAP in vrednosti pH med vinorodnima deželama (Duncanov test, $\alpha=5\%$ )	38
Preglednica 9	Razlike v vsebnosti 2-AAP in vrednosti pH med vinorodnimi okoliši (Duncanov test, $\alpha=5\%$ )	38
Preglednica 10	Primerjava rezultatov deskriptivne senzorične analize in dveh metod določanja vsebnosti 2-AAP	39

## KAZALO SLIK

Slika 1	Kemijske formule razgradnih produktov IAA (Hoenicke in sod., 2001)	3
Slika 2	Možne kemijske oblike IAA (Hoenicke in sod., 2001)	5
Slika 3	Razgradnja IAA pod vplivom prostih radikalov (Hoenicke in sod., 2001)	7
Slika 4	Umeritvena krivulja standardne raztopine 2-AAP	31



**KAZALO PRILOG**

Priloga A1	Klimatske značilnosti letnika 2003 (ARSO, 2004)	51
Priloga A2	Značilnosti vegetacijskega obdobja v letniku 2003 (ARSO, 2004)	52
Priloga B	Vzorci belih vin po opravljenem UTAFIX - Testu	53
Priloga B1	Muškat ottonel 2003 po opravljenem UTAFIX - Testu	53
Priloga B2	Muškat ottonel 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	53
Priloga B3	Mešano belo vino 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	54
Priloga B4	Laški rizling 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	54
Priloga B5	Sauvignon 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	55
Priloga B6	Chardonnay 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	55
Priloga B7	Malvazija 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	56
Priloga B8	Rebula 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	56
Priloga C	Vzorci belih vin za deskriptivno senzorično analizo po predhodno opravljenem UTAFIX - Testu	57
Priloga C1	Rumeni muškat 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	57
Priloga C2	Renski rizling 2004 po opravljenem UTAFIX - Testu	57
Priloga C3	Mešano belo vino 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	58
Priloga C4	Laški rizling 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	58
Priloga C5	Sauvignon 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	59
Priloga C6	Chardonnay 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	59
Priloga C7	Malvazija 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	60
Priloga C8	Malvazija 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu	60

**OKRAJŠAVE IN SIMBOLI**

2-AAP	2-aminoacetofenon
AAP	2-aminoacetofenon
AC	antioksidativna kapaciteta
DAP	diamonijev hidrogenfosfat
DiOxIAA	dvojno oksidirana oblika IAA
FAN	prosti aminokislinski dušik
FAP	<i>N</i> -formil-2-aminoacetofenon
FAPOP	3-(2-formilaminofenil)-3-oksi-propionska kislina
GC-MS	plinska kromatografija z masnim detektorjem
IAA	indol-3-ocetna kislina
ILA	indol mlečna kislina
NST	neznačilen starikav ton
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	hiperoksidni radikal
OH <sup>•</sup>	hidroksilni radikal
OxIAA	okisidarana oblika IAA
reduc.	reducirajoči (sladkorji)
SOSA	specifična zmožnost uničevanja superoksidnih radikalov
SO <sub>2</sub>	žveplov dioksid; žveplova(IV) kislina
TAS	totalni antioksidativni potencial
TDN	1,1,6-trimetildihidronaftalen
TR	triptofan
TRO	triptofol
UTA	untypical ageing (off-flavour)

## 1 UVOD

Vina med zorenjem in staranjem razvijejo značilne aromatične snovi iz prisotnih spojin v vinu. Glede na pogoje zorenja ali skladiščenja vina, se lahko razvijejo tako pozitivne kot tudi negativne arome. V procesu zorenja in staranja vina potekajo različne kompleksne biokemijske reakcije, kot na primer: hidroliza, esterifikacija, oksidacija, redukcija in druge, ki lahko povsem spremenijo aromatični profil belih sortnih vin. Pomembni dejavniki, ki vplivajo na razvoj različnih arom so predvsem temperatura, vsebnost kisika in vsebnost žveplovega dioksida. Prav tako pa so pomembne tudi vsebnosti polifenolov, železovih in bakrovih ionov, ki vplivajo na razvoj nekaterih hlapnih spojin. Glavna dejavnika, ki vplivata na kemijske reakcije in povzročata pozitivne ali negativne senzorične spremembe v vinu, sta izhodiščna kemijska sestava vina in pogoji med zorenjem in/ali skladiščenjem vina (temperatura, relativna vlažnost). Ena izmed negativnih senzoričnih sprememb je pojav neznačilnega starikavega tona (NST), ki se lahko pojavi že po relativno kratkem času, tj. po enem ali dveh letih zorenja vina.

Znano je, da se napaka pojavi po krajšem ali daljšem skladiščenju in staranju vina. Spojina, odgovorna za neznačilen starikav ton v vinih iz grozdja *Vitis vinifera*, je 2-aminoacetofenon (2-AAP). Študije so pokazale korelacijo med intenziteto napake NST in večjimi vsebnostmi 2-AAP. Spojina 2-AAP nastane po alkoholni fermentaciji in po žveplanju mladih vin, tvori pa se iz prekurzorjev, katerih koncentracija je odvisna od različnih dejavnikov okolja, kjer je grozdje dozorevalo. Pomanjkanje ali neugodna razporeditev padavin, pomanjkanje dušika v tleh, prezgodnja trgatve in visoko donosni pridelek, so poglobilni dejavniki za kasnejši razvoj 2-AAP.

### 1.1 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevamo, da bomo v okviru znanih dejavnikov, ki so odgovorni za nastanek 2-AAP, določili značilno in pozitivno korelacijo z intenziteto senzorično zaznavne napake NST. Pričakujemo dobro ujemanje rezultatov deskriptivne senzorične analize in dveh metod določanja vsebnosti spojine 2-AAP.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 SPOJINA 2-AMINOACETOFENON

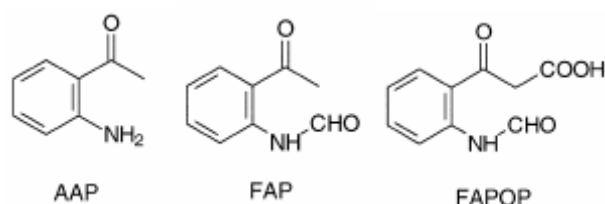
Z drugo besedo jo poimenujemo tudi 1-(2-aminofenil)-etanon, torej jo po IUPAC nomenklaturi uvrščamo med ketone. Neznačilen starikav ton vin (NST) so prvič odkrili v letniku 1989 v nemških belih vinih, kasneje pa tudi v vinih iz Oregona, severne Italije ali vzhodne Evrope. 2-aminoacetofenon (2-AAP) je znan kot značilna spojina, ki je odgovorna za t.i. neznačilen starikav ton belih vin (NST) v vinih žlahtne vinske trte *Vitis vinifera*. Tvorbo 2-aminoacetofenona (AAP) povzroča oksidativna razgradnja fitohormona indol-3-ocetne kisline (IAA), ki jo sproži žveplanje vina po zaključeni alkoholni fermentaciji mošta. Z uporabo različnih sistemov, ki tvorijo proste radikale, v tem poskusu so uporabili Fentonov reagent (Fenton, 1894), ki tvori hidroksilne in/ali superoksidne radikale je bilo posebej dokazano, da so superoksidni radikali vzrok za tvorbo 2-AAP. Cepitev pirolnega obroča IAA ustvari 3-(2-formilaminofenil)-3-oksi-propionsko kislino (FAPOP), *N*-formil-2-aminoacetofenon (FAP) in 2-AAP. NST se pojavi zgodaj v procesu zorenja vina – štiri do šest mesecev po zaključeni alkoholni fermentaciji – in zakrije sadno in sortno aromo ter povzroča razširjen fenolni priokus (Hoenicke in sod., 2000).

2-AAP so identificirali kot pomembno sestavino, ki vpliva na aromo v večih prehrabnih proizvodih, vključno z vini. Ko njegova koncentracija v vini preseže senzorični prag zaznave 0,5 µg/L, povzroči neznačilen starikav ton (NST) (Rapp in sod., 1993; Sponholz in Huehn, 1996). Čeprav senzorični opis priokusa UTA (untypical ageing) znatno variira med vinogradniškimi regijami, ta priokus navadno opisujejo kot cvet akacije, loščilo za pohištvo, mokra volna, kroglice naftalina, z njim je povezana tudi izguba tipičnega vinskega buketa (Hoenicke in sod., 2000; Hoenicke in sod., 2002a). V grozdju je koncentracija 2-AAP ponavadi pod mejo senzorične zaznave, ravno tako v moštu in v mladem vinu takoj po alkoholni fermentaciji. Očitno se 2-AAP v glavnem tvori med skladiščenjem vina po žveplanju (Christoph in sod., 1998; Hoenicke in sod., 2002a; Hoenicke in sod., 2002b). Tvorba 2-AAP naj bi bila neposredno povezana z razgradnjo indol-3-ocetne kisline (IAA) (Christoph in sod.,

1998; Hoenicke in sod., 2002a). Že vrsto let opažajo neznačilno staranje v evropskih vinih, pa tudi v vinih drugih vinorodnih področij, kot npr. južna Afrika. Majhna dostopnost vode med vsrkavanjem dušika ob zorenju grozdja naj bi problem le stopnjevala. Vino z defektom neznačilnega staranja izgubi sortno aromo zelo hitro, včasih pred enim letom starosti ali v prvem in drugem letu staranja. Z izginotjem sortnega okusa se pojavijo neznačilne arome v vinu. NST se primarno pojavi v belih vinih, zelo pogosto pri sortah renski rizling (Winter, 2003), Müller-Thurgau in kerner (Schwab in sod., 1999), chardonnay, pinoti, idr., bistveno manj pogost pa je nastanek NST pri rdečih vinih.

Vonj in okus vina z razvito napako neznačilnega starikavega tona se lahko opiše kot skupek senzoričnih zaznav po akacijevih ali lipovih cvetovih, medu, milu, naftalinu, hlevu, po umazanem perilu, hibridni ali foxy ton, idr. Barva takega vina je neznačilno svetla. Prag zaznave NST v vodi je 0,2 µg/L, v belih vinih 0,5 µg/L, v rdečih vinih pa 1,5 µg/L. Koncentracije več kot 1 µg/L običajno zaznamo kot napako, sicer pa je prag zaznave odvisen od vina oziroma kompleksnosti matriksa. Tako se prag zaznave v belih vinih nahaja v intervalu 0,7-1,0 µg/L oziroma celo širšem v območju od 0,5 do 1,5 µg/L, odvisno od drugih spojin, ki maskirajo 2-AAP, npr. večja vsebnost sadnih arom, antioksidantov (polifenolov) in verjetno tudi višjih alkoholov (Linsenmeier in sod., 2007).

Prehitro staranje lahko povzroči resne ekonomske izgube v vinarski industriji. Kakorkoli, čedalje bolj je jasno, da je NST svetovni problem, še posebej za bela vina. Možnosti vpliva še drugih komponent na razvoj 2-AAP in napake NST je veliko oziroma še niso bile vse raziskane. Vsekakor pa je zaradi velike tendence razvoja vinarstva potrebno vina, namenjena staranju, analizirati in jim določati koncentracije 2-AAP.



Slika 1: Kemijske formule razgradnih produktov IAA (Hoenicke in sod., 2001)



## 2.2 SPOJINA INDOL-3-OCETNA KISLINA

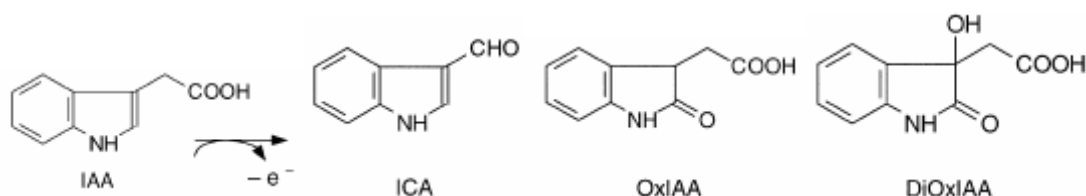
Raziskave so pokazale, da so za pretvorbo indol-3-ocetne kisline (IAA) v 2-AAP odgovorni superoksidni radikali. Predvideva se, da tvorbo radikalov in reoksidacijo IAA sproži oksidacija sulfita, ki povzroči cepitev indolnega obroča in posledično tvorbo 2-AAP (Hoenicke in sod., 2002a). To hipotezo nadalje podpira dejstvo, da o napaki NST niso poročali pri rdečih vinih, ter da rdeča vina, ki so jim pred vrenjem dodali IAA, niso kazala značilne tvorbe 2-AAP (Christoph in sod., 1998). Razpad IAA v 2-AAP je v rdečih vinih verjetno onemogočen zaradi prisotnosti fenolnih spojin, t.i. lovilcev prostih radikalov (Christoph in sod., 1998). Čeprav antioksidativna kapaciteta ne sovпада z intenziteto NST v vinu (Hoenicke in sod., 2002b), odkriva podrobnejša analiza grozdnega soka in vina, da vina z višjim antioksidacijskim potencialom manj težijo k tvorbi NST (Hoenicke in sod., 2002b). Prosta IAA in drugi triptofanski metaboliti so značilno prisotni v moštu. Več kot 95 % celotne IAA je vezane v obliki estra ali amida (Hoenicke in sod., 2001), ali pa je vezana s fenolnimi spojinami (Schwab in sod., 1999). Indol in skatol, ki se tvorita med razgradnjo IAA v 2-AAP, ravno tako pripomoreta k nastanku NST v vinu. Vezana IAA se lahko hitro pretvori v prosto IAA med alkoholno fermentacijo, kar vodi k tvorbi 2-AAP. Raziskave o uporabi askorbinske kisline in fenolnih komponent kot možnih lovilcev superoksidnih radikalov, ki se pojavijo zaradi dodajanja SO<sub>2</sub> ter povzročijo razpad indol-3-ocetne kisline, še potekajo.

Analiza 32 grozdnih moštov in njim pripadajočih vin je pokazala, da vina z večjo antioksidativno aktivnostjo niso naklonjena k tvorbi NST. Razlike pri razgradnji IAA med alkoholno fermentacijo mošta iz grozdja, ki je bilo obrano zgodaj ali pozno, kažejo povezavo med zrelostjo grozdja, vsebnostjo IAA ob žveplanju vina in tvorbo NST.

Raziskave o mehanizmu tvorbe AAP ob vinifikaciji so pokazale, da oksidativni razpad IAA, naravnega fitohormona v grozdju, vodi v značilno tvorbo *N*-formil-2-aminoacetofenona (FAP) in 2-AAP. Ta oksidativni razpad povzročajo hidroksilni ali superoksidni radikali, ki nastanejo pri aerobni oksidaciji sulfitov med skladiščenjem

žveplanih vin. Značilne tvorbe 2-AAP niso opazili pri IAA, ki je bila vezana v estre ali amide, kar je nakazalo, da je le nevezana IAA dovzetna za razgradnjo.

Rdeča vina, ki so jim dodali IAA pred alkoholno fermentacijo, niso kazala nobene pomembnejše tvorbe AAP. Torej je možno sklepati, da posebne sestavine v rdečih vinih, ki niso prisotne ali pa so manj prisotne v belih vinih, lahko preprečijo oksidativni razpad IAA v 2-AAP. Študije Gessnerja in sod. (2000) so pokazale, da je bila tvorba 2-AAP iz IAA zmanjšana, če so dodali fenolne komponente moštu pred alkoholno fermentacijo. Tudi dodajanje askorbinske kisline belim vinom pred ali takoj po žveplanju prepreči ali zmanjša nastanek 2-AAP in s tem pojav napake NST.



Slika 2: Možne kemijske oblike IAA (Hoenicke in sod., 2001)

### 2.2.1 Vsebnost IAA v moštih in vinih ter korelacija z NST

Ker je IAA ocenjena kot najpomembnejši prekurzor 2-AAP, je bilo treba raziskati korelacijo z NST. V moštih so bile določene le sledi proste IAA ( $<3 \mu\text{g/L}$ ), kar nakazuje močno fiziološko reguliranje tega fitohormona. Vezana IAA je bila v teh moštih prisotna v vrednostih  $<12\text{-}120 \mu\text{g/L}$ . V ustreznih vinih so določili sprejemljive vsebnosti proste IAA ( $<3\text{-}90 \mu\text{g/L}$ ) in zmanjšane vsebnosti vezane IAA ( $<40 \mu\text{g/L}$ ), kar nakazuje hidrolizo vezane IAA med alkoholno fermentacijo. Kakorkoli, količina celokupne IAA (proste in vezane) v vinih je bila skoraj primerljiva vsebnosti celokupne IAA v moštih (Hoenicke in sod., 2001).

Raziskave vplivov različnih vinogradniških rastnih pogojev na količino IAA so razkrile znatno večje koncentracije celokupne IAA v moštih ali proste in vezane IAA v vinih pozne trgatve. Na koncentracije IAA so vplivale tudi podnebne spremembe letnika in obdelava tal. Učinek obdelave tal na količino IAA v moštu je variiral ter bil odvisen od podnebja v posameznem letniku. V vlažnih letih je trajna ozelenitev



vinograda povzročila znatno večje količine IAA kot stalno rahljanje, medtem ko so v suhih letih odkrili večje količine IAA v moštih iz tal rahljane prsti. Kljub vsemu nista ne celokupna vsebnost IAA v moštu, ne vsebnost proste IAA v vinu, pokazali pozitivne korelacije z intenziteto NST. Pojava NST očitno ne povzročajo le večje količine prekursorja IAA v moštu ali vinu.

### 2.2.2 Mehanizem nastanka NST

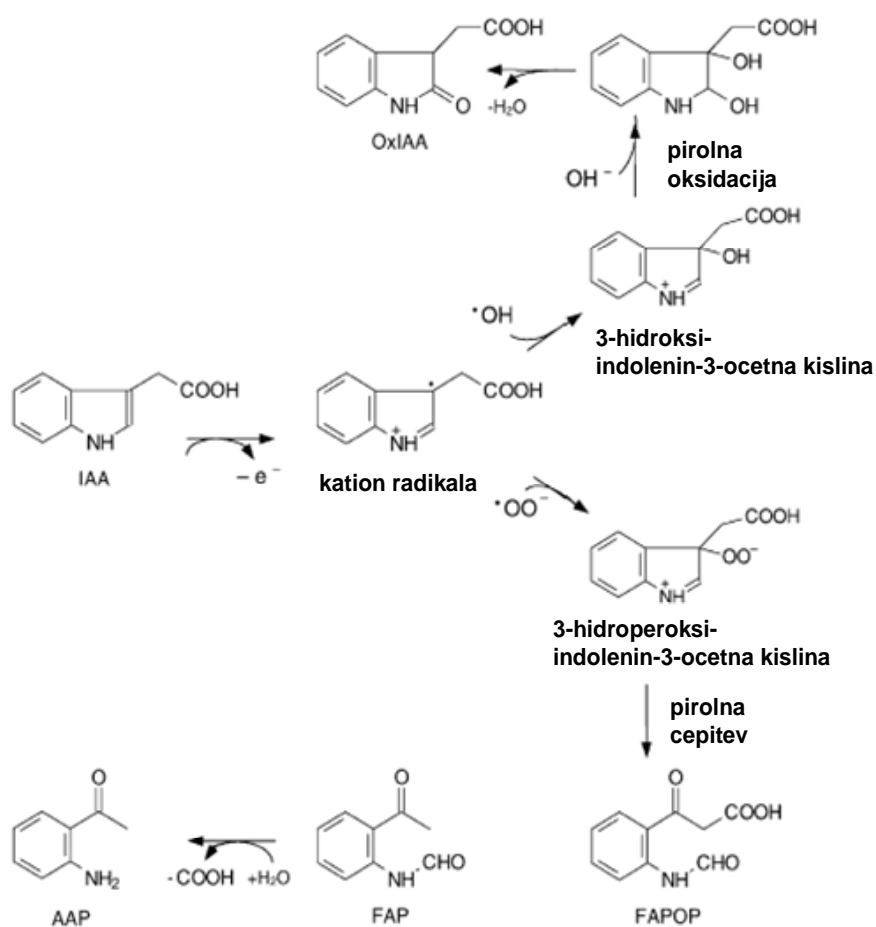
Da bi našli dejavnike, ki najverjetneje vplivajo na tvorbo NST, je bilo potrebno razložiti mehanizem tvorbe 2-AAP iz IAA. LC-MS analiza modelnih raztopin, katerim so dodali IAA, je pokazala, da so se velike koncentracije 2-AAP tvorile po nastanku superoksidnih radikalov. Štirideset odstotkov dodane IAA se je razgradilo po sedmih dneh v sistemu Fenton, ki je vseboval superoksidne in hidroksilne radikale (Hoenicke in sod., 2001).

Poleg produktov, nastalih pri oksidaciji pirolnega obroča IAA, kot npr. OxIAA (oksidirana oblika IAA) ali DiOxIAA (dvojno oksidirana oblika IAA) – prikazani na sliki 2, so identificirali produkte, nastale pri cepitvi pirolovega obroča, in sicer 3-(2-formilaminofenil)-3-oksi-propionsko kislino (FAPOP), *N*-formil-2-aminoacetofenon (FAP) in 2-aminoacetofenon (2-AAP). OxIAA so odkrili v sistemu prostih radikalov, ki je vseboval izključno hidroksilne radikale. V sistemu, ki je vseboval izključno superoksidne radikale, je IAA razpadla že po enem dnevu, AAP pa so identificirali kot ključno komponento razgradnje.

Rezultati kažejo, da morajo za nastanek AAP pri razgradnji IAA biti na voljo superoksidni radikali (Hoenicke in sod., 2001).

Kombinacija radikalnih kationov s superoksidnimi radikali povzroči tvorbo 3-hidroperoksindolenin-3-ocetne kisline, s cepitvijo pirolovega obroča nastane FAPOP, ki se spontano dekarboksilira in tvori FAP in na koncu z reakcijo kondenzacije vode nastane 2-AAP. Kombinacija radikalnih kationov s hidroksilnimi radikali tvori 3-hidroksindolenin-3-ocetno kislino, nukleofilno dodajanje hidroksilnih anionov, ki mu sledi dehidracija, pa tvori OxIAA.

V sistemu Fenton (ustvarjanje prostih radikalov) je možna tvorba tako pirolno-oksidiranih kot pirolno-cepljenih produktov, in sicer zaradi prisotnosti superoksidnih in hidroksilnih radikalov. Izločitev superoksidnih radikalov, povzroči tvorbo pirolno-oksidiranih produktov (OxIAA). Specifična tvorba superoksidnih radikalov ustvari pirolno-cepljene produkte, kar kaže, da so potrebni superoksidni radikali in pirolna cepitev kot tisti tip reakcije, ki tvori 2-AAP, povzročitelja napake NST (Hoenicke in sod., 2001).



Slika 3: Razgradnja IAA pod vplivom prostih radikalov (Hoenicke in sod., 2001)

### 2.2.3 Vpliv alkoholne fermentacije in skladiščenja vina na vsebnost IAA

Po hipotezi, da se 2-AAP tvori po alkoholni fermentaciji, žveplanju in kratkem skladiščenju vina, bi morala vsebnost proste IAA pred žveplanjem biti odločilna za

količino 2-AAP, ki se tvori med skladiščenjem. Torej je bilo potrebno razložiti vpliv metabolizma kvasovk na vsebnost IAA med alkoholno fermentacijo v odvisnosti od stopnje zrelosti grozdja.

Med alkoholno fermentacijo mošta iz grozdja zgodnje trgatve se je celotna IAA znatno povečala na začetku fermentacije, kar se je pokazalo s povečanjem vsebnosti proste IAA, ki je dosegla maksimum na začetku, medtem ko se je na koncu fermentacije posledično zmanjšala. Sočasno se je vsebnost vezane IAA zmanjšala, za kar bi lahko bila vzrok hidroliza zaradi encimov kvasovk.

Dodatek 1 g/L diamonijevega hidrogenfosfata (DAP) v mošt je povzročil hitrejšo fermentacijo, ni pa imel učinka na vsebnost proste IAA, ki so jo sintetizirale kvasovke, v primerjavi z alkoholno fermentacijo brez dodatka DAP. Vezana IAA se je hidrolizirala počasi in ne v isti meri.

Čeprav je imel mošt pozne trgatve večjo vsebnost vezane IAA kot mošt zgodnje trgatve, je bila količina proste in vezane IAA znatno manjša ob žveplanju.

Po žveplanju in simuliranem staranju (skladiščenje 7 dni pri 45 °C) se je koncentracija proste IAA v vinu zgodaj obranega grozdja znižala, najverjetneje kot rezultat oksidacije in posledično nastanka 2-AAP, medtem ko je bila vsebnost IAA v vinu pozno obranega grozdja relativno stabilna.

Ocena intenzitete NST je pokazala, da je vino iz grozdja zgodnje trgatve kazalo znake NST, medtem ko jih vino iz grozdja pozne trgatve ni. Dodatek DAP ni vplival na intenziteto NST. Nenazadnje je zrelost obranega grozdja pomembna za tvorbo prekursorja 2-AAP, to je IAA in predvidoma za pojav NST. Niti količina IAA v moštu niti v skladiščenem vinu ne kažejo korelacije s količino proste IAA ob žveplanju.

2-AAP, povzročitelj NST, se lahko tvori s cepitvijo pirolnega obroča IAA, za kar so potrebni superoksidni radikali. Superoksidne radikale ustvari aerobna oksidacija sulfita med skladiščenjem žveplanih vin. Antioksidanti, še posebej "lovilci" superoksidnih radikalov v vinu, torej lahko zmanjšajo nagnjenost k tvorbi NST. Njihova količina je odvisna od zrelosti obranega grozdja. Vsako vino z majhno vsebnostjo antioksidantov pa ne kaže na znake NST.

Količina prekursorjev IAA ob žveplanju se lahko upošteva kot rezultat metabolizma kvasovk. Pozna trgatev grozdja omogoča manjše vsebnosti proste IAA med procesom fermentacije kot zgodaj obrano grozdje iz istega vinograda. Ti rezultati sovpadajo z opazovanji, da zgodaj obrano grozdje teži k razvoju NST. Torej je najboljši način izogibanja NST pozna trgatev.

#### **2.2.4 Razgradnja IAA z žveplovo(IV) kislino**

Ker je splošno znano dejstvo, da je IAA nestabilna, in je bila s poskusi dokazana njena razgradnja v 2-AAP, je bilo treba preveriti, ali so za razgradnjo odgovorne določene sestavine vina, enološka sredstva za obdelavo vin ali standardni kletarski ukrepi. V prvem poskusu so Christoph in sod. (1998) uporabili etanolno raztopino z relativno veliko koncentracijo IAA (20 mg IAA/L), zmešano s kalijevim metabisulfitom ter skladiščeno z nežveplanim vzorcem vina. Prvi poskusi, pri katerih se je AAP tvoril kot posledica razgradnje z SO<sub>2</sub> oziroma z žveplovo(IV) kislino, so omogočili sklep, da se za nastanek NST vina tipični spojini 2-AAP in *N*-formil-2-aminoacetofenon (FAP), tvorita po fizikalno-kemijski poti z žveplanjem, ki je običajno pri pridelavi vina (Christoph in sod., 1998).

IAA se v rastlinskih tkivih v prisotnosti sulfitov ter sledov oksidirajočih komponent, kot npr. ionov mangana ali kisika, pri vrednostih pH med 5 in 6, hitro razgradi. Kot mehanizem je bila postulirana reakcija radikalov, pri kateri hiperoksidni (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) in hidroksilni (OH<sup>•</sup>) radikali delujejo kot oksidacijska sredstva. Obstoj radikalov v vinu so dokazali Vivas in sodelavci (1997), ki so pri tem ugotovili, da je SO<sub>2</sub> v običajnih koncentracijah, ki jih najdemo v vinih, relativno neučinkovit "lovilec" prostih radikalov.

#### **2.2.5 Razgradnja drugih snovi presnove triptofana**

Dokazano je, da je najverjetnejša pot do degradacije L-triptofana (TR) in/ali indol-3-očetne kisline, ki sta prisotna v moštu, med postopkom pridobivanja vin. Kot rezultat nastane ena ali več nestabilnih spojin, ki med skladiščenjem vin sprostijo 2-AAP, poimenovane triptofol (TRO), indol in skatol. TRO je metabolit, ki nastane med procesom alkoholne fermentacije. Indol sprošča intenziven vonj po jasminu in izločkih. Skatol je najbolj aromatična sestavina z vonjem po izločkih, odkrili pa so ga pred kratkim z dvodimenzionalno plinsko kromatografijo. O prisotnosti indola v vinih so objavili le nekaj kvalitativnih podatkov, medtem ko jih o skatolu ni (Mattivi in sod., 1999).

Poskusi kažejo, da ni možno komponent presnove triptofana, kinurenina in formilkinurenina, znanih kot predstopnje sinteze 2-AAP, pretvoriti neposredno niti s toploto niti z SO<sub>2</sub> v 2-AAP ali FAP. Nasprotno so ugotovili, da so bile relativno visoke stopnje pretvorbe pri učinkovanju žveplove(IV) kisline na etanolne raztopine indol-3-mlečne kisline (ILA) v FAP ali 2-AAP. Relativno velike koncentracije ILA v moštih in vinih iz grozdja hibridnih sort (interspecies), ki jih je dokazal Hoenicke (2001), bi lahko razložile visoko vsebnost 2-AAP v teh vinih. Spojina FAP se je izkazala kot termično nestabilna in se je tudi brez učinka SO<sub>2</sub> s toploto zelo hitro razgradila oz. hidrolizirala v 2-AAP. To potrjuje, da je FAP neposredna predstopnja 2-AAP, ki nastane iz cepitve pirolnega obroča IAA. Ta rezultat potrjuje opazovanja, po katerih je v vinih mogoče dokazati očitno manjše koncentracije FAP kot 2-AAP. Tudi pri modelnih poskusih in skladiščenju na toplem, je bilo v odvisnosti od trenutka analize mogoče dokazati postopno popolno razgradnjo FAP v 2-AAP. Obstojnost priokusa AAP pri senzorični analizi raztopin FAP lahko razložimo s hidrolizo FAP že v ustni votlini.

### **2.2.6 Stopnje pretvorbe IAA v 2-AAP v etanolni raztopini**

Le v prisotnosti žveplove(IV) kisline oz. prostega SO<sub>2</sub> se lahko iz IAA tvori spojina 2-AAP, kar pomeni, da samo z učinkovanjem visokih temperatur ne dobimo pretvorbe (Christoph in sod., 1998).

Koncentracija 2-AAP se je povečala v odvisnosti tako od vsebnosti IAA, kot tudi časa in temperature skladiščenja, medtem ko ni bilo razlik pri reaktivnosti natrijevega sulfita, kalijevega bisulfita in žveplovo(IV) kisline. V prisotnosti organskih kislin, kot npr. vinske kisline ter z njo povezanim znižanjem vrednosti pH na 2,8, je bila IAA močnejše esterificirana v etilniester indol očetne kisline ter posledično zmanjšana stopnja pretvorbe v 2-AAP.

### **2.2.7 Stopnje pretvorbe IAA v vinih**

Da bi preizkusili, če bi bilo mogoče prenesti v poskusih z etanolnimi raztopinami ugotovljene stopnje pretvorbe IAA v 2-AAP na realne vzorce vina, so zmešali poskusne vzorce mošta pred alkoholno fermentacijo ter vzorce tržnih vin po fermentaciji z IAA in analizirali vzorce (žveplane in nežveplane) po skladiščenju in pospešenem staranju. Pomembno je, da je dodatku IAA pred ali po fermentaciji pri rdečem vinu sledila zelo šibka tvorba 2-AAP ali pa je sploh ni bilo. Le redko je bilo pri senzoričnih ocenah rdečih vin mogoče zaznati NST, kar kaže na zakasnen ali spremenjen potek oksidacije  $\text{SO}_2$  in/ali IAA, kar je posledično pogojeno z določenimi snovmi v rdečem vinu. Vivas in sod. (1997) opisujejo učinek snovi v rdečem vinu, t.i. "lovilcev" radikalov, kot so tanini ter še posebej procianidini, na superoksidne radikale. Iz tega je razvidno, da je mogoče oksidativno razgradnjo IAA pod posebnimi pogoji pri pridelavi vina ali z določenimi snovmi v vinu upočasniti oziroma posledično popolnoma onemogočiti.

Da pride v vinu do pretvorbe IAA v 2-AAP je potrebna poleg dostopnosti določenih koncentracij proste IAA in  $\text{SO}_2$  tudi potek reakcij oksidacije in redukcije v vinu. Na koncentracije oksidirajočih komponent v vinu, potrebnih za nastanek 2-AAP iz IAA, bi lahko bolj ali manj močno vplivali določeni "naravni" dejavniki, fizikalni vplivi kot npr. temperatura alkoholne fermentacije in/ali skladiščenja ter enološki ukrepi kletarjenja.

Raziskave o mehanizmih, odgovornih za nastanek NST, senzorično zelo zaznavne spojine 2-AAP so pokazale, da le-ta nastane z reakcijo med indol-3-očetno kislino (IAA) in žveplovo(IV) kislino oz.  $\text{SO}_2$ . Kot vmesne stopnje so dokazali 3-metilindol

in *N*-formil-2-aminoacetofenon (FAP). Na podoben način se v FAP in AAP pretvorijo tudi indol mlečna kislina (ILA) in indol-3-etilni ester očetne kisline v prisotnosti SO<sub>2</sub>. S cepitvijo pirolnega obroča nastane FAP, ki se hidrolizira v 2-AAP. Na podlagi potencialnih koncentracij IAA (več kot 50 µg/L), ki jih najdemo v moštu in vinu, ter ravno tako v procesu alkoholne fermentacije na novo tvorjene IAA, se lahko tvorijo koncentracije 2-AAP (več kot 1 µg/L) z vsebnostmi SO<sub>2</sub> ter oksidirajočih substancah, kot so manganovi ioni in raztopljeni kisik. Te koncentracije 2-AAP lahko vodijo v nastanek senzoričnih lastnosti NST. Pri ugotovljenih, deloma zelo raznolikih stopnjah pretvorbe, je potrebno izhajati iz dejstva, da je možno na procese, odgovorne za nastanek NST, vplivati z določenimi vinogradniškimi ukrepi za zniževanje vsebnosti IAA ter kletarskimi ukrepi za zmanjšanje obsega oksidativnih reakcij (Christoph in sod., 1998).

#### **2.2.8 Naravne vsebnosti IAA v moštu in vinih**

Odločilna za stopnjo pretvorbe IAA v 2-AAP v vinu je najprej vsebnost proste IAA. O prisotnosti IAA v vinih obstaja le malo raziskav. Z vidika vinogradništva in vinarstva bodo v prihodnje pomembni rezultati raziskav o vsebnosti proste in vezane IAA v grozdju, moštih in vinih, kajti le znanje o vsebnostih IAA ter njena povezava z določenimi vinogradniškimi parametri, kot so sestava tal, stopnja rodovitnosti, kraj, čas trgatve, sorta, oskrba z vodo ali dušikom idr., bo omogočilo diskusijo o povezavi med tvorbo IAA, tvorbo 2-AAP in nastankom NST (Christoph in sod., 1998).

### **2.3 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA VIN IN POVEZAVA Z NST**

Ker se 2-AAP tvori s cepitvijo pirolnega obroča IAA in za nastanek potrebuje superoksidne radikale, bi morali antioksidanti ali lovilci superoksidnih radikalov v vinu preprečiti ali vsaj zmanjšati tvorbo 2-AAP. Da bi raziskali povezavo z NST, je bilo potrebno izmeriti antioksidativno kapaciteto (AC). Kakorkoli, merjenje AC v moštu ni bilo možno zaradi aktivnih polifenoloksidaz (Hoenicke in sod., 2001).

V tej študiji sta bili izvedeni dve različni merjenji AC. TAS (totalni antioksidativni potencial) opiše splošno zmožnost uničevanja prostih radikalov, nespecifično do reaktivnih vrst radikalov, medtem ko SOSA opiše specifično zmožnost uničevanja superoksidnih radikalov. Glede na tvorbo 2-AAP bi morala biti ta metoda primernejša za raziskovanje učinka AC na razvoj NST.

TAS analiziranih vin je variiral med 0,1 in 0,5 mM TEAC. Z uporabo encimskih metod (Okamura in sod., 1993) je bil razpon SOSA od 26 do 216 mg galne kisline/L. Z uporabo metode PCL (fotokemični nastanek superoksidnih radikalov) (Popov in sod., 1994) so bile vrednosti SOSA manjše in so imele ožji razpon (17–89 mg galne kisline/L). Večje vrednosti SOSA, dobljene z encimsko metodo, bi lahko bile posledica snovi v vinu, kot so tanini, ki vplivajo na zmanjšanje tvorbe superoksidnih radikalov (Hatano in sod., 1990).

Raziskave o vplivih različnih vinogradniških pogojev na AC so pokazale znatno večje vrednosti TAS in SOSA v vinih pozne trgatve. Na TAS vplivata tudi letnik (podnebje) in obdelava tal. Vrednosti SOSA, dobljene z encimsko metodo, so bile odvisne od letnika vina, medtem ko je na vrednosti SOSA, dobljene z metodo PCL, vplivala obdelava zemlje. Znatno večje vrednosti TAS in SOSA so imela vina iz grozdja s trajno zeleno površino krovnih posevkov (iz zatavljenih vinogradov) kot vina, kjer so se tla redno rahljala.

Senzorična analiza vin je nakazala, da se bi bilo razvoju NST moč izogniti s pozno trgatvijo, medtem ko preostali ukrepi (obdelava zemlje, obrezovanje trt) ni imelo znatnega učinka na intenziteto NST. TAS in SOSA sta pokazala negativno korelacijo z intenziteto NST: večja AC vina zmanjša tveganje za nastanek NST. Največjo korelacijo so določili med intenziteto NST in vrednostjo SOSA, določeno z encimsko metodo.

Senzorično analiziranje vin je vključevalo oceno intenzitete NST z lestvico, ki je obsegala naslednje vrednosti: 0 (ni NST) do 3 (močan NST). Glede na to, da dobljene ocene NST < 1 praktično pomenijo vina brez napake NST, se zdi, da vrednosti SOSA več kot 120 mg galne kisline/L (encimska metoda) oziroma 60 mg galne kisline/L (PCL metoda) v analiziranih vinih preprečujejo tvorbo NST. Kakorkoli, vina z manjšimi vrednostmi SOSA niso avtomatično kazala prisotnosti NST, čeprav je treba



omeniti, da so bila vina hranjena 1–4 leta pred določanjem AC (Hoenicke in sod., 2001).

## 2.4 VINOGRADNIŠKI UKREPI IN NST BELIH VIN

Odkar so leta 1989 prvič odkrili neznačilno ali netipično staranje belih vin v Nemčiji, je bilo predlaganih veliko možnosti za rešitev tega problema. Kakorkoli, še vedno ne poznamo ključnega odgovora na vprašanje, kaj povzroča NST in zakaj se pojavi samo v nekaterih vinih, v drugih pa ne. Prevladuje soglasno mnenje, da izvirajo vzroki za kasnejši nastanek napake NST v vinih že iz vinograda in da enološki ukrepi lahko le preložijo pojav tega problema, nikoli pa ga ne morejo popolnoma rešiti. Pripisujejo ga tvorbi spojine 2-AAP (Rapp in sod., 1993), katere prisotnost v koncentracijskem območju 0,7-1,0 µg/L predstavlja senzorični prag zaznave v belih vinih (Rapp in Versini, 1995). Senzorične lastnosti vin spremlja tudi zaznavna grenkost, trpkost ter surova, groba in neuglajena nota.

### 2.4.1 Preskrba tal z dušikom

Pomanjkanje dušika so najprej odkrili kot enega ključnih dejavnikov pri tvorbi NST. Problem lahko še poslabša pomanjkanje vode, ker je voda transportni medij dušika in brez nje tudi velike količine dušika nimajo nobenega učinka. Nizka raven dušika v zemlji zmanjša raven prostega aminokislinskega dušika (FAN) v moštu ki onemogoča normalen potek alkoholne fermentacije in pripomore k tvorbi NST (Schultz in sod., 2002).

Večino začetne rasti vinske trte po brstenju popkov omogočajo rezerve dušika in ogljikovih hidratov v lesenih delih rastline (Lönhertz, 1988) in to rezervo je potrebno dopolniti ob koncu sezone. V teh primerih celo velike zaloge dušikovih gnojil ne bodo takoj rešile problema (če sploh), saj bodo rastline najprej dopolnile svoje zaloge.

Tudi preostale dušikove spojine, poleg že omenjenih aminokislin, vplivajo na rast in fermentativno aktivnost kvasovk, v povezavi s tvorbo zelenih aromatičnih in drugih ekstraktnih snovi, medtem ko preostale dušikove spojine lahko določajo mikrobiološko nestabilnost, tvorbo neželenih produktov (ureo, etilkarbamat, biogene

amine) in beljakovinsko motnost (Bell in sod., 2005). Poleg sorte, vodnega stresa ali prezgodnje trgatve je prav pomanjkanje dušika v grozdju lahko pomemben dejavnik, ki vpliva na razvoj NST (Siebert, 2003).

#### 2.4.1.1 Razpoložljivost dušika za izboljšanje fermentacije ter kakovosti vina

Približno oceno celokupne vsebnosti dušika v grozdnem soku ali moštu predstavlja vsota dušika iz amoniaka in *alfa*-aminokislin. Priporočena vsebnost prostega aminokislinskega dušika (FAN), ki ga sevi kvasovk potrebujejo za normalen potek alkoholne fermentacije, naj bi variirala med 140 do 500 mg N/L. Če je ta vsebnost prenizka, se lahko fermentacija upočasni ali ustavi, kar posledično vodi v vina z neželenim večjim preostankom nepovretega sladkorja. Problematične fermentacije včasih spremljajo tudi tvorba vodikovega sulfida in drugih (reduciranih) žveplovih spojin. Druge neželene arome pa predstavlja tudi neznačilen starikav ton – NST v belih vinih. Vinogradniki pogosto dodajajo hranila v mošt, da bi uravnotežili opažene prehranske pomanjkljivosti (Watson in sod., 2000)

Upočasnjena ali zaustavljena fermentacija sta pogosti v Oregonu in vinogradniki pogosto poročajo o težavah s potekom in dokončanjem alkoholne fermentacije večih letnikov iz specifičnih vinogradov. Analiza listnih pecljev iz vinogradov Oregona v triletni študiji je nakazala v visokih odstotkih vin dosledno pomanjkanje dušika. Tržni vzorci mošta, vzorčeni ob trgatvah v triletnem obdobju, so vsebovali naslednje vsebnosti dušikovih spojin: vsebnost dušika iz amoniaka: 0-145 mg N/L, vsebnost dušika iz aminokislin: 35-380 mg N/L in celokupna vsebnost FAN: 38-500 mg N/L. Delež vzorcev mošta sorte chardonnay, ki so vsebovali FAN manj kot 140 mg N/L so bili naslednji: 80 % v letniku 1998 in le 17 % v letniku 1999. Deleži vzorcev mošta sorte modri pinot z manj kot 140 mg N/L pa so bili naslednji: 1997 – 39 %, 1998 – 34 % in 1999 le 8,6 % (Watson in sod., 2000).

#### 2.4.1.2 Vsebnost prostega aminokislinskega dušika (FAN)

Vsebnost FAN se je v fazi zorenja = *véraison* (mehčanje in obarvanje jagod) (*veraison*) zmanjšala do ravni, ki so bile manjše od priporočene minimalne vrednosti 140 mg N/L. To je sovpadlo z obdobjem zelo hitre rasti grozdnih jagod, ter s pridobitvijo maksimalne velikosti grozdov konec septembra. Posledično se je FAN izrazito povečeval v poznejših stopnjah dozorevanja, kar je sovpadalo z znatnim zmanjšanjem teže jagod zaradi dehidracije in mehčanja med obdobjem suhega in toplega vremena. Hitro povečanje vsebnosti FAN v zadnjih dveh tednih pred trgatvijo je posledica fermentabilnega dušika iz prostih *alfa*-aminokislin, ki se je povečala za faktor 2,5-krat od 60 na 150 mg N/L. Nasprotno se je vsebnost dušika iz amoniaka med zorenjem zmanjšala na približno 35 mg N/L ob trgatvi. Čeprav je bil FAN prisoten v večjih količinah v jagodah iz suhih tretiranj v primerjavi z jagodami iz namakanih tretiranj med zorenjem, so bile razlike ob trgatvi minimalne v vseh tretiranjih, saj je FAN dosegel vsebnost 180 mg N/L. Razlike v letnikih so lahko posledica zrelosti in vremenskih razmer med zorenjem in ob trgatvi. Zato je pomembna ocena učinkov prakse gospodarjenja vinogradov na sestavo vin ter njihovo kakovost glede na več letnikov (Watson in sod., 2000).

#### **2.4.2 Krovni posevki**

Krovni posevki tekmujejo za dušik in vodo ter lahko poslabšajo problem. V vinogradih s plitvo zemljo ter zemljo z nizko zmožnostjo zadrževanja vode priporočajo obdelavo krovnih posevkov, urejenih med zimskim obdobjem z osutjem ali celo brazdanjem v izmeničnih vrstah. Prednost v tem sezonskem obdobju je v tem, da je v zemlji še vedno dovolj vode, tako da se lahko nadaljuje mineralizacija dušika iz organskih snovi. Poleg tega bo ta proces trajal 2-3 tedne ustrezno s časom, ko trte začnejo vsrkavati dušik iz zemlje. Drugi vrh jemanja dušika je okrog zorenja grozdja, ko je večina dušika prisotna v grozdu. V avgustu večinoma prevladujejo sušni pogoji, zaradi česar dodan dušik ali osutje ne bo učinkovito. Poleg tega je dodajanje dušika v tem obdobju rizično, kajti padavine v septembru lahko povzročijo prekomerne količine dušika in rast grozdja, kar lahko povzroči okužbo z botritisom. V izogib temu

lahko sredstva za listno (foliarno) gnojenje, ki vsebujejo dušik, premagajo problem, vendar še vedno poteka raziskava o najboljši sestavi teh gnojil (Schultz in sod., 2002).

### **2.4.3 Namakanje, gostota sajenja in odstranjevanje listov vinske trte**

Na splošno NST povzročajo stresi. Kritičen trenutek je očitno pred in med zorenjem grozdja. NST pogosteje nastane v suhih vinogradih in sušnih letnikih, zato bi k preprečevanju nastanka NST lahko pripomoglo namakanje. To bi bilo povezano z izboljšanim vsrkavanjem dušika, ali pa tudi ne, saj je bilo dokazano, da lahko z namakanjem precej povečamo koncentracijo mikroelementov, kot sta cink in mangan, ki sta pomembna koencima za metabolizem kvasovk. Je pa moteče, da so vina sorte renski rizling iz poskusov z namakanjem vinogradov, dosledno ocenili kot bolj grenka v primerjavi z vini, kjer trte niso bile namakane, kjer je bila grenkoba pogosto sodejavnik NST. Ker je povečana vsebnost aminokislin v moštu obratno sorazmerna s pomanjkanjem padavin med dozorevanjem grozdja, je prav aminokislina triptofan izjema, katerega vsebnost naj bi se po literaturnih podatkih v teh pogojih značilno povečala (Schultz in sod., 2002).

Gostota sajenja lahko v visoki meri vpliva na vsrkavanje dušika ter tudi na senzorično zaznavo " sočnosti " renskega rizlinga. V gostih nasadih so korenine prisiljene v prodiranje v globlje sloje prsti, kar posledično vpliva na pridobivanje vode in dušika med stresnimi obdobji in precej poveča koncentracije aminokislin v grozdnem soku in vinih. Pravzaprav je dvojna gostota nasadov s 100 % krovnim posevkom dovolj povečala koncentracijo aminokislin, da je ostala nad koncentracijskim pragom 1000-1300 mg/L, ki je pogosto omenjena kot potrebna za normalen potek fermentacije (Schultz in sod., 2002)

Odstranjevanje listov vinske trte z območja okoli grozdja naj bi zmanjševala vsebnost dušika v grozdju do take mere, da povzroča težave z alkoholno fermentacijo. Lahko preračunamo, da dušik v listih, ki jih odstranimo z območja zorenja pri vinski trti sorte renski rizling, lahko popolnoma razloži razliko v aminokislinskem dušiku med odstranjevanjem listov in kontrolnimi postopki, kar sproža vprašanje, ali ta ukrep

pravzaprav poslabša potencialne probleme z NST. Kakorkoli, zadnji rezultati niso pokazali nobenega učinka odstranjevanja listja na 2-AAP.

#### **2.4.4 Količina pridelka in čas trgatve**

Velike količine pridelka so pogosto povezovali s tvorbo NST, vendar pa so tudi tu izjeme, zaradi katerih je potrebno ponovno oceniti vzročno razmerje med različnimi dejavniki iz vinogradov ter tvorbo NST. Minimalno obrezane trte imajo veliko večji pridelek grozdja kot obrezane trte. Kljub pridelavam 20-30 ton/ha (v primerjavi z 10-12 ton/ha pri obrezanih trtah), ni bilo NST v vinih sorte renski rizling niti v t.i. "NST" letnikih kot npr. 1999, medtem ko so kontrolni vzorci začeli kazati prisotnost NST. Tako nagnjenje so potrdile druge sorte v drugih nemških vinorodnih okoliših in regijah (Schultz in sod., 2002).

Zgodna trgatev je očitno ključni dejavnik NST ne glede na sorto. Obstaja očitna korelacija med dušikom v grozdju ter prestavljanjem datuma trgatve ne glede na koncentracijo sladkorja. Kljub povečani nevarnosti gnitja zaradi botritisa in drugih bolezni zaradi odlašanja s trgatvijo v hladnih podnebnih področjih, je to očitno še najbolj zanesljivo in učinkovito vinogradniško sredstvo proti NST.

## **2.5 VINARSKI UKREPI IN NEGA VINA**

### **2.5.1 Staranje vina, vpliv mikroorganizmov med alkoholno fermentacijo in *beta*-glukozidazna aktivnost**

Aroma grozdja, mošta in vina je sestavljena iz številnih spojin, kot so aldehidi, ketoni, kisline, estri, alkoholi idr., ki se v okviru posameznih sort količinsko razlikujejo. Med alkoholno fermentacijo in med zorenjem vina se specifične aromatične snovi dopolnjujejo z različnimi karakterističnimi komponentami. Arome v vinih delimo v pet skupin in sicer sortne, predfermentativne, fermentativne, evolucijske in zunanje

arome. Četrta skupina, evolucijske arome, se razvije med zorenjem in staranjem vina. Vina med staranjem razvijejo karakteristične arome iz prisotnih spojin v vinu in glede na pogoje, v katerih skladiščimo oziroma staramo vino. V procesu zorenja in staranja vina se dogajajo različne kemijsko kompleksne reakcije (hidroliza, esterifikacija, oksidacija, redukcija), ki povsem spremenijo okvir arom. Pomembni dejavniki, ki vplivajo na razvoj različnih arom so predvsem temperatura, vsebnosti kisika, žveplovega dioksida in fenolnih spojin, prav tako pa so pomembne tudi vsebnosti kovinskih ionov (železa, bakra), ki kondicionirajo razvoj nekaterih hlapnih spojin. Izhodiščna dejavnika, kemijska sestava vina in skladiščenje, vplivata na fizikalno-kemijske reakcije in povzročata pozitivne ali negativne senzorične spremembe v vinu. Staranje vina je zelo zapleten proces, ki drastično vpliva na kemijsko sestavo vina (Košmerl in sod., 2007).

Med ostalimi, nevinogradniškimi dejavniki, odgovornimi za nastanek NST se pogosto omenjajo tudi mikroorganizmi, predvsem različne vrste kvasovk in bakterij (Huehn in sod., 1997; Huehn in sod., 1999; Sponholz in sod., 1997). Tako npr. kvasovke vrste *Kloeckera apiculata* in *Metschnikowia pulcherrima* tvorita značilno večje količine 2-AAP kot vrsta *Saccharomyces cerevisiae* (Sponholz in sod., 1997).

Značilno za vrsto kvasovk *Saccharomyces cerevisiae* je, da se 2-AAP ne tvori iz aminokislina L-triptofan, temveč iz L-kinurenina in indol-3-ocetne kisline (IAA), ki sta podvržena kemijski razgradnji (Dollmann in sod., 1996). Slednja IAA se lahko veže tudi s fenolnimi spojinami, ki so pomembne sestavine in antioksidanti rdečih vin. Z njimi je povezana manjša verjetnost nastanka NST (Schwab in sod., 1999); vsekakor je samo nevezana indol-3-ocetna kislina občutljiva na oksidativno razgradnjo. Ne glede na vrsto kvasovk je dokazana majhna tvorba 2-AAP takoj po zaključeni alkoholni fermentaciji mošta, ki pa se značilno poveča med npr. šestmesečnim zorenjem vina pri 20 °C. V primeru fermentacijskega poskusa v sintetičnem gojišču je 2-AAP prisoten že takoj ob koncu fermentacije, kar kaže na stresne razmere kvasovk med fermentacijo (Huehn in sod., 1999). V literaturi žal najdemo izredno maloštevilne raziskave o dejanskem samostojnem vplivu kvasovk, dodatku hranilnih snovi za kvasovke in dodatku glutaciona na zmanjšano tvorbo 2-AAP, najdemo pa primerjalne raziskave z vplivom dodatka askorbinske kisline.

Nesporno je dejstvo, da je z dodatkom hranilnih snovi za kvasovke in skrbno izbiro kvasovk (lahko tudi mešane kulture) uspešno zadržimo ali celo preprečimo tvorbo 2-AAP, tudi v pogojih dodatka samo diamonijevega hidrogenfosfata, neaktivnih kvasovk (mikrohranila: tiamin in celične stene kvasovk) v kombinaciji z glutationom (Rauhut in sod., 1996).

Staranje renškega rizlinga, ki vodi v aromo kerozina, se vidi kot tvorba 1,1,6-trimetildihidronaftalena (TDN) preko prekursorjev, kot so  $\beta$ -karoteni in produkti luteina. Ti prekursorji so vezani pretežno na sladkorje, predvsem na glukozo v vinih in na dolge verige maščobnih kislin v rastlinskih delih. V obeh tipih vezave teh prekursorjev lahko pride do prisilne razgradnje z različnimi vrstami kvasovk. Poskusi so pokazali, da sevi kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* z visoko  $\beta$ -glukozidazno aktivnostjo lahko tvorijo manjše koncentracije TDN, kot tisti z nižjo  $\beta$ -glukozidazno aktivnostjo (Sponholz in Huehn 1996).

### **2.5.2 Povezava med pojavom NST in koncentracijo proste žveplove(IV) kisline**

Pri letniku 1999 je pri sorti renski rizling potekala alkoholna fermentacija s kvasovkami vrste *Saccharomyces cerevisiae* do suhega. Po alkoholni fermentaciji je bilo mlado vino pretočeno v šest cistern iz nerjavnega jekla. Pet cistern je nacepljenih s kulturami mlečnokislinskih bakterij, v eni cisterni pa je potekala spontana jabolčno-mlečnokislinska fermentacija (biološki razkis). V vseh cisternah je potekel biološki razkis z želeno vrsto *Oenococcus oeni*. Z molekularnimi tehnikami je bilo dokazano, da so sevi začetnih kultur dominirali proces fermentacije. V vse cisterne je bil dodan  $\text{SO}_2$  (35-45 mg/L prostega  $\text{SO}_2$ ) neposredno pred stekleničenjem. Vina so bila senzorično analizirana dva meseca po stekleničenju. Opazno je bilo, da je šest vin kazalo drugačen senzoričen vpliv NST in da so ti rezultati sovpadali s preostalo količino proste žveplove(IV) kisline v vinih. Vina z najmanj 25 mg/L prostega  $\text{SO}_2$  niso kazala pojava NST, tj. tri vina s spontano in dve s cepljenim biološkim razkisom. V treh vinih pa se je kazala tipična senzorična napaka NST. V tem poskusu je imelo vino z najbolj izrazitim senzoričnim priokusom NST, koncentracijo prostega  $\text{SO}_2$  9 mg/L, s srednjim NST 12 mg/L in najšibkejšo napako NST 15 mg/L (Gafner, 2002).

V vinski kleti v vzhodnem delu Švice ob Züriškem jezeru so opazili v letniku 1999 v vseh belih vinih senzorično napako NST, vendar so bile s preizkušanjem zaznavne različne stopnje pojava NST. Izmerjene koncentracije 2-AAP treh različnih vzorcev vin Müller-Thurgau so bile 2,0 µg/L, 1,5 µg/L in 2,0 µg/L. V teh vinih so koncentracije skupne žveplove(IV) kisline zelo variirale (118 mg/L; 38 mg/L in 54 mg/L). Največja vsebnost 118 mg/L bi lahko bila v vinu, kateremu so dvakrat dodali SO<sub>2</sub>, a brez uspešnega preprečevanja napake NST. Želene ali pričakovane stabilnosti proste žveplove(IV) kisline 35-45 mg/L v tem vinu niso dosegli (le 26 mg/L). Enaka vina, iz istega vinograda, iz iste kleti, a letnika 2000 niso kazala senzorične napake NST. Ta vina so stabilizirali s 40-45 mg/L prostega SO<sub>2</sub> pred stekleničenjem; njegovo stabilnost pa so spremljali dalj časa. Koncentracije prostega SO<sub>2</sub> morajo biti stabilne najmanj tri tedne. Če je koncentracija prostega SO<sub>2</sub> padla v treh tednih, so ponovno dodali SO<sub>2</sub> do zelene koncentracije ter spremljali stabilnost naslednje tri tedne. Vina letnika 2000 so imela šest mesecev po stekleničenju še vedno koncentracije prostega SO<sub>2</sub> 35-45 mg/L, kar pomeni, da so bila vina res stabilna.

Vina morajo imeti stabilne koncentracije prostega SO<sub>2</sub> več kot tri tedne pred stekleničenjem. Menimo, da je stabilnost prostega SO<sub>2</sub> pred stekleničenjem bolj pomembna zaradi senzoričnega vpliva napake NST, kot absolutna koncentracija proste žveplove(IV) kisline; koncentracije 35-45 mg/L pa bi morale biti ciljne (Gafner, 2002).

### **2.5.3 Možnost dodajanja askorbinske kisline za zmanjšanje pojava NST**

Pri letniku 2000 so bila obdelala nekatera bela vina, ki so kazala senzorično napako NST, z dodatkom askorbinske kisline. V poskusu so vedno primerjali tretirana in netretirana vina, da bi videli dejanski vpliv dodane askorbinske kisline. V nadaljevanju je sledil postopek, s katerim so se najbolj uspeli rešiti senzoričnega priokusa NST v vinih.



Prvič, vina morajo biti absolutno stabilna v koncentraciji proste žveplove(IV) kisline (35-45 mg/L). Drugič, askorbinsko kislino je treba dodajati v dveh korakih. V Švici je dovoljen dodatek askorbinske kisline 150 mg/L. Najprej so dodali 75 mg/L in po najmanj 12-ih urah so dodali še preostalih 75 mg/L askorbinske kisline. Tretjič, ni možno meriti koncentracije žveplove(IV) kisline po tretiranju z askorbinsko kislino, ker daje lažno previsok rezultat. Pred merjenjem koncentracije žveplove(IV) kisline po tretiranju z askorbinsko kislino je potrebno vina destilirati (Gafner, 2002).

Kot drugo možnost dodajanja askorbinske kisline vinu v literaturi opisujejo pripravo vina brez napake NST po Veitshoechheimerjevem postopku. Takoj, pred ali po pretakanju mlademu vinu dodamo 10 g/hL (100 mg/L) askorbinske kisline. Askorbinsko kislino je treba v sodu enakomerno porazdeliti. Po najkasneje dveh dneh se zaprt sod kot običajno žvepla.

Pri senzoričnem preverjanju se pogosto druge napake identificirajo kot NST. Postopek z askorbinsko kislino, t.i. Veitshoechheimerjev postopek, ni primeren za preprečevanje teh napak za vse vrste vin; npr. suha vina ne postanejo bogata in zrela (C. Schliessmann Kellerei- chemie GmbH&Co .KG. 2005).

Zorenje vina z askorbinsko kislino zahteva določne previdnostne ukrepe:

- askorbinska kislina moti določanje prostega SO<sub>2</sub>, simulira žveplove(IV) kislino, kar je treba pri analizi upoštevati.
- zračenje vin je problematično, ker askorbinska kislina oksidira. Sodi morajo biti brezpogojno neprenehoma polni in zamašeni.
- obdelava vin z bekserjem (H<sub>2</sub>S v vonju in okusu) z bakrovim sulfatom je omejena, ker obstaja nevarnost usedline bakra.
- vino naj ne pride v stik z napravami iz barvnih kovin in z vijačnim navojem.

#### **2.5.4 Nadaljnji kletarski ukrepi za preprečevanje nastanka NST**

Med nujne kletarske ukrepe za preprečevanje nastanka NST prištevamo:

- kontrolo temperature alkoholne fermentacije,
- hladno skladiščenje v sodih iz legiranega jekla,
- zgodnje polnjenje, prodajo in porabo.

Problem pojava NST predstavljajo tudi nepravilna ali nepopolna hladna veriga pri transportu vina, prav tako mehanski tresljaji pri transportu, nato neprimerne skladiščne temperature in močna UV-svetloba na prodajnih policah trgovskih centrov, itd. V prihodnje bi bilo mogoče tudi tem problemom pri odpravi napake NST nameniti več pozornosti.

### **3 MATERIAL IN METODE DE LA**

V belih sortnih vinih smo potencialni razvoj NST določili s hitrim testom Würzburger UTAFIX-Test. Izbranim svežim vzorcem vina smo določili vsebnost 2-AAP s plinsko kromatografijo z masnim detektorjem (GC-MS). Rezultate kemijskih in senzoričnih analiz vzorcev vin smo statistično obdelali.

#### **3.1. MATERIAL**

Potencialni razvoj napake NST s pomočjo hitrega Würzburger UTAFIX - Testa smo določili naslednjim vzorcem mladih belih vin (preglednica 1).

V posameznih vzorcih belih vinskih sort iz dveh vinorodnih dežel (v.o. Štajerska Slovenija in Slovenska Istra), letnikov 2003-2005, smo v najmanj treh ponovitvah določili vsebnost 2-AAP. V analizo je bilo vključenih 16 slovenskih vin različnih sort, letnikov, proizvajalcev in vinorodnih dežel (preglednica 2), ki se večinoma pojavljajo pri nas na trgu. Za analizo vsebnosti 2-AAP v belih vinih s plinsko kromatografijo in masno detekcijo (GC-MS) smo uporabili naslednje vzorce belih vin (preglednica 2).

Preglednica 1: Vzorci belih vin

Vzorec vina	Sorta/zvrst vina	Letnik	Würzburger UTAFIX - Test	Deskriptivna senzorična analiza
1	Muškat ottonel	2003	DA	NE
2	Muškat ottonel	2005	DA	NE
3	Mešano belo	2005	DA	DA
4	Laški rizling	2005	DA	DA
5	Sauvignon	2005	DA	DA
6	Chardonnay	2005	DA	DA
7	Malvazija	2005	DA	DA
8	Rebula	2005	DA	NE
9	Rumeni muškat	2005	DA	DA
10	Renski rizling	2004	DA	DA

Preglednica 2: Vzorci belih vin, uporabljeni za analizo 2-AAP s plinsko kromatografijo in masno detekcijo

Vzorec vina	Sorta/zvrst vina	Okrajšava	Letnik
1	Laški rizling	LR	2003
2	Laški rizling	LR	2004
3	Laški rizling	LR	2005
4	Sauvignon	SAU	2003
5	Sauvignon	SAU	2004
6	Sauvignon	SAU	2005
7	Malvazija	MAL	2003
8	Chardonnay	CH	2003
9	Rebula	REB	2005
10	Muškat ottonel	MO	2003
11	Muškat ottonel	MO	2005
12	Mešano belo	MB	2005
13	Laški rizling	LR	2005
14	Sauvignon	SAU	2005
15	Chardonnay	CH	2005
16	Malvazija	MAL	2005

## 3.2 METODE DELA

### 3.2.1 Würzburški UTAFIX - Test za preverjanje možnega nastanka NST v mladem vinu

Test služi kot podlaga za pripravo mladega vina brez napake NST po Veitshoechheimerjevem postopku.

#### **Princip testa:**

2-aminoacetofenon (2-AAP) velja kot vodilna substanca netipične starikavosti belih vin (v nadaljevanju NST). Po aktualnih spoznanjih nastaja 2-AAP šele po žveplanju mladega vina. Tako se da z UTAFIX - Testom pri nežveplanem in pri že žveplanem mladem vinu preveriti, če le-to kaže nagnjenost h kasnejšem pojavu napake NST. Test temelji na senzoričnem ocenjevanju dveh oz. štirih paralelk vzorca mladega vina po tem, ko so bili dodani posebni reagenti in po tridnevnem skladiščenju vina pri 40 °C. Po tem času se pri mladem vinu že lahko razvije napaka NST in se temu primerno ukrepa, da bi preprečili nadaljnjo tvorbo NST v mladih belih vinih.

#### **Vzorčenje:**

Po koncu alkoholne fermentacije ali po pojemajoči fermentaciji se vzame 1-2 L mladega vina iz prve tretjine steklenice. Predpostavka za izvedbo testa je, da je vino v veliki meri že povrelo.

#### **Izvedba testa:**

Dodajanje reagentov UTAFIX-1 nežveplanem mladem vinu: Motno mlado vino pred dodajanjem reagentov UTAFIX-1 en dan pustitimo na hladnem, da usedlina sedimentira. Manj motna vina se lahko takoj testira, in sicer k 1 L nežveplanega mladega vina dodamo 2,0 mL reagenta UTAFIX-1. Če je mlado vino že žveplano in je vsebnost prostega SO<sub>2</sub> več kot 40 mg/L, potem reagenta UTAFIX-1 ne dodamo, če pa vino vsebuje manj kot 40 mg/L pa dodamo 0,5 mL reagenta UTAFIX-1 na en liter vzorca žveplanega vina.

Mlado vino se po dodatku reagenta UTAFIX-1 razdeli v dve ali štiri 250 mL steklenice z navojnim pokrovčkom, z oznakami A in paralelka (B) ter C in paralelka

(D): Vzorcju C in (D) se doda še reagent UTAFIX-2. Vsi vzorci se skladiščijo tri dni pri temperaturi 40 °C v ustrezni grelni napravi (inkubator, sušilna naprava). Temperatura se preverja s termometrom. Po ohladitvi se opravi senzorična analiza in primerjava vzorcev A oz. (B) in C oz. (D) z UTAFIX-3 (standardno raztopino 2-AAP) in preveri, ali je mogoče zaznati senzorično napako NST.

#### **Reagenti za UTAFIX - Test:**

- raztopina UTAFIX-1 v rjavi steklenici z 2-mililitrsko pipeto in kanilo;
- raztopina UTAFIX-2 v plastenki z lopatko in pokrovom;
- raztopina UTAFIX-3 (standardna raztopina 2-AAP z zelo izrazitim vonjem);
- raztopina UTAFIX-4 (raztopina za določitev prostega SO<sub>2</sub> v vinih z askorbinsko kislino) v plastenki s plastično kapalko

#### **Senzorično preverjanje NST:**

- Vzorca A (B) in C (D) se po ohladitvi na sobno temperaturo napolni v vzorčne steklenice (po potrebi steklenice pred vsakokratno analizo splakniti z vodo, količina polnjenja 50 %).
- Pri vzorcih A (B) in C (D) se preverijo značilnosti NST za vonj in okus. Pri tem je vzorec A (B) tisti, pri katerem se preveri NST, vzorec C (D) pa služi kot primerjava, pri katerem pojava NST naj ne bi bilo.

Senzorično se preveri:

- pri enojnem preverjanju:

če je vzorec A drugačen od vzorca C.

- pri dvojnem preverjanju:

če sta vzorca A in B kot tudi C in D vsakokrat identična.

če sta vzorca A in B različna od C in D.

Priporočeno je, da se poskušanje izvede z več pokuševalci, brez predhodnega poznavanja vzorca. Pri poskušanju dvojnih vzorcev pokuševalci v paru poskušajo vzorce (A/B oz. C/D). S tem se ugotovi zanesljivost pokuševalcev. Prostor poskušanja

naj bi bil čimbolj nevtralen glede vonjav. Pri dvoumnih rezultatih se poskušanje po ponovnem eno- do dvodnevnem skladiščenju ponovi.

#### **Primeri vrednotenja rezultatov senzorične analize:**

**Primer 1:** Če ima vzorec A (B) šibke značilnosti NST; vzorec C (D) nima značilnosti NST: Vino lahko po žveplanju in med skladiščenjem tvori NST. Razvijanje z askorbinsko kislino se zdi smiselno!

**Primer 2:** Vzorca A (B) in C (D) nimata značilnosti NST: Vino z veliko verjetnostjo ne tvori NST: Če vzorec C (D) v primerjavi A (B) ne kaže NST, se lahko z dodajanjem askorbinske kisline v mlado vino nastanek NST zmanjša ali pa se pojavi kasneje kot običajno. To ustreza **pripravi vina brez napake NST po Veitshoechheimerjevem postopku**.

#### **Priprava standardnih raztopin 2-AAP:**

Priprava ni nujno potrebna, vendar pa je pri pomanjkanju izkušenj z UTAFIX - Testom v pomoč. Pri tem je priporočljiva priprava standardov vonja: enemu litru nežveplanega vina dodamo 2 mL reagentov UTAFIX-1 in razdelimo v štiri steklenice po 250 mL. Potem dodamo še raztopino UTAFIX-3:

- 5 kapljic k 250 mL: standard za šibko NST
- 10 kapljic k 250 mL: standard za srednjo NST
- 15 kapljic k 250 mL: standard za izrazito NST
- 20 kapljic k 250 mL: standard za intenzivno NST

Za preverjanje NST v **dozorelih vinih**, katerim dodamo različne količine raztopine UTAFIX-3, se lahko oceni, če bodo dodane majhne koncentracije 2-AAP prišle do izraza. Za to se v vzorec 250 mL vina postopoma dodaja raztopina UTAFIX-3 in se po vsakem dodatku poskuša v trikotnem ali triangel testu (preizkušanje še z dvema primerjalnima-kontrolnima vzorcema). Če je vzorec z dodano testno raztopino prepoznaven kot različen, je dosežen senzoričen prag zaznavnosti NST v zrelih vinih.

#### **Rezultat:**

- 5 dodanih kapljic UTAFIX-3 kaže že izrazito UTA: Pozor! Vino je zelo izpostavljeno NST, kar pomeni, da že majhne količine 2-AAP lahko vodijo do izrazite NST; vino skladiščiti na hladnem in čim prej prodati.
- šele 10 dodanih kapljic UTAFIX-3 kaže izrazito NST: pri hitri porabi in

hladnih pogojih skladiščenja izrazito NST ni za pričakovati.

- šele več kot 15 dodanih kapljic UTAFIX-3 kaže izrazito NST: vino lahko prenese tudi večjo vsebnost 2-AAP.

Če je bil Würzburški UTAFIX - Test pozitiven, pomeni, da so bile ugotovljene spremembe NST pri vzorcu A (B), pri vzorcu C (D) pa sprememb NST ni bilo, lahko dodajanje askorbinske kisline pred ali kmalu po žveplanju mladega vina, zmanjša nastanek NST.

#### **Izvedba:**

Takoj, pred ali po pretakanju mlademu vinu dodamo 10 g/hL (100 mg/L) askorbinske kisline. Askorbinsko kislino je treba v sodu enakomerno porazdeliti. Po najkasneje dveh dneh se zaprt sod kot običajno žvepla.

### **3.2.2 Analiza 2-AAP s plinsko kromatografijo in masno detekcijo (GC-MS) po predhodni ekstrakciji (tekoče-tekoče, SPME)**

#### **Predpriprava vzorcev vina za analizo 2-AAP:**

S  $K_2CO_3$  (kalijevega(IV) karbonata), ki deluje kot pufrna raztopina, smo pH vina uravnali na vrednost 5,00. Nato smo vzorcu vina (700 mL) dodali 140g NaCl (natrijev klorid) in vino razdelili v 200 mL bučke. Vzorcem vina, pripravljenega za izračun statističnih podatkov, smo dodali različne koncentracije standardne raztopine 2-AAP in 250  $\mu$ L internega standarda dikloranilina. Tako pripravljeno vino smo v liju ločniku ekstrahirali z 20 mL pentana, in sicer smo pentan dodali trikrat (skupaj 60 mL). Zbrane frakcije smo centrifugirali (3000 obr./min; 10 minut) in nato na rotavaporju (vodna kopel 40 °C) izparili do suhega. V bučko smo nato dodali 3 mL pentana, odpipetirali v vialo ter analizirali na plinskem kromatografu z masnim detektorjem (GC-MS). 2-AAP je v vzorcih identificiran s primerjavo retenzijskega časa eksterne standarda 2-AAP.

Pri analitskem delu so bile uporabljene naslednje aparature:



- plinski kromatograf z masno selektivnim detektorjem (GC-MS) za določanje vsebnosti v 2-AAP po predhodni ekstrakciji (tekoče-tekoče, SPME) s pentanom; uporabljena kolona (ZB-WAX – 60 m x 0,32 mm x 1 µm);
- centrifuga, rotavapor, pH meter.

Koncentracijo 2-AAP v vzorcu vina ( $c_v$ , µg/L), v katerega smo dodali znano koncentracijo internega standarda  $s$ , smo izračunali z naslednjo relacijo:

$$\frac{A_v}{c_v} = F \cdot \frac{A_s}{c_s}$$

v kateri pomeni  $A_v$  površino kromatografskega vrha 2-AAP v vzorcu vina,  $c_v$  iskano koncentracijo 2-AAP v vzorcu vina (µg/L),  $A_s$  površino kromatografskega vrha 2-AAP v vzorcu internega standarda,  $c_s$  znano koncentracijo 2-AAP v vzorcu internega standarda (µg/L) in  $F$  odzivni faktor.

### 3.2.3 Senzorična analiza posameznih vzorcev sort belega vina

Uporabili smo deskriptivno – opisno senzorično analizo sedmih vzorcev belih vin, tako da smo ocenjevali posamezne lastnosti vin kot so barva, bistrost, vonj in okus. Vzorce vin smo z dodanimi UTAFIX reagenti pospešeno starali tri dni pri 40 °C, da so se razvili morebitno prisotni prekurzorji 2-AAP v vinu, po ohladitvi vzorcev pa je sledila opisna senzorična analiza z dvema ocenjevalcema.

### 3.2.4 Statistična analiza zbranih podatkov

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke smo statistično obdelali z računalniškim programom SAS (SAS Software. Version 8.01, 1999) z multiplo analizo variance – proceduro GLM (General Linear Models).

Statistični modeli za parametre vin so vključevali vplive različnih sort (S) (model 1), letnikov (L) (model 2), vinorodnih dežel (D)(model 3) in okolišev (O) (model 4).

$$y_{ij} = \mu + S_i + e_{ij} \quad (\text{model 1})$$

$$y_{ij} = \mu + L_i + e_{ij} \quad (\text{model 2})$$

$$y_{ij} = \mu + D_i + e_{ij} \quad (\text{model 3})$$

$$y_{ij} = \mu + O_i + e_{ij} \quad (\text{model 4})$$

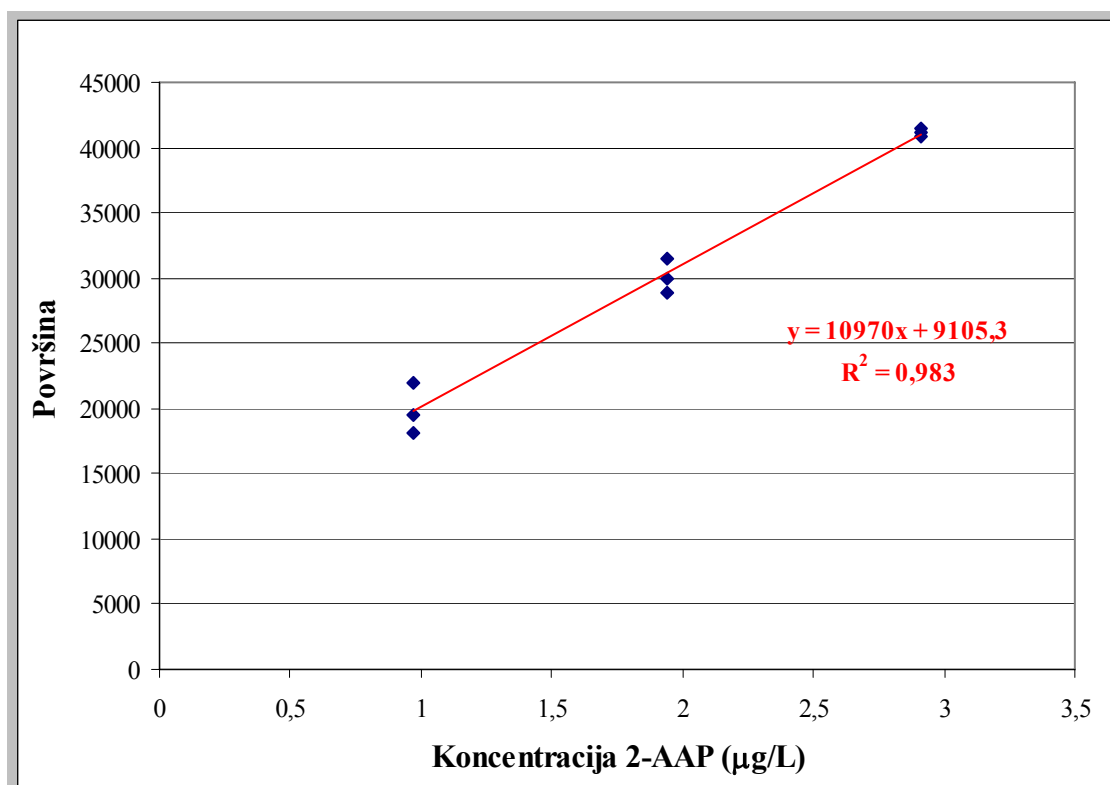
kjer je  $y_{ij}$  =  $ij$ -to opazovanje;  $\mu$  = povprečna vrednost;  $S_i$  – vpliv sort (CH-chardonnay; LR-laški rizling; MAL-malvazija; MB-mešano belo; REB-rebula; SAU-sauvignon);  $L_i$  – vpliv letnikov (2003, 2004, 2005);  $D_i$  – vpliv vinorodnih dežel (Podravje, Primorska);  $O_i$  – vpliv okolišev (Brda-Goriška Brda; Istra-Slovenska Istra; Štajerska-Štajerska Slovenija; Vipava-Vipavska dolina) in  $e_{ij}$ = ostanek.

Srednje vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa in so primerjane pri 5 % tveganju.

## 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

### 4.1 REZULTATI ANALIZE 2-AAP S PLINSKO KROMATOGRAFIJO

Vsebnost 2-AAP v vzorcih je bila izračunana po metodi internega standarda, ki je v našem primeru 2,4-dikloranilin. Na sliki 4 je prikazana umeritvena krivulja določanja 2-AAP po opisanem postopku 3.3.2.



Slika 4: Umeritvena krivulja standardne raztopine 2-AAP

Preglednica 3: Kemijski parametri in vsebnosti 2-AAP v izbranih vzorcih vina

Vzorec vina	Letnik	Vinorodni okoliš	Stanje vina	Reduc. sladkorji (g/L)	Prosti SO <sub>2</sub> (mg/L)	Alkohol (vol.%)	pH	2-AAP (µg/L)*	2-AAP (µg/L)**
Laški rizling	2003	Vipava	stekleničeno				3,24	0,71	<b>1,17</b>
Laški rizling	2004	Vipava	stekleničeno			12	3,31	0,67	<b>1,11</b>
Laški rizling	2005	Vipava	stekleničeno				3,28	0,38	0,63
Sauvignon	2003	Vipava	stekleničeno				3,21	0,5	<b>0,82</b>
Sauvignon	2004	Vipava	stekleničeno			12	3,22	0,2	0,33
Sauvignon	2005	Vipava	stekleničeno				3,25	0,17	0,28
Malvazija	2003	Istra	stekleničeno				3,27	0,38	0,63
Chardonnay	2003	Istra	stekleničeno				3,23	1,41	<b>2,07</b>
Rebula	2005	Brda	odprto		6,7		3,28	0,29	0,48
Muškat ottonel	2003	Štajerska	stekleničeno		25,3	10	3,37	0,38	0,63
Muškat ottonel	2005	Štajerska	stekleničeno		20,5		3,19	0,37	0,61
Mešano belo	2005	Štajerska	odprto	3,92	40,7	9,84	2,97	0,36	0,59
Laški rizling	2005	Štajerska	odprto	2,5	8,7	11,72	2,87	0,35	0,58
Sauvignon	2005	Štajerska	odprto	1,35	27,9	10,07	2,95	0,26	0,43
Chardonnay	2005	Istra	odprto	4,6	30,2	8,32	3,79	0,22	0,36
Malvazija	2005	Istra	odprto	7,25	28,2	9,25	3,69	0,3	0,5

\*koncentracija 2-AAP je izračunana z metodo internega standarda; \*\*koncentracija 2-AAP je izračunana z upoštevanjem % ekstrakcije

Vsebnost 2-AAP\*, izračuna po metodi internega standarda je manjša od končne vsebnosti 2-AAP\*\*, kjer smo upoštevali tudi % ekstrakcije (preglednica 3).

Odstotek ekstrakcije znaša 35 % za vzorce, katerih vsebnost 2-AAP je manjša od 1 µg/L in 53 % za vzorce vin, pri katerih je vsebnost 2-AAP od 1–2 µg/L.

Ob upoštevanju odstotka ekstrakcije (2-AAP\*\*), smo ugotovili, da se največje vsebnosti 2-AAP pojavljajo pri sortah vin letnika 2003, ki je veljalo za zelo sušno leto. Največje vsebnosti smo določili pri sortah chardonnay in laški rizling, po literaturnih podatkih senzorično zaznavne koncentracije 2-AAP v belih vinih (>0,7 µg/L), pa ima povišano vsebnost tudi vzorec sorte sauvignon. Na meji senzorične zaznave 2-AAP (0,63 µg/L) sta bili sorti malvazija in muškat ottonel,

letnika 2003. Pri vzorcih letnika 2004 smo zelo veliko vsebnost 2-AAP določili vzorcu laški rizling, dočim pri vzorcu sauvignon ni bila povečana. Pri vzorcih letnika 2005 so bile vsebnosti 2-AAP manjše kot 0,7 µg/L, torej pod senzorično zaznavnimi koncentracijami. Največje vsebnosti so bile ugotovljene pri sortah laški rizling in muškato tonel, ter pri zvrsti mešano belo (vsi več kot 0,58 µg/L), sledijo malvazija, rebula, sauvignon in chardonnay.

V literaturi je objavljeno, da se napaka vin NST pojavlja predvsem v sušnih letnikih, ko primanjkuje padavin. Iz naših podatkov je bilo ugotovljeno, da so bile največje vsebnosti 2-AAP v vzorcih letnika 2003, ki je pri nas veljalo za sušno leto, zato lahko vzrok dejansko pripišemo sušnemu letu z malo padavin. Če primerjamo letnike in sorte med seboj, je imela sorta laški rizling zelo velike vsebnosti 2-AAP v letnikih 2003 in 2004, v letniku 2005 pa tik pod senzorično zaznavno vrednostjo 0,7 µg/L v dveh vinorodnih okoliših, in sicer v Vipavski dolini in Štajerska Slovenija.

Na osnovi rezultatov lahko sklepamo, da gre za sorto, ki je verjetno bolj kot druge podvržena napaki NST, lahko pa k temu pripomore tudi to, da velja za bolj pozno dozorevajočo sorto, ki jo nekateri vinogradniki trgajo vedno prezgodaj. Upoštevati moramo tudi to, da je vino že bilo stekleničeno, čeprav je bila relativno velika koncentracija 2-AAP tudi pri vzorcu odprtega vina. Relativno velike vsebnosti 2-AAP sta vsebovala tudi vzorca stekleničenega vina sorte muškato tonel v letnikih 2003 in 2005. V vzorcih vin z zelo majhno vsebnostjo prostega SO<sub>2</sub> (<9 mg/L), to sta bila vina odprtega tipa rebula in laškimi rizling 2005, smo ugotovili večjo vsebnost 2-AAP kot v preostalih vzorcih vin letnika 2005.

#### 4.2 REZULTATI SENZORIČNEGA PREVERJANJA Z UTAFIX - TESTOM

Pri vzorcih belih vin, kjer je bil UTAFIX - Test negativen, vino z veliko verjetnostjo ne vsebuje senzorično zaznavne koncentracije 2-AAP, torej ne moremo govoriti o napaki NST. Vendar pa nam vzporedna GC-MS analiza vzorcev mladih vin letnikov 2005 pokaže že dokaj velike vsebnosti 2-AAP, zato moramo biti pazljivi, ker lahko še vsebujejo prekurzorje 2-AAP (preglednica 4). Zato nadaljnje spremljanje

koncentracije 2-AAP ne bi bilo odveč, saj se le-ta lahko v ugodnih razmerah za nastanek 2-AAP, poveča za 0,1-0,2 µg/L na leto.

Pri vzorcih mladega vina rebula in rumeni muškata 2005, kjer je bil UTAFIX - Test pozitiven, je možen dodatek askorbinske kisline v vino v koncentraciji 10 g/hL in pripravi vina brez napake NST po Veitshoechheimerjevem postopku. S tem se nastanek NST lahko zmanjša ali pa se pojavi kasneje kot običajno, vendar je arhiviranje tudi tako pripravljenega vina pod vprašajem. Vzorca muškata ottonel 2003 in renski rizling 2004, kjer je bil UTAFIX - Test ravno tako pozitiven, sta že stekleničena vina starejšega letnika, zato je najpriporočljivejši ukrep skladiščenje vina na hladnem in čim hitrejša potrošnja.

Preglednica 4: Rezultati UTAFIX - Testa v izbranih vzorcih vina

Vzorec vina	Letnik	Stanje vina	UTAFIX - Test	Priporočljivi nadaljnji ukrepi
Muškat ottonel	2003	stekleničeno	<b>pozitiven</b>	Skladiščenje na hladnem in čim hitrejša potrošnja
Muškat ottonel	2005	stekleničeno	negativen	
Mešano belo	2005	odprto	negativen	
Laški rizling	2005	odprto	negativen	
Sauvignon	2005	odprto	negativen	
Chardonnay	2005	odprto	negativen	
Malvazija	2005	odprto	negativen	
Rebula	2005	odprto	<b>pozitiven</b>	Dodatek askorbinske kisline – 10 g/hL (100 mg/L), takoj!
Rumeni muškata	2005	odprto	<b>pozitiven</b>	Dodatek askorbinske kisline – 10 g/hL (100 mg/L), takoj!
Renski rizling	2004	odprto	<b>pozitiven</b>	Skladiščenje na hladnem in čim hitrejša potrošnja

#### 4.3 REZULTATI DESKRIPTIVNE SENZORIČNE ANALIZE VZORCEV VINA

V našem primeru deskriptivne senzorične analize je bil pojav napake NST ugotovljen pri vzorcih sort sauvignon, malvazija in rumeni muškat letnika 2005 in pri sorti renski rizling letnika 2004 (preglednica 5).

Napaka NST je bila najpogosteje opisana z intenzivnejšo zlato in sijočo barvo. Vina imajo izgubljen sortni vonj, ki je ponavadi spominjal na vonj po zatohlem; pojavljal se je tudi vonj po zažgani masti in gumi, vonj je bolj hlapen, pogosto se pojavlja medena nota. Vina imajo prikrito cvetico, pojavlja se grenek okus, izstopajo kisline, ponekod je povečana vsebnost hlapnih kislin, vina imajo ubit okus, so izrazito neharmonična, primanjkuje jim svežine in so starikava.

Preglednica 5: Rezultati deskriptivne senzorične analize vzorcev belih vin

Vzorec vina	Letnik	Ocenjevalec 1	Ocenjevalec 2
Mešano belo	2005	A(B)-močnejša opalescenca, rahla oksidacija barve; zaprt vonj; maščoben okus (MLF)	A(B)-opalescenca, svetlo-rumena barva; SO <sub>2</sub> , nevtralen vonj s slabo izraženo cvetlico; okus je prazen
		C(D)-močna opalescenca; vonj po zažganem; neharmoničen, grenak, razslojen okus	C(D)-opalescenca, rahel rjav ton; medena nota, kislina je izrazitejša kot v A(B), v D manj medene note, okus boljši
Laški rizling	2005	A(B)-prepoznavna sortnost, MLF nota, rahla opalescenca, sijoča barva z zlatimi odtenki, prazen okus, premalo svežine	A(B)-opalescenca, rahel rjavkast odtenek; aldehydna nota, oksi zaznavna v vonju in okusu
		C(D)-zelenkast odtenek, opalescenca; v vonju zaznavna očetne kisline; svežina in sadnost v okusu, rahla grenkoba	C(D)-opalescenca; vonj spominja na maslo, v okusu manj; cvetlica je bolj intenzivna, ni pa pozitivna
Sauvignon	2005	A(B)-svetlejša barva, manjša motnost; prepoznavna sortnost	A(B)-opalescenca; sortna cvetica, dolgotrajna, tudi v ustih intenzivna; na okus lahkoten, piten, enostaven
		C(D)-večja opalescenca; v vonju nečist, po zažgani gumi (DMDS), izstopajoča kislina; boljša sadnost, manj zaznavna maščobnost v pookusu	C(D)-barva je intenzivnejša, bolj zlata; v okusu je <b>starikav</b> , izstopa kislina, rahla medena nota, zažgana mast
Chardonnay	2005	A(B)-sortnost v vonju manj izrazita; rahla oksidacija v vonju; sortnost in izrazita polnost	A(B)-opalescenca, za to sorto svetla barva, ni transparentna; na okus enostaven, kratek zaton
		C(D)-vonj bolj sorten, zaznavni oreški-lešnik; bolj svež, kislinski in saden okus; pookus po pivu	C(D)-opalescenca, intenzivnejša barva; na cvetico bolj zrel; polnejši, polj sorten, daljši zaton
Malvazija	2005	A(B)-opalescenca in intenzivno rumena barva, beljakovinska motnost; sortna, manj sadna; prikrit vonj z MLF; prazen okus	A(B)-bolj bistra; sorten vonj; srednje izražen SO <sub>2</sub> ; v okusu prazen
		C(D)-bolj sijoča barva; bolj hlapien vonj (žveplove spojine, po zažganem); izrazita neharmoničnost in grenkoba; H <sub>2</sub> S v pookusu; <b>starikavost</b> , ubitost	C(D)-barva je intenzivno zlata; cvetica je daljša, bolj izrazna, deluje zrelejše, ne mladostno; okus je grenak, brez kisline, ubit, ni svežine, <b>starikav</b>
Rumeni muškati	2005	A(B)-identična vzorca v vonju; prikrita sortnost; merkaptanska nota, razslojen okus- kislina in prazen okus	A(B)-še zaznavna cvetica sorte; vonj po praženem kruhu, tudi žveplove spojine; po okusu je bolj prazen
		C(D)-medena nota; poln okus z izrazito grenkobo; <b>starikavost</b> in zatohlost	C(D)-sortni vonj je izgubljen; zatohel vonj z noto po medu; v okusu <b>starikava</b> , zatohla in ubita aroma
Renski rizling	2004	A(B)-manj izražen firm; motnost; bolj hlapien vonj; SO <sub>2</sub> ; kovinski pookus	A(B)-lepa, bistra barva, zelenkasto-rumena; izražen SO <sub>2</sub>



		C(D)-opalescenca; zaprt, hlapen vonj; prikrita sortnost; razslojen, zatohel okus; medena nota v vonju, povišane hlapne kisline, <b>starikav</b>	C(D)-opalescenca; ni sortnega vonja, zatohla medena nota močno izražena; v okusu manj starikav kot rumeni muškatac 2005, vendar že <b>starikav</b>
--	--	---	--

#### 4.4 REZULTATI STATISTIČNE ANALIZE PODATKOV

Preglednica 6: Razlike v vsebnosti 2-AAP in vrednosti pH med različnimi sortami vin (Duncanov test,  $\alpha=5\%$ )

sorta/parameter	2-AAP*	2-AAP**	pH
Chardonnay	0,83 ± 0,74 <sup>a</sup>	1,24 ± 1,06 <sup>a</sup>	3,51 ± 0,31 <sup>a</sup>
Laški rizling	0,53 ± 0,19 <sup>ab</sup>	0,87 ± 0,31 <sup>ab</sup>	3,17 ± 0,18 <sup>bc</sup>
Malvazija	0,34 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,56 ± 0,11 <sup>b</sup>	3,48 ± 0,23 <sup>a</sup>
Mešano belo	0,40 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,66 ± 0,07 <sup>b</sup>	2,97 ± 0,01 <sup>c</sup>
Muškat ottonel	0,38 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,62 ± 0,09 <sup>b</sup>	3,28 ± 0,10 <sup>ab</sup>
Rebula	0,30 ± 0,11 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,18 <sup>b</sup>	3,28 ± 0,01 <sup>ab</sup>
Sauvignon	0,28 ± 0,15 <sup>b</sup>	0,47 ± 0,24 <sup>b</sup>	3,15 ± 0,12 <sup>bc</sup>
p-vred.	0,0171	0,0228	0,0002

$p \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilen vpliv;  $p \leq 0,01$  statistično visoko značilen vpliv;  $p \leq 0,05$  statistično značilen vpliv; neznačilen vpliv ( $p > 0,05$ ); skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

Iz rezultatov v preglednici 6 je razvidno, da ima sorta oz. zvrst vina statistično zelo visoko značilen vpliv na pH vina; pH vina je torej močno odvisen od sorte oz. zvrsti vina. Vrednosti pH vzorcev laški rizling in sauvignon sta statistično gledano enaki, ravno tako vrednosti pH vzorcev muškatac ottonel in rebula ter chardonnay in malvazija. Najnižjo vrednost pH je imel vzorec zvrsti vina mešano belo.

S statistično analizo je bilo ugotovljeno, da ima sorta vina statistično značilen vpliv na vsebnost 2-AAP v vzorcih vin. To najbolj velja za sorti laški rizling in chardonnay, kjer smo določili največje koncentracije 2-AAP in se koncentraciji 2-AAP statistično gledano razlikujeta od preostalih vzorcev vin, katerih vrednosti pa se med seboj statistično gledano ne razlikujejo.

Preglednica 7: Razlike v vsebnosti 2-AAP in vrednosti pH med različnimi letniki vin (Duncanov test,  $\alpha=5\%$ )

letnik/parameter	2-AAP*	2-AAP**	pH
2003	0,68 ± 0,46 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,65 <sup>a</sup>	3,26 ± 0,06 <sup>a</sup>

2004	$0,43 \pm 0,26^b$	$0,72 \pm 0,43^b$	$3,26 \pm 0,05^a$
2005	$0,31 \pm 0,10^b$	$0,51 \pm 0,17^b$	$3,25 \pm 0,30^a$
p-vred.	0,0007	0,0004	0,9932

$p \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilen vpliv;  $p \leq 0,01$  statistično visoko značilen vpliv;  $p \leq 0,05$  statistično značilen vpliv; neznačilen vpliv ( $p > 0,05$ ); skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

Ugotovili smo, da imajo letniki statistično zelo visoko značilen vpliv na vsebnost 2-AAP v vinu (preglednica 7). Vsebnost 2-AAP v vzorcih vin je bila največja pri letniku 2003, letnika 2004 in 2005 pa se statistično značilno ne razlikujeta. Letnik vina na pH vrednost vzorcev vin ne vpliva, med seboj se statistično gledano ne razlikujejo.

Preglednica 8: Razlike v vsebnosti 2-AAP in vrednosti pH med vinorodnima deželama (Duncanov test,  $\alpha=5\%$ )

vinorodna dežela/parameter	2-AAP*	2-AAP**	pH
Podravje	$0,35 \pm 0,07^a$	$0,58 \pm 0,12^a$	$3,07 \pm 0,19^b$
Primorska	$0,48 \pm 0,38^a$	$0,77 \pm 0,56^a$	$3,34 \pm 0,20^a$
p-vred.	0,2087	0,2105	<0,0001

$p \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilen vpliv;  $p \leq 0,01$  statistično visoko značilen vpliv;  $p \leq 0,05$  statistično značilen vpliv; neznačilen vpliv ( $p > 0,05$ ); skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

Statistično zelo značilno je bil dokazan vpliv vinorodne dežele na vrednost pH vina (preglednica 8). Vrednost pH vin vinorodne dežele Primorska je nekoliko višji od pH vin Podravja, statistično gledano se torej med seboj zelo visoko značilno razlikujeta. Na vsebnost 2-AAP v vinih vinorodni deželi Podravje in Primorska nimata statistično značilnega vpliva, vsebnost 2-AAP v vinih ni odvisna od vinorodne dežele, kjer je bilo vino pridelano.

Preglednica 9: Razlike v vsebnosti 2-AAP in vrednosti pH med vinorodnimi okoliši (Duncanov test,  $\alpha=5\%$ )

okoliš/parameter	2-AAP*	2-AAP**	pH
Brda	$0,30 \pm 0,11^a$	$0,48 \pm 0,18^a$	$3,28 \pm 0,01^b$
Istra	$0,59 \pm 0,56^a$	$0,90 \pm 0,80^a$	$3,49 \pm 0,26^a$
Štajerska	$0,35 \pm 0,07^a$	$0,58 \pm 0,12^a$	$3,07 \pm 0,19^c$
Vipava	$0,44 \pm 0,23^a$	$0,72 \pm 0,37^a$	$3,25 \pm 0,04^{bc}$
p-vred.	0,2490	0,2913	<0,0001

$p \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilen vpliv;  $p \leq 0,01$  statistično visoko značilen vpliv;  $p \leq 0,05$  statistično značilen vpliv; neznačilen vpliv ( $p > 0,05$ ); skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

Ugotavljali smo tudi vpliv vinorodnih okolišev na vsebnost 2-AAP, vendar statistično značilnih vplivov nismo dokazali (preglednica 9). Smo pa ponovno dokazali, da imajo na vrednost pH vin statistično zelo visoko značilen vpliv poleg vinorodnih dežel tudi vinorodni okoliši. pH vin je najvišji v vinorodnem okolišu Istra, sledijo Brda in Vipava, kjer sta vrednosti pH skoraj enaki, najnižji pH vin pa je v vinorodnem okolišu Štajerska.

Vse dobljene rezultate (analitske in senzorične) lahko primerjamo v preglednici 10.

Preglednica 10: Primerjava rezultatov deskriptivne senzorične analize in dveh metod določanja vsebnosti 2-AAP

Vzorec	Sorta	Letnik	Vinorodni okoliš	GC-MS 2-AAP ( $\mu\text{g/L}$ )	Senzorično preverjanje UTAFIX - Test	Deskriptivna senzorična analiza	Ujemanje različnih metod
1	Laški rizling	2003	Vipava	<b>1,17</b>			
2	Laški rizling	2004	Vipava	<b>1,11</b>			
3	Laški rizling	2005	Vipava	0,63			
4	Sauvignon	2003	Vipava	<b>0,82</b>			
5	Sauvignon	2004	Vipava	0,33			
6	Sauvignon	2005	Vipava	0,28			
7	Malvazija	2003	Istra	0,63			
8	Chardonnay	2003	Istra	<b>2,07</b>			
9	Rebula	2005	Brda	0,48			
10	Muškat ottonel	2003	Štajerska	0,63	pozitiven	–	<b>neskladno</b>
11	Muškat ottonel	2005	Štajerska	0,61	negativen	–	skladno
12	Mešano belo	2005	Štajerska	0,59	negativen	negativen	skladno
13	Laški rizling	2005	Štajerska	0,58	negativen	negativen	skladno
14	Sauvignon	2005	Štajerska	0,43	negativen	pozitiven	<b>neskladno s senz. analizo</b>
15	Chardonnay	2005	Istra	0,36	negativen	negativen	skladno
16	Malvazija	2005	Istra	0,50	negativen	pozitiven	<b>neskladno</b>

							<b>s senz. analizo</b>
17	Rumeni muškatac	2005	–	–	pozitiven	pozitiven	skladno
18	Renski rizling	2004	–	–	pozitiven	pozitiven	skladno

Vrednost pH in 2-AAP\* oz. 2-AAP\*\* nista v medsebojni korelaciji ( $r = -0,08$ ,  $p = 0,592$  oziroma  $r = -0,09$ ,  $p = 0,561$ ). Torej pH vrednost vina nima statistično značilnega vpliva na vsebnost 2-AAP v vinu. Prav tako negativna, a bistveno višja korelacija obstaja med letnikom in 2-AAP\* oz. 2-AAP\*\* ( $r = -0,52$ ,  $p = 0,0001$  oziroma  $r = -0,54$ ,  $p < 0,0001$ ).

## 5 SKLEPI

Kot metode dela za določevanje neznačilnega starikavega tona belih vin smo uporabili hitri Würzburški UTAFIX - Test, določitev vsebnosti 2-AAP kot glavne spojine za pojav NST v vinih z GC-MS in deskriptivno senzorično analizo nekaterih vzorcev belih vin.

V hitri Würzburški UTAFIX - Test je bilo vključeno devet vzorcev vin, kot pozitivni pa so se pokazali vzorci muškata ottonel 2003, renski rizling 2004 in rumeni muškata letnik 2005.

Pri določevanju vsebnosti 2-AAP z GC-MS so senzorično zaznavno koncentracijo 2-AAP (0,7 µg/L) presegli štirje od šestnajstih analiziranih vzorcev, in sicer laški rizling 2003 in 2004, ter sauvignon in chardonnay letnika 2003. Iz podatkov je bilo ugotovljeno, da je bila največja vsebnost 2-AAP v vzorcih letnika 2003, ki je pri nas veljalo za sušno leto, med sortami pa sta imela največjo vsebnost 2-AAP vzorca laški rizling in chardonnay.

Pri senzoričnem ocenjevanju vzorcev vin z deskriptivno senzorično analizo smo starikavost vin določili štirim od sedmih ocenjenih vzorcev vin. Lastnosti teh vin so se najpogosteje kazale kot nesorten, zatohel vonj s pogosto medeno noto, vina imajo prikrito cvetico, so izrazito neharmonična in starikava.

Statistična analiza vplivov različnih sort, letnikov, vinorodnih dežel in okolišev na vsebnost 2-AAP in vrednost pH v vzorcih vin je pokazala, da vsebnost 2-AAP v vinu ni odvisna od pH vina, dokazano pa letnik in sorta vina statistično značilno vplivata na vsebnost 2-AAP v vinu. Vinorodna dežela in vinorodni okoliš na vsebnost 2-AAP v vzorcih vin ne vplivata, imata pa statistično visoko značilen vpliv na pH vina. Na pH vina vpliva tudi sorta vina, medtem ko letnik vina na vrednost pH nima statistično značilnega vpliva.

V okviru znanih dejavnikov, ki so odgovorni za nastanek 2-AAP, smo določili značilno in pozitivno korelacijo z intenziteto senzorično zaznavne napake NST. Rezultati deskriptivne senzorične analize in dveh metod določanja vsebnosti spojine 2-AAP so se skladali v šestih od devetih vzorcev belih vin. Neskladnost med rezultati se je pokazala pri vzorcih muškata ottonel letnika 2003 ter sauvignon in malvazija letnika 2005.

Pri vzorcu muškata ottonel letnika 2003 smo ugotovili pozitiven rezultat hitrega Würzburškega UTAFIX - Testa, medtem ko je bila vsebnost 2-AAP še pod senzorično mejo zaznavnosti 2-AAP v vinu ( $0,7 \mu\text{g/L}$ ), vendar že zelo blizu tej vrednosti ( $0,63 \mu\text{g/L}$ ), kar bi lahko v praksi že pomenilo pojav napake NST, ki pa je manj izrazit.

Podoben rezultat se je pojavil tudi pri sortah sauvignon in malvazija letnika 2005, kjer je bila vsebnost 2-AAP pod senzorično zaznavno mejo ( $0,7 \mu\text{g/L}$ ), vendar sta bila vzorca po deskriptivni senzorični analizi že ocenjena kot starikava. Torej vsebnost 2-AAP ne sme biti eden in edini pokazatelj napake NST v vzorcu vina.

## 6 POVZETEK

V diplomsko delo je bilo vključenih osemnajst vzorcev slovenskih belih vin različnih sort, letnikov, proizvajalcev in vinorodnih dežel, ki se pojavljajo na trgu pri nas. Kot metode dela za določevanje neznačilnega starikavega tona belih vin smo uporabili hitri Würzburški UTAFIX - Test, določitev vsebnosti 2-AAP kot glavne spojine za pojav NST v vinih s plinsko kromatografijo (GC-MS) in deskriptivno senzorično analizo nekaterih vzorcev belih vin. Rezultate vseh metod dela smo primerjali med seboj. Vplive različnih sort, letnikov, vinorodnih dežel in okolišev na vsebnost 2-AAP in vrednost pH v vinu pa smo statistično analizirali z računalniškim programom SAS (SAS Software. Version 8.01, 1999) z multiplo analizo variance – proceduro GLM (General Linear Models).

Pri vzorcih belih vin, kjer je bil UTAFIX - Test negativen, vino z veliko verjetnostjo ne vsebuje senzorično zaznavno vsebnost 2-AAP, torej ne moremo govoriti o napaki NST. Vendar pa nam vzporedna GC-MS analiza vzorcev mladih vin letnikov 2005 pokaže že dokaj velike vsebnosti 2-AAP, zato moramo biti pazljivi, ker lahko vina še vsebujejo prekursorje 2-AAP. Zato bi bilo nadaljnje spremljanje vsebnosti 2-AAP več kot priporočljivo, saj se le-ta lahko v ugodnih razmerah za nastanek 2-AAP, poveča za 0,1-0,2 µg/L na leto.

Pri vzorcih belih vin, kjer smo opravili hitri UTAFIX - Test in se je le ta izkazal za pozitivnega, pa je možen dodatek askorbinske kisline v vino v koncentraciji 10 g/hL in pripravi vina brez napake NST po Veitshoechheimerjevem postopku. S tem se nastanek NST lahko zmanjša ali pa se pojavi kasneje kot običajno, vendar je arhiviranje tudi tako pripravljenega vina pod vprašajem. Če pa je vino že ustekleničeno pa je najprimernejši ukrep skladiščenje vina na hladnem in čimprejšnja potrošnja.

Preverjanje napake NST s hitrim UTAFIX - Testom se je izkazalo kot zanesljiva in dokaj hitra ocena za intenzivnost pojava te napake v vinu. S pomočjo teh rezultatov lahko pravočasno in pravilno ukrepamo in s tem zmanjšamo ali zakasnimo pojav NST v vinu. Ta hitri test je še posebej primeren za vina, ki jih nameravamo arhivirati, saj so ta namenjena za daljše zorenje in bi kasnejši pojav napake NST v že ustekleničenem vinu pomenil tudi večjo ekonomsko škodo za proizvajalca vin.

Pri senzoričnem ocenjevanju vzorcev vin z deskriptivno senzorično analizo so bile lastnosti vin opisane kot sortno neznačilen, zatohel vonj s pogosto medeno noto, vina so imela prikrito cvetico, bila izrazito neharmonična, primanjkovalo jim je svežine in so delovala starikava.

Statistična analiza vplivov različnih sort, letnikov, vinorodnih dežel in okolišev na vsebnost 2-AAP in vrednost pH v vzorcih vin je pokazala, da vsebnost 2-AAP v vinu ni odvisna od pH vina, dokazano pa letnik in sorta vina statistično značilno vplivata na koncentracijo 2-AAP v vinu. V okviru naših proučevanih vin se je pokazalo, da vinorodna dežela in vinorodni okoliš ne vplivata na vsebnost 2-AAP.

Na morebiten pojav napake NST bi morali biti še posebej pozorni pri sušnih letnikih z malo padavin, saj se napaka pri teh letnikih pojavlja z večjo verjetnostjo, kar smo dokazali tudi na naših vzorcih vin. Napaka NST je odvisna tudi od sorte vina, pogosteje se pojavlja pri sorti laški rizling in chardonnay.

Določene snovi v vinu lahko napako NST tudi delno ali v celoti prikrijejo, zato moramo pojav napake NST ugotavljati s pomočjo različnih metod. Vsebnost 2-AAP, določena z GC-MS analizo, je lahko nižja od senzorično zaznavne koncentracije v belem vinu (0,7 µg/L), senzorično pa že predstavlja napako NST.

Posebno pozornost je potrebno nameniti skladiščenju in distribuciji vina. Velik problem na tem področju predstavljajo trgovine, kjer vina dalj časa odležijo na neprimerni temperaturi in svetlobi trgovinskih polic.



## 7 LITERATURA

ARSO- Agencija Republike Slovenije za okolje. 2004. Klimatske značilnosti leta 2003. Ljubljana, ARSO- Agencija Republike Slovenije za okolje. (januar 2004)  
[http://www.arso.gov.si/vreme/podnebje/meteorolo%20a1ki%20letopis/meteoroloski\\_letopisi.htm](http://www.arso.gov.si/vreme/podnebje/meteorolo%20a1ki%20letopis/meteoroloski_letopisi.htm) (November 2007): 8 str.

Bell S. J., Henschke P. A. 2005. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape & Wine Research*, 11, 3: 242-295

Christoph N., Bauer-Christoph C., Geßner M., Köhler H.J., Simat T.J., Hoenicke K. 1998. Formation of 2-aminoacetophenone and formylaminoacetophenone in wine by degradation of indole-3-acetic acid with sulfurous acid. *Wein-Wissenschaft Viticultural and Enological Sciences*, 53, 2: 79–86

C. Schliessmann Kellerei- chemie GmbH&Co .KG. 2005. Würzburger UTAFIX - Test. Schwäbisch Hall, C. Schliessmann Kellerei- chemie GmbH&Co .KG. (Januar 2005)  
[http://www.c-schliessmann.de/deutsch/Dokumente/Info\\_Sicherheitsdatenblaetter/Getraenkeanalytik/051.pdf](http://www.c-schliessmann.de/deutsch/Dokumente/Info_Sicherheitsdatenblaetter/Getraenkeanalytik/051.pdf) (Maj 2005): 4 str.

Dollmann B., Schmitt A., Koehler H., Schreier P. 1996. Formation of the »untypical ageing off-flavour« in wine: generation of 2-aminoacetophenone in model studies with *Saccharomyces cerevisiae*. *Wein-Wissenschaft*, 51, 2: 122–125

Gafner J. 2002. Atypical aging (ATA): The influence of free sulphurous acid on the occurrence of ATA and its curing by the addition of ascorbic acid. Wädenswil-Switzerland, Federal Research Station (Januar 2002)  
<http://ecommons.library.cornell.edu/bitstream/1813/427/1/10a.Manuskript+Thomas+ATA.doc> (December 2006): 4 str.

Gessner M., Koehler H. J., Christoph N., Nagel-Derr A. 2000. Breakthrough in treatment of the atypical ageing note. *Deutsche Weinmagazin*, 19: 34-37

Hatano T., Yasuhara T., Yoshihara R., Agata I., Noro T., Okuda T. 1990. Effects of interaction of tannins with co-existing substances. VII. Inhibitory effects of tannins and related polyphenols on xanthine oxidase. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 38, 5: 1224-1229

H.J.H. Fenton J. 1894. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of Chemical Science*, 65: 899-910

Hoenicke K., Christoph N., Simat T.J., Steinhart H. 2000. The untypical aging off-flavor (UTA) in wine. Formation and possible preventions. *Food Science*, 18: 52-54

Hoenicke K., Borchert O., Grüning K., Simat T.J. 2002a. »Untypical aging off-flavor« in wine: Synthesis of potential degradation compounds of indole-3-acetic acid and kynurenine and their evaluation as precursors of 2-aminoacetophenone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50,15: 4303-4309

Hoenicke K., Simat T.J., Steinhart H., Christoph N., Gessner M., Köhler H.J. 2002b. »Untypical aging off-flavor« in wine: formation of 2-aminoacetophenone and evaluation of its influencing factors. *Vitis*, 458: 29-37

Hoenicke K., Simat T.J., Steinhart H., Koehler H.J., Schwab A. 2001. Determination of free and conjugated indole-3-acetic acid, tryptophan, and tryptophan metabolites in grape must and wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49,11: 5494-5501

Huehn T., Sponholz W.R., Gafner J. 1997. Factors affecting early and atypical ageing of wine. *Obst- und Weinbau*, 133, 25: 636-638

Huehn T., Sponholz W.R., Grosmann M. 1999. Release of undesired aroma compounds from plant hormones during alcoholic fermentation. *Viticultural and Enological Sciences*, 54, 4: 105–113

Košmerl T., Wondra M., Zlatic E. 2007. Tehnološke možnosti preprečevanja prehitrega staranja belih vin. V: Strokovni posvet za vinarje, Ptuj, junij 2007. Zbornik referatov. Ptuj: ZRS - Znanstvenoraziskovalno središče Bistra: 33–39

Linsenmeier A., Rauhut D., Kuerbel H., Loehnertz O., Schubert S. 2007. Untypical ageing off-flavour and masking effects due to long-term nitrogen fertilization. *Vitis*, 46, 1: 33–38

Löhnertz O. 1988. Untersuchungen zum Zeitlichen Verlauf der Nährstoffaufnahme bei *Vitis vinifera* L. (cv. Riesling). Geisenheimer Berichte, Forschungsanstalt Geisenheim: 156 str.

Mattivi F., Vrhovšek U., Versini G. 1999. Determination of indole-3-acetic acid, tryptophan and other indoles in must and wine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 855: 227–235

Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M., Takahara Y. 1993. Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry*, 33, 3: 557–561

Popov I., Blumstein A., Lewin G. 1994. Antioxidant effects of aqueous garlic extract: Direct detection using the photochemiluminescence. *Arzneimittelforschung*, 44, 5: 602–604

Rapp A., Versini G., Ullemeyer H. 1993. 2-Aminoacetophenone: the constituent causing 'atypical ageing flavour' (naphthalene note or hybrid note) of wine. *Vitis*, 32, 1: 61–62

Rapp A., Versini G., Engel L. 1995. Determination of 2-aminoacetophenone in fermented model wine solutions. *Vitis*, 34, 3: 193–194

Rauhut D., Kürbel H., Dittrich H.H., Grossmann M. 1996. Properties and differences of commercial yeast strains with respect to their formation of sulfur compounds. *Die Wein-Wissenschaft*, 51: 187–192

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

Schultz H.R., Lohnertz O., Hunnecke B., Linsenmeier A. 2002. Viticulture and atypical aging. Geisenheim, The Geisenheim Research Institute Germany. (January 2002)

<http://ecommons.library.cornell.edu/bitstream/1813/428/1/11.Vit+atypical+aging.doc>  
(december 2006): 4 str.

Schwab A.L., Christoph N., Koehler H.J., Gessner M., Simat T. 1999. Influence of viticultural treatments on the formation of the untypical aging off-flavour in white wines. Influence of the harvest time. *Viticultural and Enological Sciences*, 54, 4: 114-120

Siebert T., Herderich M., Francis L., Pollnitz A. 2003. No evidence of »atypical ageing taint« in Australian white wine. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 18, 5: 55–58

Sponholz W.R., Hühn T. 1996. Aging of wine: 1,1,6 trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) and 2-aminoacetophenone. V: Proceedings of the fourth international symposium on cool climate viticulture and enology, Rochester, NY,

USA, 16-20 July 1996. Henick-Kling T., Wolf T. E., Harkness E. M. (eds.). New York, New York State Agricultural Experiment Station: VI.37-VI.56

Sponholz W.R., Huehn T., Engelmann A., Siben A. 1997. Possible influence of some viticultural parameters on the incidence of »untypical« off-flavours in Riesling wines. *Wein-Wissenschaft*, 52, 1: 41–50

Vivas N., Saint-Cricq De Gaulejac N., Glories Y. 1997. Influence of SO<sub>2</sub> and ascorbic acid on the scavenger effect of tannins, measured on superoxide anion. *Vitis*, 36: 22, 91-96

Vrhovšek U., Nemanič J. 1998. 2-aminoacetofenon, povzročitelj neznačilnega starikavega tona v slovenskih belih vinih. *Sodobno kmetijstvo*, 31, 11: 516–519

Vrhovšek U., Nemanič J. 1999. Neznačilna starikava nota v slovenskih belih vinih. V: *Enološki dan*. Ljubljana, 25. marec 1999. Marinček L.(ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 45–55

Watson B., McDaniel M., Specht A., Wall K., Chen H.D. 2000. Manipulating soil moisture and nitrogen availability to improve fermentation behavior and wine quality, Part II, Corvallis, Oregon State University. (January 2000)

[http://wine.oregonstate.edu/files/file\\_upload/Wine\\_Progress\\_Reports/2000-01/Soil%20Moisture%20and%20Nitrogen%20Part%20II.pdf](http://wine.oregonstate.edu/files/file_upload/Wine_Progress_Reports/2000-01/Soil%20Moisture%20and%20Nitrogen%20Part%20II.pdf) (December 2006):14 str.

Winter E. 2003. Avoiding drought-related mothball aroma in white wine. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 18, 2: 63–66

## ZAHVALA

V prvi vrsti se iskreno zahvaljujem mentorici doc. dr. Tatjani Košmerl za vso strokovno pomoč, usmerjanje in vzpodbujanje pri nastajanju diplomskega dela.

Zahvaljujem se recezentki prof. dr. Tereziji Golob in somentorju doc. dr. Rajku Vidrihu za podroben pregled naloge in predlagane popravke.

Zahvaljujem se univ. dipl. kem., Mihaeli Bregantič, za pomoč in usmerjanje pri laboratorijskem delu, doc. dr. Emilu Zlatiču s Katedre za tehnologijo rastlinskih živil, za opravljanje GC-MS analize, doc. dr. Lei Gašperlin za statistično obdelavo podatkov, prof. dr. Mojmirju Wondri za senzorično ocenjevanje vzorcev vin in Zdenki Zupančič s Katedre za vinarstvo za pomoč in prijetno vzdušje pri delu v laboratoriju.

Ivici Hočevar in Barbari Slemenik iz knjižnice Oddelka za živilstvo se zahvaljujem za pomoč pri zbiranju in urejanju literature.

Hvala prijateljem in sošolcem za nepozabne trenutke, ki jih ali smo jih preživljali skupaj.

Posebna zahvala pa velja mojim domačim in sorodnikom, ki so mi v času študija stali ob strani, me vzpodbujali in verjeli vame. Najlepša hvala!

## PRILOGE

### **Priloga A1: Klimatske značilnosti letnika 2003 (ARSO, 2004)**

Leto 2003 je bilo pomembno toplejše od dolgoletnega povprečja. V letu 2003 je bilo največ padavin v Julijcih, a v primerjavi z običajnimi razmerami je padavin skoraj povsod po državi primanjkovalo, najbolj na severovzhodu države, Krasu, delu Štajerske in na Goriškem, kjer so namerili le med 55 in 70 % običajnih letnih padavin. Najopaznejši je bil primanjkljaj padavin spomladi in poleti. Julij je bil statistično pomembno toplejši od dolgoletnega povprečja povsod po državi. Na Krasu in v Vipavski dolini, ter v pretežnem delu vzhodne Slovenije je bila povprečna dnevna temperatura celo za več kot dva standardna odklona nad povprečjem referenčnega obdobja, povsod je bil letošnji julij med nekaj najtoplejšimi doslej; ponekod, na primer v Prekmurju, pretežnem delu Dolenjske in Štajerske julij od sredine minulega stoletja še nikoli ni bil tako topel. Vročina se je torej po izjemno vročem juniju tudi julija nadaljevala. Padavine so bile razporejene izrazito neenakomerno, največ jih je bilo v Julijcih, najbolj sušna pa je bila obala. Pojavljale so se tudi močne nevihte, ki jih je ponekod, na primer na Dolenjskem, spremljala uničujoča toča, ponekod pa močni nalivi, na primer v Ljubljani in na Koroškem. Sončnega vremena je bilo več kot običajno, v Julijcih in na Goriškem je bilo dolgoletno povprečje preseženo za dobro petino, drugod je bil odklon manjši. Visoka temperatura zraka in nadpovprečno sončno vreme ter pomanjkanje padavin v pretežnem delu države je stopnjevalo sušo, ki se je začela že spomladi. Avgust je zaokrožil izjemno vroče poletje 2003. V pretežnem delu države je bil najtoplejši poletni mesec doslej, povprečna mesečna temperatura je bila podobna kot v doslej rekordnem avgustu 1992. Dolgoletno povprečje je bilo povsod po državi preseženo vsaj za 4 °C. V pretežnem delu Štajerske, Dolenjske in Prekmurja je bilo dolgoletno povprečje preseženo za 5,5 do 6 °C.

**Priloga A2: Značilnosti vegetacijskega obdobja v letniku 2003 (ARSO, 2004)**

Spomladanske in poletne mesece je vse do konca avgusta zaznamovala huda kmetijska suša, ki se je po razsežnosti škode uvrstila med najhujše v zadnjih 50-tih letih. Vremenske razmere so se šele septembra spet približale normalnim vrednostim. Pogostejše in v posameznih mesecih celo nadpovprečne jesenske padavine so vzpostavile normalno preskrbljenost tal z vodo za rastlinski svet, zaradi velikega poletnega primanjkljaja vode, pa vse do pozne jeseni niso uravnovesile negativne vodne bilance, katere posledica je bila tudi močna hidrološka suša. Posledica poletne suše je bil tudi zgodnejši nastop jesenskih fenoloških faz kot so zorenje plodov, rumenenje in odpadanje listja, še posebno izrazito na območjih s peščenimi in skeletnimi tlemi. Tudi trgatav je nastopila več kot 14 dni bolj zgodaj kot normalno. V primorski vinorodni deželi so trgali že v zadnjih dneh avgusta. V posavski in podravski vinorodni deželi so sorte, katerih trgatav normalno poteka v prvi dekadi oktobra, trgali že v prvi in drugi dekadi septembra. Pridetek je bil manjši, izvrstna kvaliteta pa je omogočila pridelati vinski letnik vrhunske kvalitete.



### Priloga B: Vzorci belih vin po opravljenem UTAFIX - Testu



Priloga B1: Muškato tonel 2003 po opravljenem UTAFIX - Testu



Priloga B2: Muškato tonel 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu



**Priloga B3: Mešano belo vino 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga B4: Laški rizling 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga B5: Sauvignon 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga B6: Chardonnay 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga B7: Malvazija 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga B8: Rebula 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**

**Priloga C: Vzorci belih vin za deskriptivno sentorično analizo po predhodno opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga C1: Rumeni muškati 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**





**Priloga C2: Renski rizling 2004 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga C3: Mešano belo vino 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga C4: Laški rizling 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga C5: Sauvignon 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga C6: Chardonnay 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga C7: Malvazija 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



**Priloga C8: Malvazija 2005 po opravljenem UTAFIX - Testu**



