

UNIVERZA V NOVI GORICI
FAKULTETA ZA VINOGRADNIŠTVO IN VINARSTVO

**FENOLNI POTENCIAL IZBRANIH VIN S PODALJŠANO
MACERACIJO SORTE 'REBULA'**

DIPLOMSKO DELO

Yelyzaveta Popova

Mentorji: prof.dr. Branka Mozetič Vodopivec

dr. Dejan Bavčar

Nova Gorica, 2023

ZAHVALA

Za pomoč pri zbiranju vzorcev, posredovanih informacij in nasvetov ter pri vodenju pisanja pričujočega diplomskega dela se zahvaljujem mentorici prof. dr. Branki Mozetič Vodopivec in mentorju dr. Dejanu Bavčarju.

Obenem bi želela posebno zahvalo nameniti mentorici, ker me je v času študija neprestano spodbujala, mi pomagala in izkazovala razumevanje ter podporo na moji študijski poti, ki se je obenem pričela tudi z učenjem slovenskega jezika kot mojega tujega jezika.

Želim se zahvaliti tudi dr. Tatjani Radovanović Vukajlović in doc. dr. Mitji Martelancu, ki sta mi brezpogojno stala ob strani in mi nudila veliko oporo pri analizah, ki so bile izvedene v laboratoriju v času raziskovalnega dela.

POVZETEK

V diplomski nalogi smo analizirali 30 vzorcev vin sorte grozdja *Vitis vinifera* L. cv. 'Rebula' iz Vipavske doline in Goriških brd. Vina smo kupili na trgu, in sicer v specializiranih lokalnih prodajalnah vina, spletnih prodajalnah ali pri vinarjih. Osemindvajset (28) vzorcev vina je bilo pridelanih s postopkom podaljšane maceracije drozge grozdja. Dve vini pridelanih brez maceracije, smo dodali v nabor vzorcev zaradi primerjave fizikalno-kemijskih parametrov z ostalimi vzorci. V vinskih vzorcih smo izmerili naslednje standardne fizikalno-kemijske parametre: skupni in prosti žveplov dioksid, skupne titrabilne kisline, pH, hlapne kisline z destilacijsko metodo, izbrane organske kisline, sladkorje (glukozo + fruktozo), etanol in barvo vina s spektrofotometrom - absorbanco pri 420 nm (A_{420}) in barvne parametre v CIE Lab sistemu. Izmerili smo tudi skupne polifenole po spektrofotometrijski metodi Folin-Ciocalteu in izbrane posamezne polifenole (hidroksibenzojske kisline, nezaestrene hidroksicimetne kisline, procianidine) s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti, sklopljeno z UV detektorjem (HPLC-UV). Želeli smo določiti polifenolni potencial vin sorte 'Rebula', pridelanih s postopkom podaljšane maceracije drozge grozdja in nato določiti morebiten vpliv časa maceracije na količino polifenolov v vinu. Kemikske analize so pokazale veliko variabilnost v količini skupnih polifenolov, ki pa jih nismo uspeli povezati s časom maceracije. Pomanjkljivi podatki o času in drugih pogojih maceracije drozge grozdja nam tega niso dopuščali. Podatki nakazujejo trend večjih koncentracij skupnih polifenolov vina pri vinih, pridelanih s postopkom podaljšane maceracije drozge grozdja. V določenih vinih smo izmerili tudi preko 1000 mg/L (kot galna kislina) skupnih polifenolov. Med posameznimi polifenoli je bilo v vinih največ galne kisline (tudi do 90 mg/L), procianidina B1 (do 52 mg/L) in katehina (do 18 mg/L). Instrumentalno določena barva filtriranega vina (A_{420} in parametri CIE Lab) je povezana s količino skupnih polifenolov po metodi Folin-Ciocalteu. Parametri barve dolgo maceriranih vin se močno razlikujejo od vin brez maceracije oziroma od vin, pridelanih s krajšim časom maceracije, zato gre za dobre 'markerje' tovrstnih vin. Opazili smo, da kombinacija običajnega parametra barve belih vin A_{420} nm s parametri CIE Lab sistema omogoča podrobnejšo analizo barve vina.

Ključne besede: *Vitis vinifera* L. cv. 'Rebula', belo grozdje, belo vino, postopek maceracije, polifenoli

ABSTRACT

We analyzed 30 samples of wines of the grape variety *Vitis vinifera* L. cv. 'Rebula' from the Vipava Valley and the Goriška Brda. We purchased the wines on the market, either from the local wine stores and online or directly from the winemakers themselves. Twenty-eight (28) wine samples were made with prolonged maceration of the grape marc. Additional two wines made without maceration were added to the sample group to compare the physicochemical parameters with those of the other samples. The following standard physicochemical parameters were measured in the wines: total and free sulfur, total titratable acids, pH, volatile acids by the distillation method, organic acids, sugars (glucose + fructose), ethanol, and wine color measured spectrophotometrically at absorbance wavelength of 420 nm (A₄₂₀) and color parameters in the CIE Lab system. We also determined the total phenols using the Folin–Ciocalteu method and selected individual phenols (hydroxybenzoic acids, non-esterified hydroxycinnamic acids, procyanidins) by using high performance liquid chromatography coupled with UV detector (HPLC-UV). We aimed to determine the phenolic potential of macerated wines of the 'Rebula' variety and at the same time we wanted to determine the possible influence of maceration time on the amounts of phenols in the wine. Chemical analysis showed high variability in total phenolic concentrations among samples, anyhow we were unable to correlate them statistically with maceration time due to insufficient data on the duration and other conditions of prolonged maceration of grape marc. The data suggest a tendency toward higher concentrations of wine polyphenols in wines produced by prolonged maceration of grape marc. Polyphenols concentration over 1000 mg/L (as gallic acid equivalents) was measured in some wines, namely, gallic acid (up to 90 mg/L), procyanidin B1 (up to 52 mg/L), and catechin (up to 18 mg/L) were the most abundant polyphenols in the wines. The instrumentally determined color of filtered wine is related to the amounts of total phenols determined by the Folin–Ciocalteu method. The color parameters of wines without maceration and of wines with shorter maceration time were very different from the long-macerated wine samples, which indicates them to be good 'marker' parameters for such wines. A combination of the common white wine color parameter A₄₂₀ with the CIE Lab system allows a more detailed analysis of wine color.

Keywords: *Vitis vinifera* L. cv. 'Rebula', white grapes, white wine, maceration process, polyphenols

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	V
ABSTRACT	VI
KAZALO VSEBINE	VIII
SEZNAM PREGLEDNIC	X
SEZNAM SLIK.....	XI
OKRAJŠAVE.....	XII
1 UVOD	1
1.1 Namen in cilj diplomske naloge.....	3
1.2 Hipoteza	3
2 PREGLED LITERATURE	4
2.1 Klasifikacija 'Oranžnih vin'.....	4
2.2 Opis sorte grozdja <i>Vitis vinifera</i> L. 'Rebula'	6
2.2.1 BOTANIČNI OPIS SORTE	6
2.3 Količina pridelanega grozdja in vina sorte 'Rebula' v Sloveniji	7
2.4 Postopek maceracije v pridelavi belega vina.....	8
2.5 Polifenolne spojine v belem vinu	10
2.5.1 OKSIDACIJA POLIFENOLOV V BELIH VINIH, PRIDELANIH S POSTOPKOM MACERACIJE.....	12
3 MATERIALI IN METODE	16
3.1 Materiali	16
3.2 Metode	18
3.2.1 DOLOČANJE PH VREDNOSTI	18
3.2.2 DOLOČANJE SKUPNIH TITRABILNIH KISLIN	19
3.2.3 DOLOČANJE HLAPNIH KISLIN	19
3.2.4 DOLOČANJE CELOKUPNIH POLIFENOLOV	19

3.2.5	DOLOČANJE PROSTEGA IN VEZANEGA ŽVEPLA PO RIPPERJU	19
3.2.6	SPEKTROFOTOMETRIČNO DOLOČANJE BARVE	19
3.2.7	HPLC-UV-RID METODA ZA DOLOČANJE ETANOLA, GLUKOZE, FRUKTOZE IN ORGANSKIH KISLIN	21
3.2.8	DOLOČANJE POSAMEZNIH POLIFENOLNIH SPOJIN S HPLC-UV- VIS METODO.....	23
3.2.9	STATISTIČNA ANALIZA	24
4	REZULTATI IN DISKUSIJA	26
4.1	Rezultati analize standardnih fizikalno-kemijskih parametrov vina ...	26
4.1.1	SKUPNI POLIFENOLI	33
4.1.2	POSAMEZNI POLIFENOLI.....	37
4.1.3	BARVA VINA, DOLOČENA SPEKTROFOTOMETRIČNO	38
5	ZAKLJUČEK	43
6	VIRI	45

SEZNAM PREGLEDNIC

Preglednica 1: Vzorci sortnih vin Rebula iz Vipavske doline in Goriških brd.	16
Preglednica 2: Pogoji HPLC-UV-Vis metode za določanje organskih kislin.	22
Preglednica 3: Pogoji HPLC-RID metode za določanje sladkorjev.	22
Preglednica 4: Pogoji HPLC-RID metode za določanje etanola.	23
Preglednica 5: Kalibracijski pogoji za določanje sladkorjev, kislin in etanola.	23
Preglednica 6: Pogoji HPLC-UV-Vis metode za določanje polifenolnih spojin.	24
Preglednica 7: Kalibracijski pogoji za določanje posameznih polifenolnih spojin.	24
Preglednica 8: Rezultati analiz pH vrednosti, skupnih titrabilnih kislin (TA), hlapnih kislin vina (povprečna vrednost in standardna deviacija, n = 3 (analitske paralelke))...	26
Preglednica 9: Rezultati analiz vsebnosti etanola, prosti in skupni žveplov dioksid, celokupna vsebnost glukoze in fruktoze (glu + fru) (n = 3, povprečna vrednost ± STDEV).	28
Preglednica 10: Rezultati HPLC določanja posameznih kislin vina (povprečje in standardna deviacija (n = 3).....	30
Preglednica 11: Rezultati določanja skupnih polifenolov po metodi Folin–Ciocalteu. ..	33
Preglednica 12: Vsebnost posameznih polifenolnih spojin (mg/L) (povprečne vrednosti, n = 3 (RSD analitske metode 1 %)).	37
Preglednica 13: Rezultati določanja barvnih parametrov vina (absorbanca pri 420 nm) in parametri barvnega sistema CIE Lab, L, a*, b* (povprečje in STDEV, n=3).....	39
Preglednica 14: Izračunani korelacijski koeficienti s pripadajočo stopnjo tveganja (P-vrednost) med parametrom skupni polifenoli in instrumentalno določeno barvo (n = 30).	40

SEZNAM SLIK

Slika 1: Vitis vinifera L. cv. 'Rebula' (vir: Arhiv Centra za raziskave vina UNG)	6
Slika 2: Zasajenost sorte 'Rebula' v Sloveniji (v ha in tudi v %) po različnih vinorodnih okoliših (RPGV, 2020).	7
Slika 3: Količina pridelka grozdja sorte 'Rebula' v kg v vinorodnem okolišu Goriška brda in Vipavska dolina od 2011 do 2020 (RPGV, 2011–2020).	8
Slika 4: Količina pridelka vin sorte 'Rebula' v litrih v vinorodnem okolišu Goriška brda in Vipavska dolina od 2011 do 2020 (RPGV, 2011–2020).	8
Slika 5: Barvni krog CIE Lab sistema (slika neznanega avtorja, licencirana pod CC-BY-ND).	20
Slika 6: Vsebnost jabolčne in mlečne kisline (povprečna vrednost) v obravnavanih vinih.	31
Slika 7: Barvni parametri sistema CIE Lab – L*, a* b* pri vseh vzorcih vina (povprečne vrednosti, n = 3).	41
Slika 8: Barvni parametri sistema Lab - izračunani barvni odtenek (Hue) in barvna intenzivnost (Chroma) (povprečne vrednosti, n = 3).....	42

OKRAJŠAVE

RPGV = Register pridelovalcev grozdja in vina

MKGP = Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano

OIV = Mednarodna organizacija za trto in vino

UL RS = Uradni list Republike Slovenije

TA = titrabilne kisline

°C = Oznaka za temperaturo v stopinjah Celzija

HPLC = tekočinska kromatografija visoke ločljivosti

UV = ultravijolični detektor

RID = detektor na lomni količnik

STDEV = standardna devijacija

1 UVOD

Bela vina, pridelana z namensko daljšo maceracijo drozge belega grozdja, zadnja leta pridobivajo na priljubljenosti med ljubitelji in pridelovalci vina. Tovrstna vina oziroma takšni postopki v tehnologiji pridelave vina niso novost. Zgodovinski viri kažejo, da so prva bela vina na svetu pridelovali v Gruziji pred 8000 let ravno s postopkom daljše maceracije grozdja oziroma drozge. Ta vina so zorela skupaj s kožicami in trdnimi deli grozdja skoraj dve leti v tradicionalnih koničastih glinenih amforah, ki so bile zakopane v tleh. Tehnologija se imenuje 'kvévri' (po imenu glinene posode za pridelovanje vina v Gruziji). Na glinenih ostankih amfor in ostalih posod arheološkega najdišča so identificirali sledi vinske kisline in grozdnih pečk. Arheologi so na podlagi dokazov uvrstili te arheološke ostanke v obdobje neolitika (6.000 p. n. št.). Leta 2013 je bila tehnologija 'kvévri' uvrščena pod okrilje UNESCO dediščine (Jefford, 2013).

V Sloveniji je o tehnologiji belih vin s postopkom daljše maceracije grozdja pisal že duhovnik Matija Vertovec. Svoje napotke kmetom je objavljala v obliki podlistkov v reviji Rokodelske novice, ki jih je v nadaljevanju zbral v knjigi *Vinoreja* (Vertovec, 1844). Vertovec je kmetom priporočal od 24 in 30 ur maceracije belega grozdja, s katero naj bi se izboljšal okus vina, podaljšala njegova življenska doba in zagotovila uspešna fermentacija do suhega vina (Vertovec, 1844).

Na tak način naj bi v Sloveniji vina že več stoletij pridelovali predvsem v Vipavski dolini in Goriških brdih ter v Italiji, in sicer natančneje v Furlaniji – Julijski krajini (Woolf, 2015).

V današnjem času so bela vina, pridelana z daljšo maceracijo drozge grozdja, poznana predvsem pod marketinškim imenom 'oranžna vina'. To poimenovanje naj bi, po mnenju strokovnjaka Woolfa (2012), 'zakrivil' vinski poznavalec David Harvey med svojim delom v kleti Franka Cornelissena v vinorodni regiji Etna na Siciliji (Woolf, 2015). Nekateri pridelovalci vina poimenujejo ta vina tudi 'amber' (v slovenskem jeziku: jantarna) vina.

Gre za trend oziroma stil pridelave, ki se čedalje bolj uveljavlja, čeprav zakonsko gledano ta vina nimajo svoje kategorije in jih v Sloveniji lahko označimo v prometu zgolj kot bela vina. Dejstvo je, da se po barvi, okusu in vonju lahko bistveno razlikujejo od drugih

svežih ali zrelih stilov belih vin. Vina, namensko pridelana z daljšo macerijo drozge, niso sveže rumene, zlato slannate ali zelenkaste barve, temveč temno rumene in oranžne barve. Zaradi navedenega lahko kupca takšnih vin oznaka 'belo vino' na etiketi tudi preseneti. Poznani vinar tovrstnih vin Saša Radikon, doma iz kraja Oslavje, ki se nahaja na italijanski strani Goriških brd, trdi, da so 'oranžna vina' tista, ki so pridelana z naravnimi kvasovkami in brez temperaturne kontrole celotnega procesa vinske fermentacije (Woolf, 2015). Mnenj o takšnih vinih so različna, privržencev 'oranžnih vin' pa ni malo. Ta posebna vina imajo tudi v Sloveniji svoj, sedaj že tradicionalni festival, ki nosi ime 'Orange Wine Festival' (Vivi ..., 2022).

Mednarodna organizacija za trto in vino (OIV) je leta 2020 bela macerirana vina (ang. '*white macerated wines*') uvrstila v razred 'posebnih vin' (Economy and Law ..., 2020). Daljši stik soka s trdnimi deli grozdne jagode v pridelavi vina omogoča boljšo ekstrakcijo spojin, predvsem polifenolov iz grozdne jagode (iz kožic in pečk), ki jih drugače v belih vinih najdemo v manjših koncentracijah (Reynolds in sod, 2022; Morata, 2019, 2022). Poleg drugačne aromatike ta vina odlikuje tudi tipična barva in drugačna kemijska sestava v primerjavi z vini, pridelanimi s postopki klasične tehnologije belih vin (Reynolds in sod., 2022; Morata, 2022). Pridelovalci vina se pogosto odločijo, da bela vina, pridelana z maceracijo drozge, starajo tudi v rabljenih lesenih sodih. Zaradi navedenega se lahko večjim količinam polifenolov iz grozdja pridružijo tudi lesni polifenoli. Prav tako se jim pridružijo tudi arome, ki so značilne za staranje v leseni posodi. Gre poudariti, da lesena posoda lahko vpliva tako na barvo kot tudi na vonj samega vina (Bavčar, 2018).

Znano je, da maceracija poveča vsebnost polifenolnih spojin v belih vinih, poleg tega pa doprinese tudi k večjemu antioksidativnemu potencialu vin (Gomez-Miguez in sod., 2007; Ružić in sod., 2011; Reynolds in sod., 2022; Morata, 2022). Med polifenolnimi spojinami prevladujejo v teh vinih hidroksicimetne kisline, flavanoli, flavan-3-oli ter procianidini (Gomez-Miguez in sod., 2007; Ružić in sod., 2011; Reynolds in sod., 2022; Morata, 2022).

Na slovenskem trgu se lahko najde že veliko tovrstnih vin, ki pa še niso bila podrobno kemijsko ovrednotena. Zaradi pravkar izpostavljenega bi takšni podatki zagotovo pripomogli k boljšemu razumevanju razlik v senzoričnih lastnostih z ostalimi belimi vini, pridelanimi brez podaljšane maceracije drozge. Ker se v podatkovni bazi slovenskih vin

s poreklom ‘oranžna vina’ označujejo kot bela, si moramo pri oceni števila pridelovalcev pomagati drugače. Iz spletne strani festivala ‘Orange wine festival’ lahko sklepamo, da je v Sloveniji vsaj 60 pridelovalcev tovrstnega vina (Top Slovenian Wine ..., 2021).

Na omenjeni način v Vipavski dolini in Goriških brdih predelujejo predvsem sorto grozdja *Vitis vinifera* L. ‘Rebula’. Na trgu najdemo tudi ‘oranžna vina’ iz sorte grozdja ‘Malvazija’ in ‘Sivi pinot’ ter druge. Grozdje ‘Rebula’ ima debelo kožico, zaradi česar ima velik potencial za tovrstne postopke v tehnologiji pridelave vina. Prav tako obstaja že dolga tradicija predelave te sorte v vino s pomočjo maceracije drozge na področju vinorodnih okolišev Vipavska dolina in Goriška brda.

1.1 Namen in cilj diplomske naloge

Na slovenskem trgu bomo poiskali različna vina sorte ‘Rebula’, pridelana s postopkom podaljšane maceracije drozge grozdja iz vinorodnih okolišev Vipavska dolina in Goriška brda. V vinih bomo analizirali standardne fizikalno kemijske parametre etanol, glukozo, fruktozo, pH, skupine titrabilne kisline (TA), posamezne kisline, hlapne kisline, skupni in prosti žveplov dioksid, barvo z absorbanco svetlobe pri 420 nm, barvne parametre CIE Lab sistema L*, a*, b*, kromatičnost (chrome), ton (hue) ter skupne in izbrane posamezne polifenolne spojine.

V pričajoči diplomski nalogi bomo opisali fizikalno-kemijske parametre vin sorte ‘Rebula’, pridelanih s podaljšano maceracijo drozge grozdja, in na podlagi dostopnih informacij o razlikah v pridelavi vina (čas in temperatura maceracije) poskušali razbrati vzorce in razloge za razlike v kemijski sestavi vina s poudarkom na polifenolih.

1.2 Hipoteza

Predvidevamo, da med vini sorte ‘Rebula’, pridelanih s podaljšano maceracijo drozge grozdja, obstajajo razlike v kemijski sestavi, in da čas maceracije vpliva na količino polifenolnih spojin.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 Klasifikacija 'Oranžnih vin'

Leta 2020 je Mednarodna organizacija za trto in vino (OIV) z resolucijo OIV-ECO 647-2020 predlagala uvrstitev belih vin, ki so pridelana s postopkom podaljšane maceracije drozge grozdja, v kategorijo posebnih vin. Generalna skupščina OIV je ob upoštevanju starodavnega gruzijskega načina pridelave vina v lončenih amforah 'qvevri', ki je bil leta 2013 med drugim vpisan na Unescov Reprezentativni seznam nesnovne kulturne dediščine človeštva, sprejela definicijo belih vin, pridelanih s postopkom maceracije (White wine with ..., 2020).

V mednarodnem kodeksu enološke prakse OIV lahko pod 'macerirana bela vina' najdemo naslednji opis: "*Belo vino, pridobljeno z alkoholnim vrenjem mošta, s podaljšanim stikom z grozdnimi jagodami, vključno s kožicami, pečkami in občasno tudi s pecljevino.*" (International Code of ..., 2021).

Po OIV so v pridelavi posebnih belih vin, pridelanih s postopkom maceracije drozge grozdja, pridelovalci vina zavezani k spoštovanju, da:

- a) pridelava vina poteka izključno z uporabo belih sort grozdja,
- b) se maceracija izvaja v stiku z grozdnimi tropinami,
- c) je čas trajanja faze maceracije najmanj 1 mesec in
- d) da je za belo vino, pridelano z maceracijo, lahko značilna oranžno-jantarna barva in okus po taninu.

Ta način pridelave daje belemu vinu posebne senzorične značilnosti, ki se odražajo v drugačnem okusu, vonju in barvi, če jih primerjamo z belimi vini, pridelanimi brez stika soka s trdnimi deli jagod oziroma grozdja.

Uvedba postopka podaljšane maceracije belega grozdja v tehnologijo pridelave vina v mednarodni Kodeks enološke prakse OIV, natančneje v kategorijo posebnih vin - poleg ledenih vin, likerskih vin in drugih posebnih vin (International Code of ..., 2021), je bil

pomemben mejnik za Gruzijo s stališča priznanja zgodovinske, tehnične in kulturne vrednosti vina in vinogradništva s tega področja (White wine with ..., 2020).

V Sloveniji se število pridelovalcev tovrstnih vin povečuje, vinska zakonodaja pa narekuje, da je potrebno za vsako vino z geografsko označbo, ki gre na trg, pridobiti odločbo o vinu, v kateri je poleg splošne fizikalno-kemijske sestave podana tudi senzorična ocena in kategorija vina (Bavčar, 2015).

Zakonodaja v Sloveniji trenutno omogoča obravnavo belih vin, pridelanih s postopkom podaljšane maceracije le v kategoriji belih vin. Ta vina pa niso enaka belim vinom, ki so pridelana na klasičen način, brez maceracije drozge grozdja. Razlike obstajajo tako v kemijskem kot tudi senzoričnem profilu. Zaradi vsega zgoraj izpostavljenega gre sklepati, da so bodoče spremembe na tem področju zakonodaje nujne. Vsako vino, tudi ‘oranžna vina’, ki so namenjena prodaji, morajo biti z vidika mikrobioloških sprememb in fizikalnih lastnosti stabilna, posebna oznaka pa bi kupcem služiti kot pomemben vir informacij (Bavčar, 2018).

2.2 Opis sorte grozdja *Vitis vinifera* L. 'Rebula'



Slika 1: Vitis vinifera L. cv. 'Rebula' (vir: Arhiv Centra za raziskave vina UNG)

Grozdje *Vitis vinifera* L. cv. 'Rebula' naj bi gojili že v času Rimljanov tako v Goriških brdih kot tudi v severni Italiji (Radikon in sod., 1995).

Sorta 'Rebula' spada v skupino zahodnoevropskih sort *Proles occidentalis*. V Sloveniji je udomačena sorta. Gre za priporočeno sorto vinske trte v vinorodnem okolišu Goriška brda in Vipavska dolina in dovoljeno sorto v vinorodnem okolišu Kras (Pravilnik o spremembah ..., 2021). V slednjih omogoča pridelavo deželnih, kakovostnih in vrhunskih vin, obenem pa pripomore k gospodarski osnovi za nadaljnji razvoj vinogradništva in vinarstva.

Po Hrček in Korošec-Koruza (1996) omenjeno sorto poznamo tudi pod različnimi sinonimi, ki jih v nadaljevanju navajamo: 'Rumena Rebula', 'Zelena Rebula' in 'Garganja'. Pri 'Garganja' gre za sorto 'Rumena Rebula', ampak z debelejšimi jagodami, v severni Italiji pa je poimenovana kot 'Ribolla gialla' ali 'Ribolla bianca'.

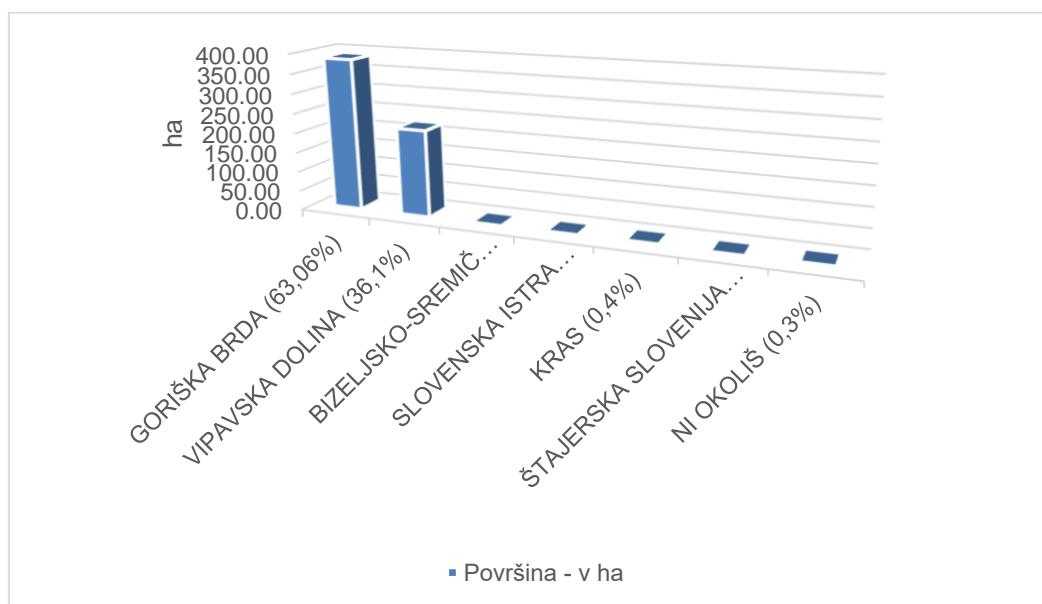
2.2.1 BOTANIČNI OPIS SORTE

Za lažje razumevanje obravnavane vinske sorte v nadaljevanju povzemamo neposreden opis sorte, kot sta to za sorto 'Rebula' navedla Hrček in Korošec-Koruza (1996):

“To je sorta srednje bujnosti z maso grozda 140–160 g. Rodi redno in obilno. Vsebnost sladkorja znaša približno 75 °Oe. Jagode so srednje velikosti, okrogle z rumeno-zeleno barvo in debelejšo kožico. Pecelj je kratek in pri osnovi olesenel. List je srednje velik, z obeh strani je svetlo zelen, gol. Listni pecelj je kratek ali srednje dolg, zelene ali rahnlo vijolične barve. Rozga je srednje razvita, nekoliko progasta, bledo rumene barve.”

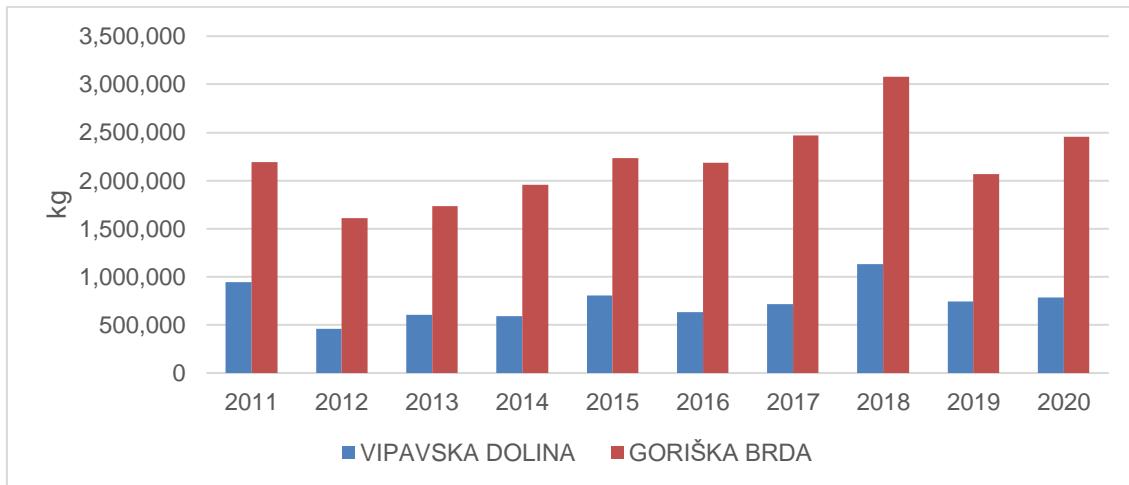
2.3 Količina pridelanega grozdja in vina sorte 'Rebula' v Sloveniji

Primerjava med podatki Registra pridelovalcev grozdja in vina Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano (RPGV MKGP) o zasajenosti različnih vinskih sort grozdja v Sloveniji, nam pove, da je ta sorta pričakovano najbolj zastopana ravno v vinorodnih okoliših vinorodne dežele Primorska, Goriških brdih in Vipavski dolini (slika 2).

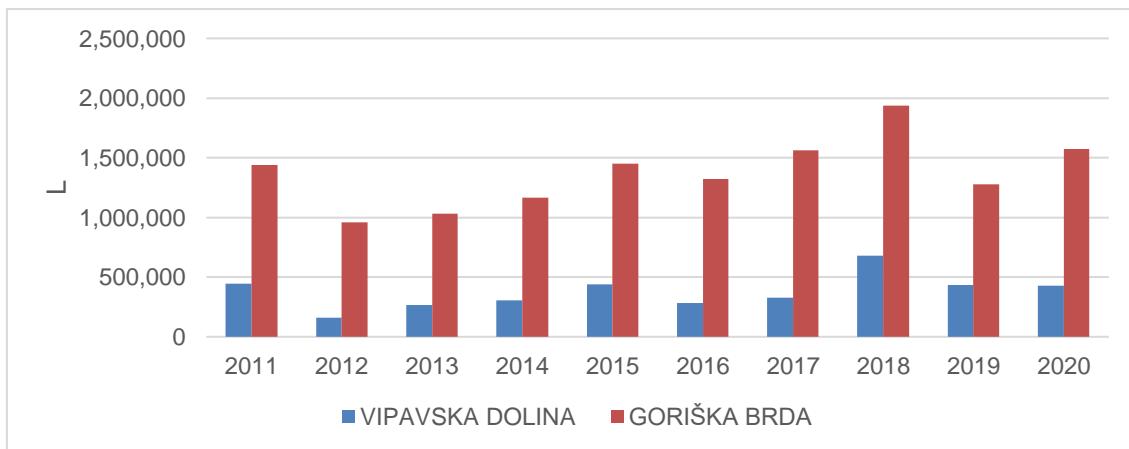


Slika 2: Zasajenost sorte 'Rebula' v Sloveniji (v ha in tudi v %) po različnih vinorodnih okoliših (RPGV, 2020).

V vinorodnem okolišu Goriška brda je po podatkih iz leta 2020 385,22 ha vinogradov te sorte, v povprečju pa se na letni ravni pridela 1.371.770,4 litrov vina sorte 'Rebula'. V Vipavski dolini je s to sorto grozdja posajenih 220,57 ha kmetijskih površin, letno pa se tu pridela 376.190,9 litrov vina (sliki 3 in 4).



Slika 3: Količina pridelka grozdja sorte 'Rebula' v kg v vinorodnem okolišu Goriška brda in Vipavska dolina od 2011 do 2020 (RPGV, 2011–2020).



Slika 4: Količina pridelka vin sorte 'Rebula' v litrih v vinorodnem okolišu Goriška brda in Vipavska dolina od 2011 do 2020 (RPGV, 2011–2020).

2.4 Postopek maceracije v pridelavi belega vina

Postopek maceracije oziroma podaljšan stik med sokom ali moštom ter kožicami in peškami grozdja kot tehnološki postopek pripomore k večji ekstrakciji spojin, ki so bolj skoncentrirane v teh delih grozdja – to so predvsem polifenoli kot tudi aromatične spojine oziroma njihovi prokurzorji (Darias-Martin in sod., 2000, Moreno, 2019, 2022, Reynolds in sod., 2022).

Postopki maceracije so različni, kajti lahko potekajo pred fermentacijo, pri različnih temperaturah in v različnih časovnih obdobjih, prav tako se odvijajo tudi med samo fermentacijo, s celimi grozdnimi jagodami, ali pa iz drozge grozdja. Izvedb teh postopkov je mnogo, prav tako je tudi veliko vplivov na končno kakovost vina. Uspešnost uporabljenega postopka v pridelavi vina je splošno povezana z vinarjevim znanjem - kaj in v kakšni meri prehaja iz grozdja v grozdni sok, mošt in vino ter kako pripraviti vino željene kakovosti. V sami pridelavi se lahko uporablja sodobna vinarska oprema, ki omogoča temperaturno regulacijo med postopkom maceracije in fermentacije, nudi mehansko pomoč pri potapljanju klobuka, mešanju drozge in obenem omogoča tudi druge kontrolne postopke pridelave vina. Res pa je, da sta energetska poraba in okoljska obremenitev tovrstne tehnologije s tega stališča problematični in zahtevni, zato bi morali pridelovalci vina uporabljati predvsem tiste tehnike, s katerimi izkoriščajo klimatske posebnosti regije (Reynolds in sod., 2022). Slednje se nedvomno upošteva v primerih tradicionalne tehnologije pridelave belih vin s postopkom podaljšane maceracije drozge grozdja, kjer fermentacija poteka pri sobni temperaturi. Prav tako je potrebno izpostaviti pomembnost vpliva strojne ali ročne trgatve in posledičnega potrebnega dodajanja žveplovega dioksida h grozdu že pred samo fermentacijo, kar lahko pospeši dodatno ekstrakcijo spojin iz kožic, povsem enako kot pri rdečem vinu (Reynolds in sod., 2022).

V kolikor postopek maceracije uporabljam za ekstrakcijo aromatičnih spojin belega grozdja, je priporočljivo, da poteka krajši čas pri nižjih temperaturah ($10\text{ }^{\circ}\text{C}$, manj kot 18 ur) – iz dveh razlogov. Prvi razlog je preprečiti ekstrakcijo polifenolov, ki bodo najverjetneje oksidirali in povzročili porjavenje vina, če tega vinar ne želi. Drugi razlog je odlog začetka alkoholne fermentacije po začetku maceracije. Potrebno pa je vedeti, da ima postopek maceracije lahko še dodatno slabost – prehod kalija iz kožic (in pecljevine, če grozje ni bilo specljano). Dejstvo je, da kalij lahko povzroči dodatno nestabilnost vina pri izločanju soli vinske kisline – vinskega kamna in tudi večanje pH vrednosti vina (Reynolds in sod., 2022). Pridelovalci vina, ki maceracijo drozge belega grozdja kombinirajo s spontano alkoholno fermentacijo, morajo biti še posebej pazljivi zaradi mikrobiološke nestabilnosti. Njen pojav je verjetnejši, če je pH drozge višji (Reynolds in sod., 2022). Predfermentativna maceracija pri nizkih temperaturah omogoča le zmerno povečanje polifenolnih spojin zaradi odsotnosti etanola, kar pa dejansko pomeni, da se

lahko s takim pristopom izognemo nezaželenim vplivom astringence ali grenkobe (Radeka in sod., 2008).

Kontakt s kožicami med alkoholno fermentacijo z naraščanjem etanola povzroči tudi večjo ekstrakcijo polifenolov. Večja ekstrakcija polifenolov je v tem primeru posledica razgradnje pektinov celičnih sten in je odvisna tudi od stopnje zrelosti grozdja (Garrido-Bañuelos in sod., 2019). Polifenoli so spojine, ki vplivajo na barvo in trpkost vina, lahko pa delujejo tudi kot antioksidanti. Izguba svetle, bledo rumene barve zaradi oksidacije in porjavenja polifenolov, ki se lahko pojavi pri belih vinih, pridelanih s postopkom maceracije, je posledica prisotnosti večje količine polifenolov iz kožic, ki zelo hitro oksidirajo in tvorijo rjave pigmente (Boulton in sod., 1996, Benitez in sod., 2002, Bestulić in sod., 2022, Reynolds in sod., 2022).

Ekstrakcija posameznih spojin iz kožic je nedvomno odvisna tako od sorte, dozorelosti grozdja in pogojev med maceracijo; temperature, časa trajanja in načina ekstrakcije, kot tudi od kemijske strukture spojin (Gomez-Miguez in sod., 2007, Bestulić in sod., 2022, Reynolds in sod., 2022).

Furhman in sod. (2001) so pred dvema desetletjema v svoji študi pokazali, da imajo lahko bela vina, pridelana s posebnim postopkom maceracije kožic, ki poveča koncentracijo fenolnih spojin v vinu, podobno sposobnost lovljenja prostih radikalov (DPPH) in inhibicijo oksidacije lipoproteinov nizke gostote (LDL) kot rdeča vina.

Med polifenolnimi spojinami belih vin, pridelanih s postopkom podaljšane maceracije, najpogosteje omenjajo protokatehinsko kislino, kavno kislino, ferulno kislino, *p*-hidroksibenzojsko kislino, *p*-kutarno, *m*-kutarno kislino, kaftarno in fertarno kislino. Strokovna literatura poroča tudi o prisotnosti katehina, epikatehina, procianidinov B1, B3, B2 in C1 ter kvercitin-3-rutinozida, kvercitin-3-ramnozida in kvercitin-3-galaktozida (Gomez-Miguez in sod., 2007, Bestulić in sod., 2022, Morata, 2022, Reynolds in sod., 2022).

2.5 Polifenolne spojine v belem vinu

Glavni polifenoli belega grozdja so torej estri hidroksicimetnih kislin - kavne, *p*-kumarne in ferulne kislin ter vinske kisline, ki sestavljajo tako imenovano skupino neflavonoidnih polifenolov. Poznamo jih pod imenom kaftarna, kutarna in fertarna kislina. Naravna

oblika, prisotna v grozdju in vinu, je *trans*-kaftarna, *trans*-kutarna in *trans*-fertarna kislina. V začetnih fazah alkoholne fermentacije, ko se sprostijo hidrolizabilni encimi iz grozinja v sok, se vinska kislina pogosto odcepi. Tako imamo v vinu tudi prosto kavno, *p*-kumarno in ferulno kislino. Če pa vino staramo v sodu, se v vinu s staranjem povečuje vsebnost elagotaninov in njihovih derivatov, ki jih poznamo pod imenom nehidrolizabilni tanini (Moreno in Peinado, 2012, Waterhouse in sod., 2016, Reynolds in sod., 2022).

V belem grozdju se nahajajo med drugim tudi fenolne kisline – derivati benzojske kisline. Fenolne kisline so prisotne v vakuolah celic, v mesu in jagodni kožici grozinja. V vodni alkoholni raztopini so brezbarvne, ob oksidaciji pa lahko te spojine razvijejo rumeno barvo (Moreno in Peinado, 2012). Fenolne kisline se razlikujejo po substituiranih skupinah na benzenskem obroču (galna, sinapinska in protokatehinska kislina). V grozdju so redko prisotne v prosti obliki, ampak bolj v glikoziliranih oblikah ali kot estri. Glavna benzojska kislina grozinja je galna kislina, ki jo v belem grozdju najdemo pri povprečni koncentraciji 7 mg/L (Moreno in Peinado, 2012, Waterhouse in sod., 2016).

V belem grozdju in vinu so prisotni tudi flavonoidi, ki imajo značilno C6-C3-C6 strukturo. Razlikujejo se glede na substituente na obeh benzenovih (C6) obročih in glede na stopnjo oksidiranosti osrednje C3 verige, s katero sta povezana oba substituirana fenolova obroča. So najbolj razširjena skupina polifenolov v naravi, tudi v grozdju, predvsem pa v rdečem. Najznačilnejši predstavniki so antocianini, ki so odgovorni za barvo rdečih vin. V belih vinih jih ni, oziroma po Araptsisas in sod. (2015) so lahko v določenih belih sortah prisotni v 100-krat manjših koncentracijah, kot so v rdeči sorte 'Merlot'. V belem grozdju so prisotni tudi flavonol kvercetin in njegovi glikozilirani derivati, predvsem pa kondenzirani taninini - dimeri, trimeri ali tetrameri flavan-3-olov ekipikatehina in katehina ter njunih derivatov. Najdemo jih predvsem v peškah, kožicah in pecljevini. V soku jih je manj (Moreno in Peinado, 2012, Waterhouse in sod., 2016, Morata, 2022), zaradi česar jih redko najdemo v belih vinih, ki so pridelana s klasičnimi tehnologijami.

V času maceracije s fermentacijo se koncentracija flavonolov in flavan-3-olov v belem vinu poveča, ker naraščajoča vsebnost etanola omogoča njihovo boljšo topnost, ki pa jo dodatno povečamo z višjo temperaturo maceracije. Slednje je toliko bolj pomembno za flavan-3-ole in njihove polimerne oblike - kondenzirane tanine (procianidini). Omenjeni

niso glikozilirani in potrebujejo vpliv naraščajoče vsebnosti etanola na spremembo polarnosti grozdnega mošta za boljšo topnost teh neglikoziliranih spojin (Moreno in Peinado, 2012).

Koncentracija flavan-3-olov v belem vinu se giblje med 100 in 300 mg/L, odvisna pa je od same vrste tehnološke predelave (Riberau Gayon in sod, 2006).

Po podatkih iz literature lahko macerirana bela vina vsebujejo do dobrih 2100 mg/L skupnih polifenolov (mg/L, kot galna kislina (GAE)), 50 mg/L kaftarne kisline in tudi 20 mg/L katehina, kar je zagotovo primerljivo z določenimi rdečimi vini (Ružić in sod., 2011). Seveda pa je končna koncentracija polifenolov v vinu še vedno odvisna od sorte, geografske lege in sezone, poleg same tehnologije pridelave vina. Gomez-Miguez in sod. (2007) so v raziskavi, kjer so primerjali vpliv časa in temperature pred-fermentativne maceracije na količino polifenolov, ugotovili, da so daljši časi maceracije (12, 18 in 24 ur) pri nižjih temperaturah (5 in 10 °C) bolj primerni za namenski izplen polifenolov belega grozdja kot krajsi časi (2, 4, 6, 8 ur) pri 20 °C. Bestulić in sod. (2022) so v nedavni raziskavi potrdili, da krajsa pred-fermentativna maceracija grozdja sorta 'Malvazija istarska' (1 dan pri 10 °C) le malo doprinese k večji vsebnosti polifenolov. Tudi pri tej sorti so raziskovalci zasledili opaznejše povečanje vsebnosti hidroksibenzojskih kislin in skupnih flavan-3-olov (monomerov in procianidinov) z daljšo maceracijo drozge (21 dni, 16 °C). V primerjavi z 'nemaceriranimi' vzorci vina so daljše maceracije (7 in 21 dni) v povprečju prinesle od 3 do 3,4-kratno povečanje vsebnosti skupnih polifenolov (30 mg/L v primerjavi z 93 mg in 101 mg/L, v sosledju). Raziskovalci so med drugim tudi opazili, da so skupni polifenoli prispevali k intenziteti barve vina, ki je bila največja (0,183 AU pri 420 nm) pri vzorcih vina, pridelanih z najdaljšo maceracijo, medtem ko je bila pri kontrolnem vzorcu (brez maceracije) ta vrednost nekoliko manjša (0,109 AU).

2.5.1 OKSIDACIJA POLIFENOLOV V BELIH VINIH, PRIDELANIH S POSTOPKOM MACERACIJE

Polifenolne spojine pripomorejo tudi k oksidativnemu potencialu rjavenja vina – tj. nagnjenosti k nastanku rjave barve zaradi oksidacije fenolov. Oksidacija fenolov preko polimerizacije kinonov vodi v formacijo rjavih polimernih pigmenotv. Kinoni fenolov, ki nastanejo pri tovrstnimi oksidaciji fenolov, so, kot pravijo Waterhouse in sod. (2016),

močni elektrofili in lahko reagirajo (kondenzacijska reakcija) z nukleofili vina kot so bisulfit, flavan-3-oli in tioli. V moštu pa lahko steče tudi regeneracijska reakcija z reducirajočim enološkim sredstvom (aksorbinska kislina, bisulfit) kinona v originalnih difenol.

Tioli so, kot že povedano, izjemno dobri nukleofiili in zelo hitro reagirajo s kinoni. Najbolj poznan je adukt med kinonom kaftarne kisline in glutationom (antioksidantom). Reakcija z antioksidantom glutationom lahko ustavi polimerizacijo kinonov. Pri tem nastane adukt - reakcijski produkt grozdja (GRP), ki ga lahko najdemo v večini vin, in sicer natančneje kot posledico izpostave grozdja in mošta kisiku med drozganjem in stiskanjem. Tudi sortni tioli, ki so prisotni v mnogo manjših koncentracijah v moštu/vinu kot glutation, lahko reagirajo s kinoni na enak način kot glutation. Brez zaščite oksidantov, ki preprečujejo nastanek kinonov ali njihove nadaljne reakcije, se lahko v vinih z vezavo na kinone odstranjujejo sortne hlapne spojine, kot so sortni tioli (Waterhouse in sod., 2016).

Vemo pa da je oksidacija polifenolov zelo kompleksen proces, odvisen od njihove sestave, koncentracije in tudi od prisotnosti *o*-difenolov, ki so najbolj oksidirane oblike polifenolov (Li in sod., 2008).

Kot že povedano, porjavenje vina pride zaradi oksidacije polifenolnih in fenolnih spojin v *o*-kinone, ki se v nadaljevanju polimerizirajo in nato tvorijo makromolekule s tipičnim rumeno-rjavim odtenkom (Li in sod., 2008, Waterhouse in sod., 2016). Oksidativna porjavitev belih vin je po mnenju Sioumis in sod. (2006) najbolj povezana z vsebnostjo flavan-3-ola epikatehina.

Reakcije porjavenja se delijo na encimske in neencimske, glede na začetne reakcije, pri čemer so prve, torej encimske, reakcije v glavnem prisotne v soku, neencimske pa tako v soku in moštu kot v vinu (Li in sod., 2008).

Porjavitev se običajno začne v zgodnjih fazah pridelave vina, in sicer z encimskimi reakcijami polifenoloksidaz. Pri tem ključno vlogo odigrajo ravno hidroksicimetne kisline, predvsem pa kaftarna in kutarna kislina. Kaftarna kislina ali *p*-kumarna kislina sta oksidirani s polifenol oksidazo, da nastanejo *o*-kinoni kaftarne kisline, ki so prav tako močni antioksidanti in lahko oksidirajo druge spojine vina ter tako povzročijo spremembo v tonu in intenziteti barve vina. Kot močni antioksidanti lahko *o*-kinoni oksidirajo skoraj vsak substrat z manjšim oksidativnim potencialom, npr. druge polifenole ali tipična

zaščitna antioksidanta (enološki sredstvi), uporabljena v pridelavi vin, askorbinsko kislino in žveplov dioksid. Tovrstni *o*-kinoni se ob prisotnosti zaščitnih sredstev lahko reducirajo do osnovih polifenolov (Li in sod., 2008). Za lažje razumevanje naj na enostavnem primeru pokažemo zgoraj navedeno: če v porjaveli grozdn Sok dodamo žveplov dioksid ali askorbinsko kislino, le-ta iz rjave barve lahko ponovno preide v svetlo barvo. Ti oksidativni procesi so značilni za začetne faze pridelave vina, natančneje za predelavo grozdja. Takrat je prisotnega veliko kisika, pa tudi encimov polifenol oksidaz, kar je tipično za grozdn Sok. Pomembno vlogo ima v procesu oksidacije tudi glutation (GSH), tripeptid, ki reagira z *o*-kinonom kaftarne kisline (QTAQ), tako da nastane spojina 2-S-glutationil kaftarne kisline (GRP – “grape reaction product” oz. “reakcijski produkt grozdja”). Spojine GRP oksidacijski encim kateholaza ne more oksidirati, zato ta reakcija nekoliko zameji oksidativno porjavenje mošta (Li in sod., 2008, Waterhouse in sod., 2016; Morata, 2022).

Po začetku alkoholne fermentacije se aktivnost polifenoloksidaz zmanjša, zato oksidativno porjavitev v teh fazah povezujemo predvsem s kemijsko oksidacijo polifenolov. Kemijska oksidacija ali neencimska oksidacija premore lastnosti avtokatalize in regeneracije, pojavi pa se lahko tudi preko neposredne reakcije s svetlobo. Nastali rjavi pigmenti se lahko v procesih zorenja vina z drožmi usedejo na dno. Pri belih vinih z veliko polifenolov zaradi postopka maceracije vpliv neencimske oksidacije na barvo verjento ni izrazit (Li in sod., 2008).

O-difenoli kavne kisline in njenih derivatov, katehina, epikatehina in galne kisline so poznani po tem, da so najbolj dovetni za oksidacijo pri neencimski porjavitvi vina. S stopnjo porjavelosti povezujemo predvsem oksidacijo flavan-3-olov ali flavanolov (tvorba kinonov, ki polimerizirajo v rjava barvila (Li in sod., 2008).

Neencimsko porjavenje belih vin sicer lahko dosežemo na več različnih načinov. Med njimi izstopata oksidacija omenjenih polifenolov grozdja in oksidacija polimeriziranih produktov oksidacije, za kar je nujna prisotnost kovinskih ionov kot katalizatorjev (Li in sod., 2008).

Ostali načini vključujejo polimerizacijsko reakcijo med polifenoli in drugimi spojinami vina, vključno s kondenzacijo z acetaldehidom. Primer slednje najpogosteje prepoznamo v alkoholiziranih vinih iz belega grozdja sorte Palomino, poznanih pod imenovanjem šeri

(iz angl. besede ‘Sherry’) (Li in sod., 2008), ki so prav tako poznana po svoji rjavkasti barvi.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Materiali

Na trgu smo kupili 28 vzorcev vina sorte ‘Rebula’, za katere smo vedeli, da so bila pridelana s postopkom podaljšane maceracije drozge belega grozdja. V naboru vzorcev je bilo 15 z označbo porekla Vipavska dolina, 13 pa z označbo Goriška brda. Na podlagi podatkov, ki smo jih pridobili na etiketah ali pri vinarjih, še največ pa preko različnih blogov in spletnih prodajaln vina, smo zbrali informacije o času trajanja in temperaturi maceracije. V preglednici 1 so zavedeni podatki o zbranih vzorcih vin. Za primerjavo smo v obravnavo vključili tudi dva vzorca (2) vina iste sorte iz Vipavske doline, za katera smo vedeli, da nista pridelana s postopkom maceracije drozge. V obravnavi smo v skupnem številu imeli 30 vzorcev vina sorte ‘Rebula’, ki so navedena v preglednici 1.

Pred pričetkom kemijskih analiz smo vina odprli in jih pretočili v manjše steklenice (rjave, 150 ml), ki smo jih do vrha napolnili in jih v nadaljevanju shranili v hladilniku pri 4 °C do vseh nadaljnjih analiz. Analize vina smo izvedli v čim krajšem času po odprtju steklenice.

Preglednica 1: Vzorci sortnih vin Rebula iz Vipavske doline in Goriških brd.

Označba vzorca	Letnik	Vinorodni okoliš - pridelovalci	Dolžina maceracije	T maceracije	Vsebnost alkohola (vol. %)
RE_VD_1	2019	Vipavska dolina	5 dni (tretjina grozdja je macerirana), zori na drožeh do spomladi	18 °C	13 %
RE_VD_2	2019	Vipavska dolina	12 ur, tudi fermentacija je hladna 16 °C	Hladna	13 %
RE_VD_3	2015	Vipavska dolina	21 dni, zorenje v velikih 2200 L hrastovih sodih dve leti	/	14 %
RE_VD_4	2017	Vipavska dolina	28 dni v odprtih sodih, po fermentaciji zori v akacijevih sodih (500 L) dve leti	Kontrolirana	13,5 %
RE_VD_5	2016	Vipavska dolina	Do konca fermentacije, hladna fermentacija.		13 %
RE_VD_6	2015	Vipavska dolina	45 dni, brez filtracije, vino zori dve leti na lastnih		12 %

			drožeh v velikem tradicionalnem sodu		
RE_VD_7	2018	Vipavska dolina	14 dni	Sobna	12,5 %
RE_VD_8	2012	Vipavska dolina	Ni podatka		12,5 %
RE_VD_9	2018	Vipavska dolina	Do 14 dni maceracije, zori na finih drožeh v hrastovih sodih, kjer dozoreva 18 mesecev	Odprta posoda, brez temperaturne kontrole	13 %
RE_VD_10	2011	Vipavska dolina	12 dni, brez filtracije, zorenje v bariku 22 mesecev		13 %
RE_VD_11	2016	Vipavska dolina	10 dni, maceracija s fermentacijo, odprta posoda, zorenje vina v hrastovih sodih 36 mesecev	Sobna, nenadzorovana temperatura, med 25-30 °C	13 %
RE_VD_12	2016	Vipavska dolina	8 dni	20 °C	13 %
RE_VD_13	2018	Vipavska dolina	10 dni, dodatek encimov, fermentacija	Nenadzorovana temperatura	13 %
RE_VD_14	2015	Vipavska dolina	4 dni, starano v velikih lesenih posodah 2 leti, nefiltrirano	/	11 %
RE_VD_15	2017	Vipavska dolina	14 dni, sobna temperatura, zorenje v manjših Barrique sodih	/	13,5 %
RE_GB_1	2017	Goriška brda	Polovica grozja 14 dni maceracije, polovica mošta fermentirano v istih sodih, kot je starana prva polovica (uporabljeni francoski in ameriški sodi)	/	13 %
RE_GB_2	2016	Goriška brda	Maceracija v amforah 7 mesecev		12,5 %
RE_GB_3	2017	Goriška brda	14-dnevna maceracija + 24 mesečno zorenje v akacijevih sodih	/	12 %
RE_GB_4		Goriška brda	2-mesečna maceracija, brez kontrolirane temperature, leseni sodi	/	12,5 %

RE_GB_5	2018	Goriška brda	7-dnevna maceracija	18 °C	12,2 %
RE_GB_6	2018	Goriška brda	12-urna maceracija		13,5 %
RE_GB_7	2018	Goriška brda	14 dni, spontana fermetacija	28 °C	12,5 %
RE_GB_8	2015	Goriška brda	7-dnevna maceracija, spontana fermentacija	do 28°C	12,5 %
RE_GB_9	2018	Goriška brda	2 uri, pred stikanjem	V stiskalnici	13 %
RE_GB_10	2018	Goriška brda	Spontana fermentacija, maceracija, 1000 L betonsko jajce, 16	/	13,5 %
RE_GB_11	2019	Goriška brda	4000 L hrastova posoda, sponatna fermentacija, 8 dni maceracije, zorenje na drožeh, 18 mesecev	/	13,5 %
RE_GB_12	2016	Goriška brda	8 mesecev, navadna in karbonska maceracija celih grodnih jagod	/	13,6 %
RE_GB_13	2018	Goriška brda	5 dni, s spontano fermentacijo	/	12,7 %
NemacRE_VD_1	2019	Vipavska dolina	Tehnologija belih vin brez stika s kožicami	/	12,5 %
NemacRE_VD_2	2018	Vipavska dolina	Tehnologija belih vin brez stika s kožicami	/	13 %

3.2 Metode

3.2.1 DOLOČANJE PH VREDNOSTI

Merjenje pH-vrednosti smo izvedli s pomočjo pH metra HI 2211 pH/ORP Meter (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, ZDA) v skladu z postopkom, kot sta ga opisali Košmerl in Kač (2009).

3.2.2 DOLOČANJE SKUPNIH TITRABILNIH KISLIN

Za namene določanja skupnih kislin smo uporabili potenciometrično metodo in avtomatski instrument TITRINO Metrohm (Metrohm, Herisau, Švica), s katerim smo določali skupne titrabilne kisline (TA). S segrevanjem smo odstranili ogljikov dioksid (CO_2) in potem s pomočjo titracije z 0,1 M NaOH do pH 8,2 določili vsebnosti skupnih titrabilnih kislin, izražene v g vinske kisline/L. Titracija je bila izvedena v skladu s Košmerl in Kač (2009).

3.2.3 DOLOČANJE HLAPNIH KISLIN

Za namen določanja hlapnih kislin, izraženih v g ocetne kisline/L, smo uporabili destilacijsko metodo in napravo Gibertini z vgrajenim generatorjem pare (SUPER DEE, Gibertini Elettronica S. r. l., Milano, Italija). Po koncu destilacije vsakega vzorca vina z vodno paro smo destilat titrirali s standardizirano vodno raztopino natrijevega hidroksida, kot je navedeno v Košmerl in Kač (2009). Rezultate predstavljamo v g ocetne kisline/L.

3.2.4 DOLOČANJE CELOKUPNIH POLIFENOLOV

Vsebnost skupnih polifenolnih spojin smo določili po metodi Folin–Ciocalteu (Singleton in sod., 1999, OIV-MA-AS2-10) s spektrofotometrom Lambda 35 pri 765 nm (PerkinElmer, Waltham, MA, ZDA). Skupni fenoli so izraženi v ekvivalentih galne kisline (GAE)/L (Singleton in sod., 1999, OIV-MA-AS2-10).

3.2.5 DOLOČANJE PROSTEGA IN VEZANEGA ŽVEPLA PO RIPPERJU

Za namene določanja prostega in skupnega žveplovega dioksida je bila uporabljenja jodometrična titracija na osnovi oksidacijsko-reduksijske reakcije raztopljenega žveplova dioksida s standardizirano raztopino joda, tako kot je navedeno v Košmerl in Kač (2009).

3.2.6 SPEKTROFOTOMETRIČNO DOLOČANJE BARVE

Vzorce vina smo v kvarčnih kivetah (10 mm) izpostavili meritvam barvnih parametrov s spektrofotometrom Lambda 35 (PerkinElmer, Waltham, MA, ZDA). Najprej smo 15 mL

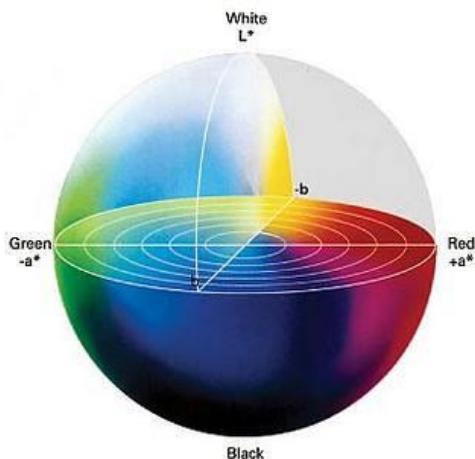
vzorca vina prefiltrirali skozi filter (PTFE 0,45 µm) (WVR, Thermo Fisher Scientific, ZDA) v označene epruvete in nato izmerili barvne lastnosti na dva načina.

3.2.6.1 Merjenje absorbance pri 420 nm

Izmerili smo absorbanco (AU) v 10-mm kvarčnih kivetah pri valovni dolžini 420 nm proti slepemu vzorcu (voda) (metoda povzeta po OIV-MA-AS2-07B) (Compendium of International Methods ..., 2021).

3.2.6.2 Določanje parametrov barve v barvnem prostoru CIE Lab

Parametre barvnega prostora CIE Lab smo določili z metodo spremljanja prepustnosti svetlobe v 10-mm kvarčnih kivetah čez celoten vidni del spektra in avtomatskim preračunavanjem v izbrane parmetre, ki so bili že vpisani v program spektrofotometra Lambda 35 (PerkinElmer, Waltham, MA, ZDA) - UV Winlab program.



Slika 5: Barvni krog CIE Lab sistema (slika neznanega avtorja, licencirana pod CC-BY-ND).

Barvo vina lahko opišemo s tremi spremenljivkami ali posebnimi lastnostmi vizualnega zaznavanja: tonom (H^*), svetlostjo (L^*) in intenzivnostjo (C^*). V bistvu barvo opredeljujejo koordinate v trodimenzionalnem sistemu, kjer X , Y in Z osi pomenijo določene barvne lastnosti. Kar zadeva ton barve (barva sama po sebi), so najbolj značilne: rdeča, rumena, zelena ali modra. Svetlost je lastnost vizualnega zaznavanja, glede na katero se vino zdi bolj ali manj svetleče. Intenzivnost ali stopnja obarvanosti je povezana

z večjo ali manjšo intenzivnostjo barve. Kombinacija teh treh spremenljivk nam omogoča opredeliti številne barvne odtenke, ki jih vina imajo.

Kromatične značilnosti vina so opredeljene s kolorimetričnimi ali kromatičnimi koordinatami (glej sliko 1): jasnost (L^*) (Z os), rdeča/zelena barvna komponenta (a^*) (X os) in modra/rumena barvna komponenta (b^*) (Y os); in z izpeljankami: intenzivnost (C^*), ton (hue) (H^*) in kromatičnost (chroma) [(a^*, b^*) ali (C^*, H^*)]. Z drugimi besedami, ta barvni sistem ali prostor CIE Lab temelji na zaporedni ali zvezni kartezični predstavitev treh ortogonalnih osi: L^* , a^* in b^* (slika 5). Koordinata L^* predstavlja jasnost ($L^* = 0$ črna in $L^* = 100$ brezbarvna), a^* zeleno/rdečo barvno komponento ($a^*>0$ rdeča, $a^*<0$ zelena) in b^* modro/rumeno barvno komponento ($b^*>0$ rumena, $b^*<0$ modra).

Metoda je povzeta po OIV-MA-AS2-11 (Compendium of International Methods ..., 2021).

3.2.7 HPLC-UV-RID METODA ZA DOLOČANJE ETANOLA, GLUKOZE, FRUKTOZE IN ORGANSKIH KISLIN

Za določanje etanola, kislin in sladkorjev v vinih, ki so predmet te raziskave, smo uporabili metodo tekočinske kromatografije (HPLC) z detekcijo v ultravijoličnem in vidnem delu spektra (UV-Vis) ter detekcijo z lomnim količnikom (RID). Reagenti in topila so bili ustrezne kakovosti in čistosti za tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti. Pri delu smo uporabljali glukozo (99 %) Acros Organics (Shanghai, Kitajska), fruktozo (99 %) Acros Organics (Shanghai, Kitajska), saharozo (99,9 %) Acros Organics (Shanghai, Kitajska), vinsko kislino Alfa Aesar (Kandel, Nemčija), mlečno kislino (30 %) Sigma (Steinheim, Nemčija), jabolčno kislino (99 %) Aldrich (Steinheim, Nemčija) in citronsko kislino pridelovalca Sigma (Steinheim, Nemčija). Za pripravo mobilne faze smo uporabili koncentrirano žveplovo (VI) kislino VWR Chemicals (Fontenay-Sous-Bois, Francija).

Pred pričetkom zgoraj opisane analize smo vzorce vina prefiltrirali s pomočjo analiznih filtrov 0,45 um Nalgene (PTFE) (WVR, Thermo Fisher Scientific, ZDA). Nato smo filtrate 1-1,5 ml vina prenesli v HPLC vialo in jih analizirali pod pogoji, navedenimi v preglednicah 1 in 2.

3.2.7.1 HPLC-UV/RI naprava

Črpalka: Agilent 1260 Infinity II Binary Pump

Injektor: Agilent 1100 Autosampler

UV detektor: Agilent 1100 Variable Wavelength Detector

RID detektor: Agilent 1260 Infinity II Refractive Index Detector

Osebni računalnik s programsko opremo Agilent ChemStation

Oprema Agilent prihaja iz Agilent Technologies, Palo Alto, California, ZDA.

3.2.7.2 Pogoji kromatografske ločbe organskih kislin, etanola in sladkorjev

Preglednica 2: Pogoji HPLC-UV-Vis metode za določanje organskih kislin.

Volumen injiciranja	10 µL
Ločba	Izokratska
Mobilna faza	A: 5mM raztopina H ₂ SO ₄ v dvakrat deionizirani vodi
Pretok mobilne faze	0,7 mL/min
Kolone	Predkolona Phenomenex C18 Kinetex F5 Zaporedno vezani dve HPLC koloni Phenomenex C18 Kinetex F5, velikosti 150 x 4.6mm z velikostjo delcev 2.6 µm
Temperatura ločbe	30 °C
Detektor	UV-Vis, valovna dolžina 210 nm

Preglednica 3: Pogoji HPLC-RID metode za določanje sladkorjev.

Volumen injiciranja	10 µL
Ločba	Izokratska
Mobilna faza	Acetonitril/ deionizirana voda = 80/20 (v/v)
Pretok mobilne faze	1 mL/min
Kolone	Predkolona Sugar, 4 x 3,0 mm, velikost delcev 3 µm Kolona: Luna Omega 3µm SUGAR LC Column 150 x 4,6 mm, velikost delcev 3 µm
Temperatura ločbe	30 °C
Detektor:	RI detektor

Preglednica 4: Pogoji HPLC-RID metode za določanje etanola.

Volumen injiciranja	1 µL
Ločba	Izokratska
Mobilna faza	5mM raztopina H ₂ SO ₄ v dvakrat deionizirani vodi
Pretok mobilne faze	0,8 mL/min
Kolone	Kolona: Phenomenex ROA - Organic acid H+ (8 %), 300 mm x 7,8 mm, velikost delcev 8 µm
Temperatura ločbe	40 °C
Detektor:	RI detektor

3.2.7.3 Kalibracija in identifikacija spojin

Vse spojine so bile prepoznane na podlagi retensijskih časov v primerjavi s standardi in standardnega dodatka. Kvantifikacija je bila izvedena z eksterno kalibracijo s standardnimi spojinami, v koncentracijskem območju, pričakovanem v naših vzorcih vina. Več podatkov o kalibraciji kislin, sladkorjev in etanola je razvidnih v preglednici 5.

Preglednica 5: Kalibracijski pogoji za določanje sladkorjev, kislin in etanola.

Standardna spojina	Umeritvena krivulja	Linearnost (g/L) oz. vol. %	R ²	LOD/LOQ (g/L)
Etanol	y = 203070x-10374	0,5–20 (% vol)	0,9999	0,1/0,3 (vol. %)
Glukoza	y = 37309x + 1550,3	0,5–150	0,9999	0,1/0,5
Fruktoza	y = 37304x + 1315,5	0,5–150	0,9999	0,1/0,5
Vinska kislina	y = 678,64x + 10,598	0,1–10	0,9926	0,02/0,06
Jabolčna kislina	y = 366,49x + 1,1668	0,1–10	0,9935	0,02/0,06
Mlečna kislina	y = 326,81x + 3,4275	0,1–10	0,9929	0,02/0,06
Citronska kislina	y = 516,84x - 0,6181	0,1–2	0,992	0,02/0,06

3.2.8 DOLOČANJE POSAMEZNIH POLIFENOLNIH SPOJIN S HPLC-UV-VIS METODO

Za določanje polifenolnih spojin, ki so predmet te raziskave, smo uporabili HPLC metodo z UV Vis detekcijo. Reagenti in topila so bili ustrezne kakovosti in čistosti za tekočinsko kromatografijo. Pri delu smo uporabili standarde spojin, navedenih v preglednici 7. Vsi standardi polifenolov so bili last proizvajalca Extrasynthese (Genay, Francija). Za pripravo mobilne faze smo uporabili ocetno kislino in metanol čistosti HPLC, pridelovalca VWR Chemicals (Fontenay-Sous-Bois, Francija).

Pred pričetkom zgoraj opisane analize smo vzorce vina prefiltrirali skozi 0,45 µm Nalgene (PTFE) filter (WVR, Thermo Fisher Scientific, ZDA). Nato smo filtrate 1–1,5 ml vina prenesli v HPLC vialo in jih analizirali pod pogoji, navedenimi v preglednici 6.

3.2.8.1 HPLC-UV/VIS

Črpalka, injektor, detector avtomatski vzorčevalnih in program za obdelavo kromatogramov so predhodno opisani pod točko 3.2.7.1.

Preglednica 6: Pogoji HPLC-UV-Vis metode za določanje polifenolnih spojin.

Volumen injiciranja	10 µL
Ločba	Graditentna 100 % A do 6 min, 90 % A pri 7 min, 85 % A pri 35 min, 70 % A pri 53 min, 55 % A pri 68 min, 100 % B med 68,1 min do 77 min, 100 % A med 78 min in 90 min.
Mobilna faza	A: 0,1 % raztopina ocetne kislina v DI vodi (v/v) in B: metanol
Pretok mobilne faze	0,3 mL/min
Kolone	Luna Phenomenex C18, 150mm x 3,0 mm, 3 um delci
Temperatura ločbe	30 °C
Detektor	UV detekcija, 285 nm

Preglednica 7: Kalibracijski pogoji za določanje posameznih polifenolnih spojin.

Standardna spojina	Umeritvena krivulja	Koncentracijsko območje (mg/100 mL)	R ²
Galna kislina	y = 127,8x - 4,7999	0,43–3,43	0,9996
Protokatehinska kislina	y = 82,463x - 6,4641	0,44–3,53	0,9995
Procianidin B1	y = 33,044x - 2,1037	0,55–4,41	0,9999
Katehin	y = 63,933x - 3,2354	0,35–2,79	0,9997
Kavna kislina	y = 188,87x - 5,016	0,23–1,80	0,9993
Procianidin B2	y = 43,064x - 2,6137	0,47–3,72	0,9987
Epikatehin	y = 41,953x - 2,6177	0,41–3,27	0,9995
Procianidin C1	y = 92,451x - 4,7201	0,37–2,97	0,9996
p-kumarna kislina	y = 107,35x - 1,6582	0,11–0,85	0,9997
Procianidin A2	y = 105,54x - 3,5957	0,36–2,84	0,9994
Ferulna kislina	y = 74,829x - 3,383	0,20–1,59	0,9997

3.2.9 STATISTIČNA ANALIZA

Podatke smo obdelali s programom Statgraph Centurion. Izračunali smo povprečno vrednost in standardno deviacijo treh meritev istega vina, povprečja primerjali s testom ANOVA in s preverjanjem najmanjših razlik med povprečji z LSD testom ob stopnji tveganja 0,05. Korelacijo med podatki smo izračunali z linearno regresijo in stopnjo

ujemanja podatkov izrazili v obliki korelacijskega koeficiente R ob upoštevanju 0,1 ali 5 % stopnje tveganja.

4 REZULTATI IN DISKUSIJA

4.1 Rezultati analize standardnih fizikalno-kemijskih parametrov vina

Preglednica 8: Rezultati analiz pH vrednosti, skupnih titrabilnih kislin (TA), hlapnih kislin vina (povprečna vrednost in standardna deviacija, n = 3 (analitske paralelke)).

Ime vzorca	pH	TA (g vinska kislina/L)	Hlapne kisline (g ocetna kislina/L)
RE_VD_1 *	3,56 ± 0,02 gh **	5,75 ± 0,13 jk	0,45 ± 0,05 e
RE_VD_2	3,59 ± 0,01 h	7,15 ± 0,08 o	0,51 ± 0,06 ef
RE_VD_3	3,52 ± 0,01 ef	5,38 ± 0,06 g	0,68 ± 0,04 ij
RE_VD_4	3,73 ± 0,01 lmn	5,04 ± 0,02 cd	0,62 ± 0,05 hi
RE_VD_5	3,51 ± 0,03 def	4,90 ± 0,03 b	0,21 ± 0,001 a
RE_VD_6	3,76 ± 0,02 n	4,80 ± 0,03 b	0,77 ± 0,02 kl
RE_VD_7	3,63 ± 0,05 i	5,14 ± 0,04 de	0,55 ± 0,03 fg
RE_VD_8	3,50 ± 0,02 def	5,14 ± 0,02 de	0,49 ± 0,03 ef
RE_VD_9	3,68 ± 0,02 jk	6,08 ± 0,02 l	0,77 ± 0,01 kl
RE_VD_10	3,74 ± 0,03 mn	5,56 ± 0,03 h	0,70 ± 0,004 j
RE_VD_11	3,45 ± 0,02 bc	5,50 ± 0,03 h	0,37 ± 0,03 d
RE_VD_12	3,84 ± 0,02 p	4,24 ± 0,11 a	0,46 ± 0,01 e
RE_VD_13	3,49 ± 0,02 de	5,01 ± 0,02 c	0,25 ± 0,01 ab
RE_VD_14	3,80 ± 0,01 o	5,29 ± 0,02 efg	0,48 ± 0,06 e
RE_VD_15	3,48 ± 0,01 cd	5,35 ± 0,06 fg	0,21 ± 0,02 a
RE_GB_1	3,68 ± 0,01 jk	5,01 ± 0,02 c	0,60 ± 0,03 gh
RE_GB_2	3,57 ± 0,03 h	5,82 ± 0,06 k	0,59 ± 0,03 gh
RE_GB_3	3,68 ± 0,01 jk	6,89 ± 0,22 n	1,22 ± 0,03 n
RE_GB_4	3,64 ± 0,02 i	5,56 ± 0,03 h	1,00 ± 0,07 m
RE_GB_5	3,71 ± 0,02 klm	5,37 ± 0,06 fg	0,71 ± 0,03 jk
RE_GB_6	3,44 ± 0,01 b	6,14 ± 0,04 l	0,19 ± 0,03 a
RE_GB_7	3,66 ± 0,01 ij	5,37 ± 0,06 fg	0,46 ± 0,03 e
RE_GB_8	3,81 ± 0,02 op	5,22 ± 0,03 ef	0,55 ± 0,02 fg
RE_GB_9	3,48 ± 0,01 cd	5,27 ± 0,03 fg	0,34 ± 0,03 cd
RE_GB_10	3,50 ± 0,01 def	5,12 ± 0,02 de	0,29 ± 0,03 bc
RE_GB_11	3,63 ± 0,01 i	5,60 ± 0,02 hi	0,47 ± 0,11 e
RE_GB_12	3,69 ± 0,01 jk	6,53 ± 0,03 m	0,68 ± 0,03 ij
RE_GB_13	3,70 ± 0,06 kl	5,77 ± 0,02 jk	0,83 ± 0,02 l
NemacRE_VD_1	3,27 ± 0,03 a	5,28 ± 0,09 efg	0,32 ± 0,03 cd
NemacRE_VD_2	3,53 ± 0,01 fg	5,68 ± 0,10 ij	0,29 ± 0,03 bc

*Imena vzorcev so podana v preglednici 1. **Vrednosti, ki so označene z različnimi črkami v stolpcu, se med seboj statistično razlikujejo (P je < 0,05, LSD).

Vrednosti pH vina izbranih vzorcev belih vin sorte ‘Rebula’ varirajo od 3,44 pa do 3,8. Pri večini vzorcev je ta vrednost večja od 3,5. Rezultati nakazujejo primerno vrednost tega parametra za bela vina, pridelana z maceracijo. Ko je pH vrednost vina večja, je ponavadi manjša koncentracija TA (g/L kot vinska kislina). To je lahko povezano z uporabo dobro zrelega grozdja ali pa je lahko posledica jabolčno-mlečnokislinskega razkisa, ki je že stekel, kar lahko zasledimo v podatkih o posameznih kislinah v vinu, in sicer natančneje v preglednici 10.

Najmanjšo pH vrednost ima vzorec RE_GB_4 (pH 3,44), največjo pa RE_GB_8 (pH 3,81). Statistična primerjava pH vrednosti s parametrom TA (v g vinske kisline/L) z linearno regresijo pa pričakovano ne daje nikakršnega rezultata. Vrednost pH je negativni logaritem molarne koncentracije H_3O^+ ionov v raztopini. Ta koncentracija je odvisna od številnih drugih parametrov in ne le direktno molarne koncentracije kisline v vinu in stopnje disociacije (Pienado in Moreno, 2012).

Hlapne kisline smo določili s postopkom parne destilacije in so izražene v g ocetne kisline/L vina. Hlapna kislota je senzorično zaznana pri koncentraciji hlapnih kislin nad 0,8 g (kot ocetna kislina)/L. Dovoljena koncentracija tega kemijskega parametra za bela vina je v skladu s slovensko vinsko zakonodajo do 1,0 g/L. Najmanjšo koncentracijo smo izmerili pri vzorcih RE_VD_5 in RE_VD_15 (0,21 g/L). Pri vzorcu RE_GB_3 je koncentracija hlapnih kislin večja od dovoljene za bela vina (1,22 g/L). Slednje je bilo mogoče zaznati tudi na vonju, enako velja za vzorec RE_GB_4 s koncentracijo hlapnih kislin 1,0 g ocetne kisline/L. Pri vseh vinih, pridelanih s postopkom podaljšane maceracije drozge, gre za daljši stik s kožicami, kjer je občasno prisotnostna tudi večja vsebnost kisika v skoraj vseh postopkih pridelave, zaradi česar se poveča aktivnost škodljivih mikroorganizmov, predvsem pa ocetnokislinskih bakterij. Zaradi manjše vsebnosti polifenolov, povsem enako kot pri rdečih vinih, imajo bela vina tudi manjšo zaščito pred oksidacijo. Zaradi navedenega lahko omenjeni tehnološki postopki pri belih vinih posledično vodijo v večjo oksidacijo ostalih sestavin vina. Dejstvo je, da nam v naši raziskavi manjkajo natančnejši podatki o postopkih v tehnologiji pridelave teh vin. Zatorej odklona v vsebnosti hlapnih kislin glede na ostale vzorce, ki smo ju opazili pri vzorcih RE_GB_3 in RE_GB_4, težko komentiramo. Najverjetnejši vzrok je sicer nezaželena aktivnost ocetnokislinskih bakterij med zorenjem vina, o čemer pa lahko le špekuliramo.

V nadaljevanju, in sicer natančneje v preglednici 9, sledijo podatki o vsebnosti etanola (določen s HPLC-RID metodo), prostega in skupnega žveplovega dioksida ter o celokupni vsebnosti glukoze in fruktoze. Podatki o vsebnosti etanola v vinu so sorazmerno ustreznih podatkom, ki so navedeni na etiketah, a zaokroženi na najbližji 0,5 vol. % (preglednica 1).

Preglednica 9: Rezultati analiz vsebnosti etanola, prosti in skupni žveplov dioksid, celokupna vsebnost glukoze in fruktoze (glu + fru) ($n = 3$, povprečna vrednost \pm STDEV).

Ime vzorca	Etanol (vol. %)	Prost žveplov dioksid (mg/L)	Skupno žveplov dioksid (mg/L)	Glukoza + fruktoza (g/L)
RE_VD_1 *	13,08 \pm 0,13 efg **	4,10 \pm 1,42 a	72,16 \pm 2,84 i	0,81 \pm 0,008 q
RE_VD_2	13,57 \pm 0,14 hi	13,94 \pm 2,84 fgh	147,59 \pm 2,46 n	2,77 \pm 0,028 u
RE_VD_3	14,18 \pm 0,14 k	8,20 \pm 2,84 bcd	14,76 \pm 2,46 abc	0,13 \pm 0,001 c
RE_VD_4	14,45 \pm 0,14 l	6,56 \pm 1,42 abc	40,18 \pm 3,76 f	0,93 \pm 0,009 s
RE_VD_5	12,43 \pm 0,12 b	11,48 \pm 1,42 def	58,22 \pm 1,42 h	0,63 \pm 0,006 n
RE_VD_6	12,76 \pm 0,13 cd	6,56 \pm 1,42 abc	9,84 \pm 0,00 a	0,28 \pm 0,003 l
RE_VD_7	13,25 \pm 0,13 g	18,04 \pm 2,84 ij	104,14 \pm 5,12 l	0,24 \pm 0,002 hi
RE_VD_8	12,88 \pm 0,13 cde	5,74 \pm 1,42 ab	12,30 \pm 2,46 abc	0,26 \pm 0,003 jk
RE_VD_9	13,50 \pm 0,13 h	13,94 \pm 1,42 fgh	13,94 \pm 1,42 abc	0,21 \pm 0,002 g
RE_VD_10	13,64 \pm 0,14 hi	10,66 \pm 1,42 def	13,94 \pm 2,84 abc	0,26 \pm 0,003 jk
RE_VD_11	13,11 \pm 0,13 fg	11,48 \pm 1,42 def	91,02 \pm 4,26 k	0,15 \pm 0,001 d
RE_VD_12	13,20 \pm 0,13 g	9,02 \pm 2,84 bcd	54,12 \pm 2,46 h	0,30 \pm 0,003 m
RE_VD_13	12,97 \pm 0,13 def	11,48 \pm 1,42 def	111,52 \pm 1,42 m	1,02 \pm 0,010 t
RE_VD_14	11,26 \pm 0,11 a	9,33 \pm 1,47 cde	16,11 \pm 1,47 bc	Pod 0,02 g/L a
RE_VD_15	13,90 \pm 0,14 j	6,79 \pm 1,47 abc	13,57 \pm 1,47 abc	0,27 \pm 0,003 kl
RE_GB_1	13,22 \pm 0,13 g	9,02 \pm 1,42 bcd	69,70 \pm 1,42 i	0,16 \pm 0,002 de
RE_GB_2	13,09 \pm 0,13 efg	11,48 \pm 1,42 def	82,82 \pm 8,64 j	0,84 \pm 0,008 r
RE_GB_3	12,49 \pm 0,12 b	5,74 \pm 1,42 ab	11,48 \pm 1,42 ab	0,76 \pm 0,008 p
RE_GB_4	13,05 \pm 0,13 efg	17,22 \pm 2,46 hi	17,22 \pm 2,46 cd	0,23 \pm 0,002 h
RE_GB_5	12,75 \pm 0,13 c	9,02 \pm 3,76 bcd	58,22 \pm 2,84 h	0,25 \pm 0,002 ij
RE_GB_6	13,75 \pm 0,14 ij	19,51 \pm 1,47 ijk	110,26 \pm 2,94 m	0,71 \pm 0,007 o
RE_GB_7	13,22 \pm 0,13 g	6,79 \pm 2,94 abc	28,84 \pm 1,47 e	0,02 \pm 0,0002 b
RE_GB_8	12,96 \pm 0,13 cdef	12,72 \pm 2,54 ef	46,65 \pm 5,30 g	0,02 \pm 0,0002 b
RE_GB_9	13,68 \pm 0,14 hi	11,03 \pm 1,47 def	83,12 \pm 3,89 j	0,20 \pm 0,002 g
RE_GB_10	13,77 \pm 0,14 ij	13,57 \pm 2,94 fg	83,97 \pm 4,41 j	0,18 \pm 0,002 f
RE_GB_11	13,52 \pm 0,14 h	22,90 \pm 2,54 k	81,42 \pm 6,73 j	0,17 \pm 0,002 ef
RE_GB_12	13,20 \pm 0,13 g	11,03 \pm 2,94 def	22,05 \pm 2,94 d	Pod 0,02 g/L a
RE_GB_13	13,22 \pm 0,13 g	16,96 \pm 1,47 ghi	28,84 \pm 1,47 e	Pod 0,02 g/L a
NemacRE_VD_1	12,47 \pm 0,12 b	21,32 \pm 2,84 jk	78,72 \pm 2,46 j	0,27 \pm 0,003 kl
NemacRE_VD_2	13,47 \pm 0,13 h	32,80 \pm 2,84 l	180,39 \pm 3,76 o	0,30 \pm 0,003 m

*Imena vzorcev so podana v preglednici 1. **Vrednosti, ki so označene z različnimi črkami v stolpcu, se med seboj statistično razlikujejo ($P < 0,05$, LSD).

Vsebnost prostega žveplovega dioksida je pretežno majhna (od 4 mg do 22 mg/L). Pri nekaterih vinih so mogoče vsebnosti vezanega žvepla nekoliko večje kot pri ostalih (147 mg/L pri RE_VD_2, 104 mg/L pri RE_VD_7, 111 mg/L pri RE_VD_13, in 110 mg/L pri RE_GB_6). Največja vsebnost prostega in skupnega žveplova dioksida je bila izmerjena v vzorcu NemacRE_VD_2 (32,80 in 180,39 mg/L).

Dolgo macerirana bela vina tipično vsebujejo malo tako prostega kot skupnega žvepla, kar je lahko posledica odločitve/filozofije vinarja pri tehnologiji pridelave vina, pa tudi od starejših letnikov vina, za katere je znano (Waterhouse in sod., 2016), da predvsem prosta oblika z leti tudi pada, vključno z zaščito vina. Naši vzorci 'oranžnih vin' v glavnem vsebujejo tako manjše vsebnosti prostega (< 10 do 20 mg/L) kot tudi skupnega žveplovega dioksida, ki lahko v določenih vzorcih doseže večje koncentracije, kot smo že predhodno omenili.

Izluženi fenoli kožic grozdja med predfermentativno in medfermentativno maceracijo drozge gredo v procese oksidacije in tako v nastanek značilnih oranžnih odtenkov zaradi polimerizacije oksidirane oblike fenolov (Bestulić in sod., 2022). Ker je teh fenolov, in tudi taninov, več kot pri nemaceriranih vinih, vse skupaj doprinese k večji intenziteti barve (Bestulić in sod., 2022).

Primerjava naših podatkov letnika in vsebnosti žveplovega dioksida kaže trend izjemno majhne koncentracije prostega in skupnega žveplovega dioksida (9 in 13 mg/L v povprečju) pri najstarejših letnikih (2011, 2012, 2015 in 2016), kar pa smo izmerili tudi v nekoliko mlajših letnikih (2018) in tudi obratno večje vrednosti pri letnikih vina (2015, 2016 in 2017).

Pri vseh vinih je skupna koncentracija glukoze in fruktoze zelo majhna, pri nekaterih vzorcih, kot so RE_VD_14, RE_GB_12 in RE_GB_13, ju sploh nismo zaznali, ker sta bili pod mejo zaznavanja uporabljene analizne metode (0,02 g/L sladkorja). Vzorec RE_VD_2 je imel največjo koncentracijo glukoze in fruktoze 2,77 g/L, kar pomeni, da je vino še vedno suho v skladu s pravilnikom (Navodila o ..., 2001), povsem enako kot velja za vsa vina v naši raziskavi.

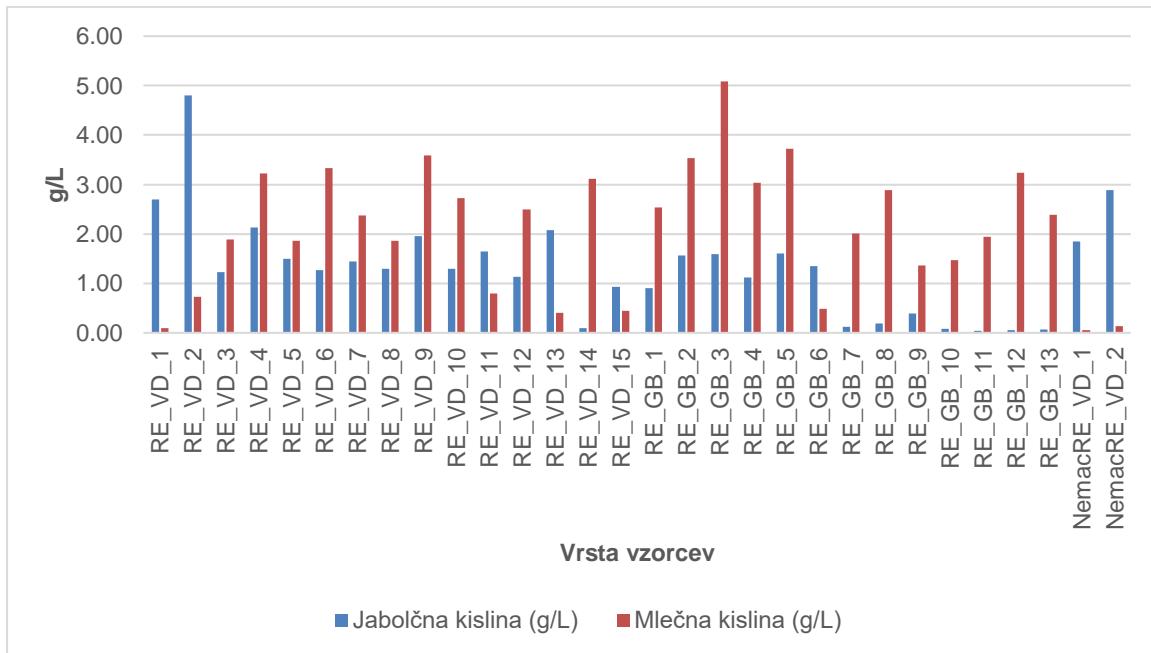
Pri analizi posameznih kislin lahko opazimo, da imajo vsa vina manjšo koncentracijo vinske kisline, kot je glede na literaturo prisotna v grozdju (Waterhouse in sod., 2016). To je lahko rezultat večje koncentracije kalijevih ionov, ki pridejo iz kožic/pecljevine v mošt

in potem vežejo vinsko kislino v vinski kamen. Literatura pravi, da imajo vina, ki so bila pridelana z maceracijo drozge grozdja, tudi večje vsebnosti kalijevih ionov, ki potem lahko reagirajo s prostimi tartratnimi in hidrogentartratnimi ioni v procesu nastanka vinskega kamna (Moreno in Pienado, 2012; Morata, 2022).

Preglednica 10: Rezultati HPLC določanja posameznih kislin vina (povprečje in standardna deviacija (n = 3).

Ime vzorca	Vinska kislina (g/L)	Jabolčna kislina (g/L)	Mlečna kislina (g/L)	Citronska kislina (g/L)
RE_VD_1*	1,03 ± 0,01 a**	2,70 ± 0,03 v	0,10 ± 0,001 b	0,08 ± 0,001 e
RE_VD_2	1,62 ± 0,02 kl	4,80 ± 0,05 x	0,73 ± 0,01 e	0,31 ± 0,003 p
RE_VD_3	1,75 ± 0,02 o	1,22 ± 0,01 i	1,89 ± 0,02 i	0,19 ± 0,002 j
RE_VD_4	1,46 ± 0,01 h	2,13 ± 0,02 u	3,23 ± 0,03 r	0,34 ± 0,003 q
RE_VD_5	1,70 ± 0,02 n	1,50 ± 0,02 n	1,86 ± 0,02 i	0,34 ± 0,003 q
RE_VD_6	1,62 ± 0,02 kl	1,27 ± 0,01 j	3,33 ± 0,03 s	0,60 ± 0,006 w
RE_VD_7	1,59 ± 0,02 j	1,44 ± 0,01 m	2,37 ± 0,02 l	0,63 ± 0,006 x
RE_VD_8	2,21 ± 0,02 t	1,30 ± 0,01 k	1,86 ± 0,02 i	0,53 ± 0,005 v
RE_VD_9	1,25 ± 0,01 c	1,96 ± 0,02 s	3,59 ± 0,04 u	0,41 ± 0,004 t
RE_VD_10	1,27 ± 0,01 cd	1,29 ± 0,01 jk	2,73 ± 0,03 n	0,50 ± 0,005 u
RE_VD_11	1,63 ± 0,02 lm	1,64 ± 0,02 q	0,79 ± 0,01 f	0,26 ± 0,003 n
RE_VD_12	1,40 ± 0,01 g	1,13 ± 0,01 h	2,50 ± 0,03 m	0,35 ± 0,003 r
RE_VD_13	1,34 ± 0,01 f	2,07 ± 0,02 t	0,40 ± 0,04 c	0,38 ± 0,004 s
RE_VD_14	1,31 ± 0,01 e	0,09 ± 0,001 c	3,12 ± 0,03 q	0,06 ± 0,006 d
RE_VD_15	1,91 ± 0,02 qr	0,92 ± 0,01 g	0,44 ± 0,004 c	0,02 ± 0,0002 a
RE_GB_1	1,65 ± 0,02 m	0,90 ± 0,01 g	2,54 ± 0,03 m	0,25 ± 0,003 m
RE_GB_2	1,89 ± 0,02 q	1,57 ± 0,02 o	3,54 ± 0,04 t	0,24 ± 0,002 l
RE_GB_3	1,18 ± 0,01 b	1,59 ± 0,02 op	5,08 ± 0,05 w	0,17 ± 0,002 h
RE_GB_4	1,39 ± 0,01 g	1,11 ± 0,01 h	3,03 ± 0,03 p	0,14 ± 0,001 f
RE_GB_5	1,93 ± 0,02 r	1,61 ± 0,02 p	3,73 ± 0,04 v	0,18 ± 0,002 i
RE_GB_6	1,74 ± 0,02 o	1,35 ± 0,01 l	0,49 ± 0,005 d	0,08 ± 0,001 e
RE_GB_7	1,28 ± 0,01 d	0,12 ± 0,001 d	2,01 ± 0,02 r	0,02 ± 0,0002 a
RE_GB_8	1,38 ± 0,01 g	0,19 ± 0,002 e	2,88 ± 0,03 o	0,23 ± 0,002 k
RE_GB_9	1,49 ± 0,01 i	0,39 ± 0,004 f	1,36 ± 0,01 g	0,03 ± 0,0003 b
RE_GB_10	1,62 ± 0,02 kl	0,08 ± 0,001 bc	1,46 ± 0,01 h	0,08 ± 0,001 e
RE_GB_11	1,60 ± 0,02 jk	0,04 ± 0,0004 a	1,94 ± 0,02 j	0,02 ± 0,0002 a
RE_GB_12	1,40 ± 0,01 g	0,06 ± 0,001 ab	3,24 ± 0,03 r	0,08 ± 0,001 e
RE_GB_13	1,35 ± 0,01 f	0,07 ± 0,001 bc	2,39 ± 0,02 l	0,04 ± 0,004 c
NemacRE_VD_1	1,96 ± 0,02 s	1,85 ± 0,02 r	0,05 ± 0,0005 a	0,16 ± 0,002 g
NemacRE_VD_2	1,79 ± 0,02 p	2,88 ± 0,03 w	0,14 ± 0,001 b	0,29 ± 0,003 o

*Imena vzorcev so podana v preglednici 1. **Vrednosti, ki so označene z različnimi črkami v stolpcu, se med seboj statistično razlikujejo ($P < 0,05$, LSD).



Slika 6: Vsebnost jabolčne in mlečne kisline (povprečna vrednost) v obravnavanih vinih.

Večji del citronske kisline v vinu prihaja iz grozja. Od glavnih organskih kislin jo je na splošno v vinu najmanj, kar kažejo tudi rezulati analiz vin naše raziskave.

V preglednici 10 lahko opazimo tudi, da imajo vzorci vina z večjo koncentracijo mlečne kisline pretežno manjšo koncentracijo jabolčne kisline. Slednje nakazuje na dejstvo, da je v teh vzorcih jabolčno-mlečnokislinski razkis že stekel, čeprav ne pri vseh obravnavanih vzorcih vina v enakem obsegu.

Iz podatkov na sliki 6 vidimo, da med vzorci obstaja razlika v vsebnostih jabolčne in mlečne kisline. Med vini iz Vipavske doline je v povprečju več tistih, kjer jabolčno-mlečnokislinski razkis še ni potekel oziroma je potekel le delno. Vzorci vin iz Goriških brd kažejo - v primerjavi z vini iz Vipavske doline - v povprečju obsežnejši potek jabolčno-mlečnokislinskega razkisa. Pri vzorcih RE_GB_7, RE_GB_8, RE_GB_9 je vsebnost jabolčne kisline zelo majhna, pri vzorcih RE_GB_10, RE_GB_11, RE_GB_12 in RE_GB_13 je mlečnokislinski razkis zaključen.

Od vseh vzorcev iz Goriških brd pa je le v vinu RE_GB_6 vsebnost jabolčne kisline večja od mlečne kisline, kar nakazuje na to, da jabolčno-mlečnokislinski razkis ni potekel v takšni meri kot pri drugih vinih iz tega področja.

Vina, pridelana po tehnologiji belih vin brez podaljšane maceracije drozge (vzorci NemacRE_VD_1 in NemacRE_VD_2) skoraj ne vsebujejo mlečne kisline in imajo visoko vsebnost jabolčne kisline, kar je značilno za sveža bela vina.

4.1.1 SKUPNI POLIFENOLI

Preglednica 11: Rezultati določanja skupnih polifenolov po metodi Folin–Ciocalteu.

Ime vzorca	Skupni polifenoli (povprečna vrednost mg GAE/L ± STDEV, n = 3)	Čas maceracija grozdja (podatki iz Preglednice 1)
RE_VD_1*	265,85 ± 2,66 b **	5 dni (tretjina grozdja je karbonsko macerirana) , vino zori na drožeh do spomladi
RE_VD_2	441,60 ± 4,42 e	12 ur , tudi fermentacija je hladna 16 °C
RE_VD_3	931,65 ± 9,32 n	21 dni , zorenje v velikih 2200 L hrastovih sodih, dve leti
RE_VD_4	736,38 ± 7,36 i	28 dni v odprtih sodih, po fermentaciji zori v akacijevih sodih (500 L), dve leti
RE_VD_5	737,31 ± 7,37 i	do konca ferementacije, hladna fermentacija
RE_VD_6	616,42 ± 6,16 f	45 dni , brez filtracije, vino zori dve leti na lastnih drožeh v velikem tradicionalnem sodu
RE_VD_7	932,58 ± 9,33 n	14 dni
RE_VD_8	742,89 ± 7,43 i	Ni podatka
RE_VD_9	1054,40 ± 10,54 q	do 14 dni maceracije, zori na finih drožeh v hrastovih sodih, kjer dozoreva 18 mesecev
RE_VD_10	1150,18 ± 11,50 t	12 dni , brez filtracije, zorenje v bariku 22 mesecev
RE_VD_11	826,58 ± 8,27 k	10 dni , maceracija s fermentacijo, odprta posoda, zorenje vina v hrastovih sodih, 36 mesecev
RE_VD_12	1082,29 ± 10,82 r	8 dni
RE_VD_13	818,21 ± 8,18 k	10 dni , dodatek encimov, fermentacija
RE_VD_14	1009,89 ± 10,10 p	4 dni , starano v velikih lesenih posodah 2 leti, nefiltrirano
RE_VD_15	703,07 ± 7,03 h	14 dni , sobna temperatura, zorenje v manjših Barrique sodih
RE_GB_1	740,10 ± 7,40 i	Polovica grozdja, 14 dni maceracije , polovica mošta, fermentirano v istih sodih, kot je starana prva polovica (rabljeni francoski in mmeriški sodi)
RE_GB_2	985,59 ± 9,86 o	Maceracija v amforah, 7 mesecev

RE_GB_3	$801,47 \pm 8,01$ j	14-dnevna maceracija + 24 mesečno zorenje v akacijevih sodih
RE_GB_4	$858,19 \pm 8,58$ l	2-mesečna maceracija , brez kontrolirane temperature, leseni sodi
RE_GB_5	$677,79 \pm 6,78$ g	7-dnevna maceracija
RE_GB_6	$263,02 \pm 2,63$ b	12-urna maceracija
RE_GB_7	$1096,69 \pm 10,97$ s	14 dni , sponatana fermetacija
RE_GB_8	$863,54 \pm 8,64$ l	7-dnevna maceracija , spontana fermentacija
RE_GB_9	$332,66 \pm 3,33$ c	2 uri , pred stikanjem
RE_GB_10	$980,62 \pm 9,81$ o	spontana fermentacija, maceracija, 1000 L betonsko jajce, 16 dni
RE_GB_11	$889,79 \pm 8,90$ m	4000 L hrastova posoda, spontana fermentacija, 8 dni maceracije , zorenje na drožeh, 18 mesecev
RE_GB_12	$1019,98 \pm 10,20$ p	8 mesecev , navadna in karbonska maceracija celih grozdnih jagod
RE_GB_13	$878,68 \pm 8,79$ m	5 dni , s spontano fermentacijo
NemacRE_VD_1	$162,64 \pm 1,63$ a	nemacerirano
NemacRE_VD_2	$385,81 \pm 3,86$ d	nemacerirano

*Imena vzorcev so podana v preglednici 1. **Vrednosti, ki so označene z različnimi črkami v stolpcu, se med seboj statistično razlikujejo ($P < 0,05$, LSD).

Podatki o času maceracije grozdja kažejo na to, da je variabilnost med vzorci v tem postopku v pridelavi vina res velika. Predvsem pa so podatki pomanjkljivi in zaradi tega neprimerni za kakršno koli konkretnješe sklepanje o vplivu časa maceracije ali temperature maceracije drozge ali grozdja na količino polifenolov v izbranem naboru ‘oranžnih vin’ v diplomski nalogi.

V povprečju je čas postopka maceracije od dveh (2) ur pa tudi do 8 mesecev. V glavnem se je macerirala drozga, v nekaterih primerih cele grozdne jagode. Če pa zgolj grobo primerjamo podatke količine skupnih polifenolov s časom poteka maceracije, kjer je to mogoče, nam analiza (linearna regresija) ne pokaže povezave. Je pa izpostavljena primerjava z linearno regresijo glede na podatke prejšnjega odstavka seveda vprašljiva. Vemo namreč, da na izluževanje polifenolov med maceracijo dokazano vpliva tudi temperatura maceracije (poleg časa trajanja), o kateri prav tako nimamo zanesljivih podatkov, vina pa se razlikujejo tudi v letniku pridelave.

Ob pregledu časov oziroma trajanja postopka maceracije izbranih vzorcev vin moramo izpostaviti tudi naslednje. Resolucija OIV-ECO 647-2020 pravi, da se oznaka posebnih ‘white macerated wines’ lahko uporabi le za vina, ki so bila pridelana z vsaj enomesečno maceracijo. Glavnina vin iz preglednice 1 tega pogoja ne izpolnjuje, zato glavnino teh vin, glede na resolucijo OIV, niti ne bi mogli uvrstiti med posebna vina s takšno oznako.

Iz rezultatov skupnih polifenolnih spojin sicer razberemo, da imajo vina, pridelana s daljšimi časi maceracije drozge grozdja, v povprečju večjo koncentracijo skupnih polifenolov v primerjavi z nemaceriranimi vzorci iz (162 in 386 mg GAE/L), kar se ujema z literaturo (Riberau Gayon in sod, 2006).

Naj pristavimo, da imamo pri vinih, pridelanih s postopkom podaljšane maceracije drozge grozdja, tudi nekaj izjem, kot so vina RE_VD_1, RE_VD_2, RE_GB_6 in RE_GB_9 z občutno manjšo koncentracijo skupnih polifenolov in v povprečju z nakrajšimi časi maceracije (od dveh ur pa do v povprečju 12 ur). Vzorec RE_VD_1 je bil pridelan z maceracijo tretjine grozdja 5 dni – ampak je po podatkih vinarja šlo za karbonsko maceracijo, zato je manjša vsebnost polifenolov v tem vzorcu do določene mere pričakovana.

- Vzorec RE_VD_1 – v povprečju vseboval 266 mg GAE /L skupnih polifenolov; po opisu tehnologije je vključeval maceracijo samo 1/3 grozdja, pri čemer je le-ta trajala 5 dni – govorimo tudi o karbonski maceraciji, kjer je mogoča manjša ekstrakcija polifenolnih spojin.
- Vzorec RE_VD_2 je bil pridelan z 12-urno maceracijo pri nižji temperaturi, v njem smo izmerili v povprečju 442 mg GAE /L skupnih polifenolov.
- Vzorec RE_GB_6 je bil pridelan z 12-urno maceracijo – analiza je v povprečju pokazala 263 mg GAE /L skupnih polifenolov.
- Vzorec RE_GB_9 je bil pridelan s stikom s kožicami grozdja 2 uri pred stiskanjem v stiskalnici, v tem vinu smo izmerili 331 mg GAE /L skupnih polifenolov.

Vzorci z največjo koncentracijo skupnih polifenolov (povprečje med 1020-1150 mg GAE/L) so bili vzorci RE_VD_9, RE_VD_10, RE_VD_12, RE_GB_7 in RE_GB_12, za katere smo pridobili naslednje podatke:

- Vzorec RE_VD_9 je bil pridelan s 14-dnevno maceracijo brez kontrole temperature in v odprtji posodi. V tem vinu smo izmerili 1054 mg GAE/L skupnih polifenolov.
- Vzorec RE_VD_10 je bil pridelan z 12-dnevno maceracijo, brez filtracije. To vino vsebuje v povprečju 1150 mg GAE/L skupnih polifenolov.
- Vzorec RE_VD_12 je bil pridelan z 8-dnevno maceracijo pri 20 °C. Skupnih polifenolov je 1082 mg GAE/L.
- Vzorec RE_GB_7 je bil pridelan s 14-dnevno maceracijo pri 28 °C s spontano fermentacijo. Koncentracija polifenolov je znašala v povprečju 1070 mg GAE/L.
- Vzorec RE_GB_12 je bil pridelan z navadno in karbonsko maceracijo v časovnem obdobju 8 mesecev (s celimi grozdimi jagodami). Vino je bilo napolnjeno brez filtracije, skupnih polifenolov pa je 1020 mg GAE/L.

Niso pa največje vsebnosti skupnih polifenolov pomenile tudi avtomatsko najdaljšega časa maceracije. Podatki kažejo, da tudi vina, pridelana z daljšim časom maceracije od 14 dni, kot na primer pri vzorcih RE_VD_4 (28 dni) in RE_VD_6 (45 dni), imajo koncentracijo skupnih polifenolov med 700 in 600 mg GAE/L. Tak rezultat je lahko posledica dolgega zorenja vina na finih drožeh, oksidacije, polimerizacije in asociacije monomernih polifenolov, ki jih potem Folin–Ciocalteu reagent ne zazna (veže) več v takšni meri kot monomerne oblike molekul polifenolov. Med vzorci vina iz Goriških brd imamo dva, ki sta bila pridelana z izjemno dolgim časom maceracije, in sicer natančneje RE_GB_4 (2 meseca) in RE_GB_12 (8 mesecev), ki pa tudi ni doprinesl k veliko večjim količinam skupnih polifenolov (prvi 860 mg GAE/L v povprečju, drugi pa slabih 1020 mg GAE/L) glede na vzorce vina od 10- in 14-dnevnih maceracij.

Dostopni podatki o tehnologijah pridelave vina te raziskave nakazujejo trend skupnih polifenolov, večjih od 600 mg GAE/L pri vinih, pridelanih z maceracijo, ki je v povprečju trajala več kot 5 dni. Podatki kažejo, da maceracije od 10 do 12 dni (tudi 14 dni) v določenih primerih dajo vina tudi do 1000 mg GAE/L, ne pa vedno. Žal je razlika med vzorci v času trajanja in temperaturi maceracije prevelika, informacije pa tudi pri določenih vzorcih pomanjkljive, zato slednje ne dovoljuje oblikovanja bolj konkretnih zaključkov, kar zadeva povezave časa in vsebnosti polifenolov. Prav tako med vzorci

glede vsebnosti polifenolov ne moremo razlikovati med vzorci 'oranžnih vin' sorte 'Rebula' iz Vipavske doline ali Goriških brd. Taksne obravnave lahko izvedemo le v kontroliranem poskusu, kjer imajo vsa vina enake pogoje predelave grozdja in pridelave vina. To je nujno, če želimo vplive postopkov tehnologije pridelave 'oranžnih vin' tudi kemijsko okrakterizirati.

4.1.2 POSAMEZNI POLIFENOLI

V analizo posameznih polifenolov smo vključili polifenole, zbrane v preglednici 12. V vinih bi lahko s HPLC-UV metodo določili tudi procianidina A1 in C1, vendar ju v naših vzorcih nismo našli. Prav tako nismo določili ferulne kisline, zato teh polifenolnih spojin v preglednico 12 nismo dodali. Zavedamo se, da so v tovrstnih vinih lahko prisotne še druge polifenolne spojine. Predvsem flavonoli pa tudi hidroksicimetne kisline kaftarna, kutarna in fertarna kislina, ki pa jih nismo izmerili in zato niso obravnavani.

Preglednica 12: Vsebnost posameznih polifenolnih spojin (mg/L) (povprečne vrednosti, n = 3 (RSD analitske metode 1 %).

Označba vin glede na preglednico 1	Galna kislina	Protokatehinska kislina	Procianidi n B1	Katehin	Kavna kislina	Procianidi n-B2	Epi-katehin	p-kumarna kislina
RE_VD_1	1,4	0,0	0,0	3,0	2,0	0,0	0,0	2,0
RE_VD_2	4,0	5,0	52,0	12,0	2,0	0,0	5,0	2,0
RE_VD_3	83,5	4,0	23,0	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0
RE_VD_4	7,1	6,0	18,0	10,0	4,0	0,0	0,0	0,0
RE_VD_5	83,9	0,0	26,0	15,0	0,0	0,0	5,0	3,0
RE_VD_6	9,7	0,0	9,0	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0
RE_VD_7	24,1	0,0	4,0	14,0	7,0	0,0	5,0	9,0
RE_VD_8	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
RE_VD_9	8,7	0,0	17,0	10,0	16,0	0,0	4,0	10,0
RE_VD_10	21,9	12,0	0,0	0,0	5,0	0,0	0,0	3,0
RE_VD_11	12,9	7,0	15,0	5,0	3,0	0,0	0,0	0,0
RE_VD_12	18,5	10,0	22,0	13,0	8,0	0,0	6,0	5,0
RE_VD_13	26,6	10,0	34,0	8,0	3,0	0,0	0,0	0,0
RE_VD_14	9,1	2,0	41,0	14,0	3,0	0,0	4,0	3,0
RE_VD_15	42,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
RE_GB_1	22,4	5,0	23,0	14,0	5,0	0,0	0,0	0,0
RE_GB_2	92,1	0	23,0	10,0	6,0	0,0	5,0	6,0
RE_GB_3	7,8	4,0	13,0	8,0	7,0	0,0	3,0	6,0
RE_GB_4	7,7	2,0	32,0	11,0	11,0	0,0	5,0	6,0
RE_GB_5	16,6	7,0	28,0	15,0	5,0	0,0	4,0	6,0
RE_GB_6	4,4	2,0	11,0	5,0	3,0	0,0	0,0	5,0
RE_GB_7	23,3	0	17,0	11,0	7,0	0,0	0,0	3,0

RE_GB_8	16,2	3,0	22,0	14,0	5,0	0,0	0,0	3,0
RE_GB_9	5,2	2,0	19,0	5,0	6,0	0,0	0,0	5,0
RE_GB_10	39,9	2,0	47,0	16,0	4,0	0,0	0,0	5,0
RE_GB_11	50,9	3,0	52,0	18,0	4,0	0,0	0,0	3,0
RE_GB_12	36,5	0,0	24,0	6,0	2,0	14,0	6,0	0,0
RE_GB_13	14,1	4,0	22,0	10,0	9,0	0,0	0,0	6,0
NemacRE_VD_1	3,6	0,0	15,0	2,0	2,0	0,0	0,0	0,0
NemacRE_VD2	3,7	3,0	22,0	16,0	3,0	0,0	4,0	3,0

Ob majhnih koncentracijah žvepla, ki ščiti vina tudi pred oksidacijo, pa je verjetno večina monomernih polifenolov prešla v reakcijo oksidacije, kjer preko *o*-kinonov nastanejo polimerna barvila, ki tudi dajo jantarni odtenek tem vinom (Li in sod., 2008; Morato in Pienado, 2012; Waterhouse in sod., 2016).

Med polifenoli je bilo največ galne kisline, ki pa je v vinih lahko prisotna tudi zaradi razgradnje elago kislin iz lesenega soda ali zaradi razgradnje (odcepljanja) galne kisline iz galoiliranih taninov pešk (Morato in Peinado, 2012).

Med posameznimi polifenolnimi spojinami zelo varira vsebnost galne kisline. Podatki, pridobljeni s pomočjo strokovne literature, nakazujejo na vsebnost galne kisline v vinih, pridelanih s postopkom daljše maceracije med 7-19 mg/L, medtem ko je v belih vinih, pridelanih brez kontakta s kožicami (ali drugimi trdnimi delci grozdja), ta koncentracija veliko manjša (cca 2 mg/L) (Ružić in sod., 2011, Bestulić in sod. 2022). Naši vzorci vin kažejo večje koncentracije galne kisline, kot so v povprečju omenjene v literaturi.

4.1.3 BARVA VINA, DOLOČENA SPEKTROFOTOMETRIČNO

V vinih smo določali barvo vina z merjenjem absorbance pri 420 nm, ki zaznava intenziteto rumeno-oranžnih tonov. Podatki kažejo svetlejšo barvo (A_{420} 0,033 in 0,102 AU) pri nemaceriranih vzorcih in vrednosti od 0,098 AU pri vzorcu RE_VD_1 pa do 0,613 AU pri vzorcu RE_GB_13 (Preglednica 13).

Linearna regresija med barvnimi parametri vina in skupnimi polifenoli po Folin–Ciocalteu kaže statistično značilno močno linearno povezavo med parametrom skupni polifenoli (mg GAE/L) in vsemi parametri instrumentalno določene barve, pri čemer je korelacijski koeficient s parametrom kromatičnost (Chroma, C*) CIE Lab sistema večji od vseh ostalih ($R = -0,8390$) (Preglednica 14).

Preglednica 13: Rezultati določanja barvnih parametrov vina (absorbanca pri 420 nm) in parametri barvnega sistema CIE Lab, L*, a*, b* (povprečje in STDEV, n=3).

Ime vzorca	A ₄₂₀ (AU)	L*	a*	b*
RE_VD_1*	0,089 ±0,001 b**	97,730 ± 0,9773 lm	-0,690 ± 0,007 e	8,530 ± 0,085 c
RE_VD_2	0,096 ± 0,001 c	100,270 ± 1,0027 n	-0,590 ± 0,006 f	9,560 ± 0,096 d
RE_VD_3	0,521 ± 0,005 s	89,980 ± 0,8998 fg	2,880 ± 0,029 u	34,020 ± 0,34 q
RE_VD_4	0,238 ± 0,002 g	97,360 ± 0,9736 lm	-0,440 ± 0,004 h	18,870 ± 0,189 g
RE_VD_5	0,467 ± 0,005 q	83,400 ± 0,8340 ab	0,780 ± 0,008 p	21,930 ± 0,219 j
RE_VD_6	0,458 ± 0,005 p	89,850 ± 0,8985 fg	1,610 ± 0,016 s	29,500 ± 0,295 o
RE_VD_7	0,347 ± 0,003 l	89,470 ± 0,8947 ef	0,650 ± 0,007 n	19,910 ± 0,199 h
RE_VD_8	0,573 ± 0,006 t	87,390 ± 0,8739 d	3,640 ± 0,036 w	35,880 ± 0,359 r
RE_VD_9	0,607 ± 0,006 u	85,690 ± 0,8569 c	3,320 ± 0,033 v	34,050 ± 0,341 q
RE_VD_10	0,869 ± 0,009 w	82,190 ± 0,8219 a	8,870 ± 0,088 y	50,600 ± 0,506 u
RE_VD_11	0,281 ± 0,003 i	97,360 ± 0,9736 lm	0,510 ± 0,005 m	23,070 ± 0,231 k
RE_VD_12	0,405 ± 0,004 n	91,770 ± 0,9177 h	1,140 ± 0,011 r	27,030 ± 0,270 m
RE_VD_13	0,248 ± 0,002 h	95,510 ± 0,9551 jk	0,000 j	16,920 ± 0,169 f
RE_VD_14	0,625 ± 0,006 v	84,4500 ± 0,8445 bc	6,9700 ± 0,070 x	45,3500 ± 0,454 t
RE_VD_15	0,362 ± 0,004 m	95,0100 ± 0,9501 ij	-1,9000 ± 0,019 a	24,2000 ± 0,242 l
RE_GB_1	0,254 ± 0,003 h	96,980 ± 0,9698 kl	-0,090 ± 0,009 i	20,670 ± 0,207 i
RE_GB_2	0,401 ± 0,004 n	88,320 ± 0,8832 de	2,460 ± 0,025 t	23,380 ± 0,234 k
RE_GB_3	0,503 ± 0,005 r	87,280 ± 0,8728 d	2,480 ± 0,025 t	28,670 ± 0,287 n
RE_GB_4	0,326 ± 0,003 j	93,540 ± 0,9354 i	1,650 ± 0,017 s	21,960 ± 0,220 j
RE_GB_5	0,326 ± 0,003 j	91,050 ± 0,9105 gh	0,120 ± 0,001 k	19,620 ± 0,196 h
RE_GB_6	0,130 ± 0,001 d	98,0900 ± 0,9809 lm	-1,2600 ± 0,013 b	10,2300 ± 0,102 e
RE_GB_7	0,333 ± 0,003 k	93,6000 ± 0,9360 i	0,8600 ± 0,009 q	23,2200 ± 0,232 k
RE_GB_8	0,436 ± 0,004 o	91,7700 ± 0,9177 h	1,6300 ± 0,016 s	31,9900 ± 0,320 p
RE_GB_9	0,138 ± 0,001 e	97,8400 ± 0,9784 lm	-0,8800 ± 0,009 c	10,6500 ± 0,107 e
RE_GB_10	0,227 ± 0,002 f	94,7900 ± 0,9479 ij	0,4600 ± 0,005 l	20,9300 ± 0,209 i
RE_GB_11	0,239 ± 0,002 g	95,8000 ± 0,9580 jk	-0,0900 ± 0,009 i	17,2100 ± 0,172 f
RE_GB_12	0,613 ± 0,006 u	84,7400 ± 0,8474 bc	7,0000 ± 0,070 x	44,2700 ± 0,443 s
RE_GB_13	0,282 ± 0,003 i	93,5900 ± 0,9359 i	0,7000 ± 0,007 o	21,0000 ± 0,210 i
NemacRE_VD_1	0,033 ± 0,0003 a	101,040 ± 1,0104 n	-0,740 ± 0,007 d	4,240 ± 0,042 a
NemacRE_VD_2	0,102 ± 0,001 c	98,590 ± 0,9859 m	-0,530 ± 0,005 g	7,620 ± 0,076 b

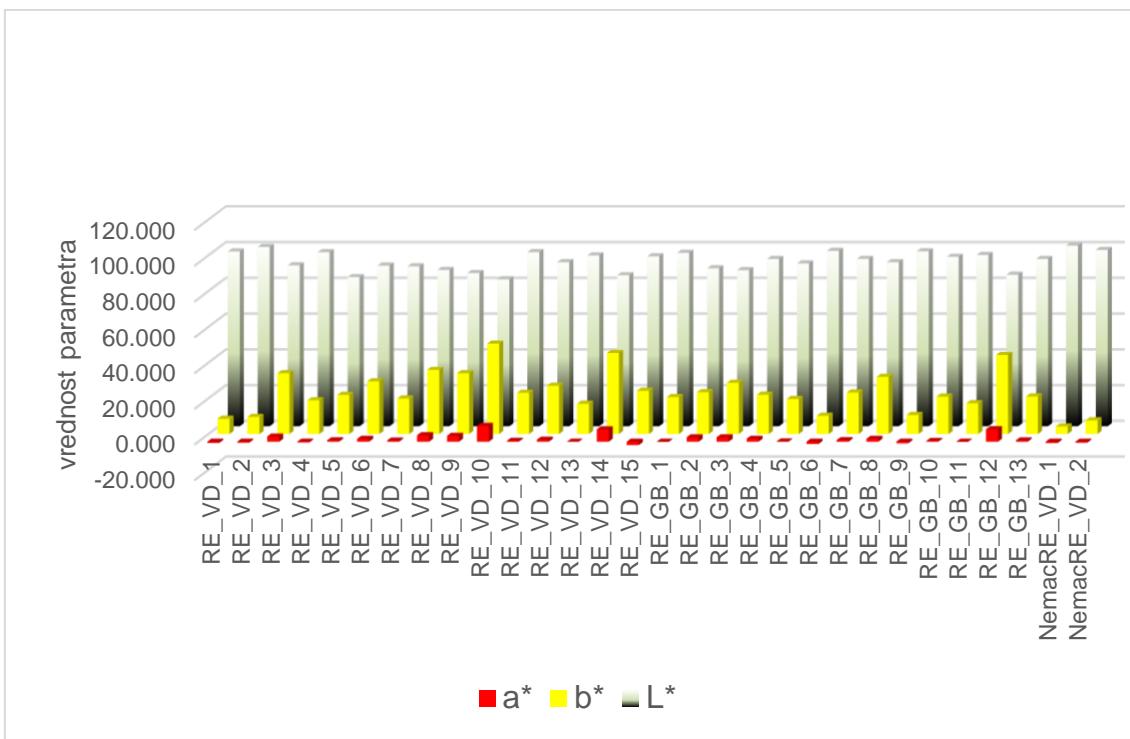
*Imena vzorcev so podana v preglednici 1. **Vrednosti, ki so označene z različnimi črkami v stolpcu, se med seboj statistično razlikujejo ($P < 0,05$, LSD).

Kot kažejo podatki iz preglednice 14, so parametri A₄₂₀ in parametri a*, b* in L*, kromatičnost (chroma), odtenek (hue) barvnega sistema Lab visoko statistično značilno soodvisni ($R = 0,8789; 0,9634$ in $-0,9301, -0,8951, 0,9633$), kar je bilo pričakovano.

Koreacijski koeficient (R) 1 pomeni 100 % pozitvno korelacijo, 0 pomeni nobene koreracije in -1 visoko negativno korelacijo, p vrednosti $< 0,001$ visoko statistično značilnost koreracije in $p < 0,05$ statistično značilne koreracije pri tveganju, manjšem od 5 %. Izkazalo se je, da s parametrom A₄₂₀ najbolje korelira prav parameter odtenek (hue), ki med individualnimi parametri CIE Lab sistema najbolj korelira z b* parametrom (delež rumene barve) ($R = 0,99$) pri visoki stopnji statistične značilnosti ($p < 0,001$).

Preglednica 14: Izračunani koreacijski koeficienti s pripadajočo stopnjo tveganja (P-vrednost) med parametrom skupni polifenoli in instrumentalno določeno barvo (n = 30).

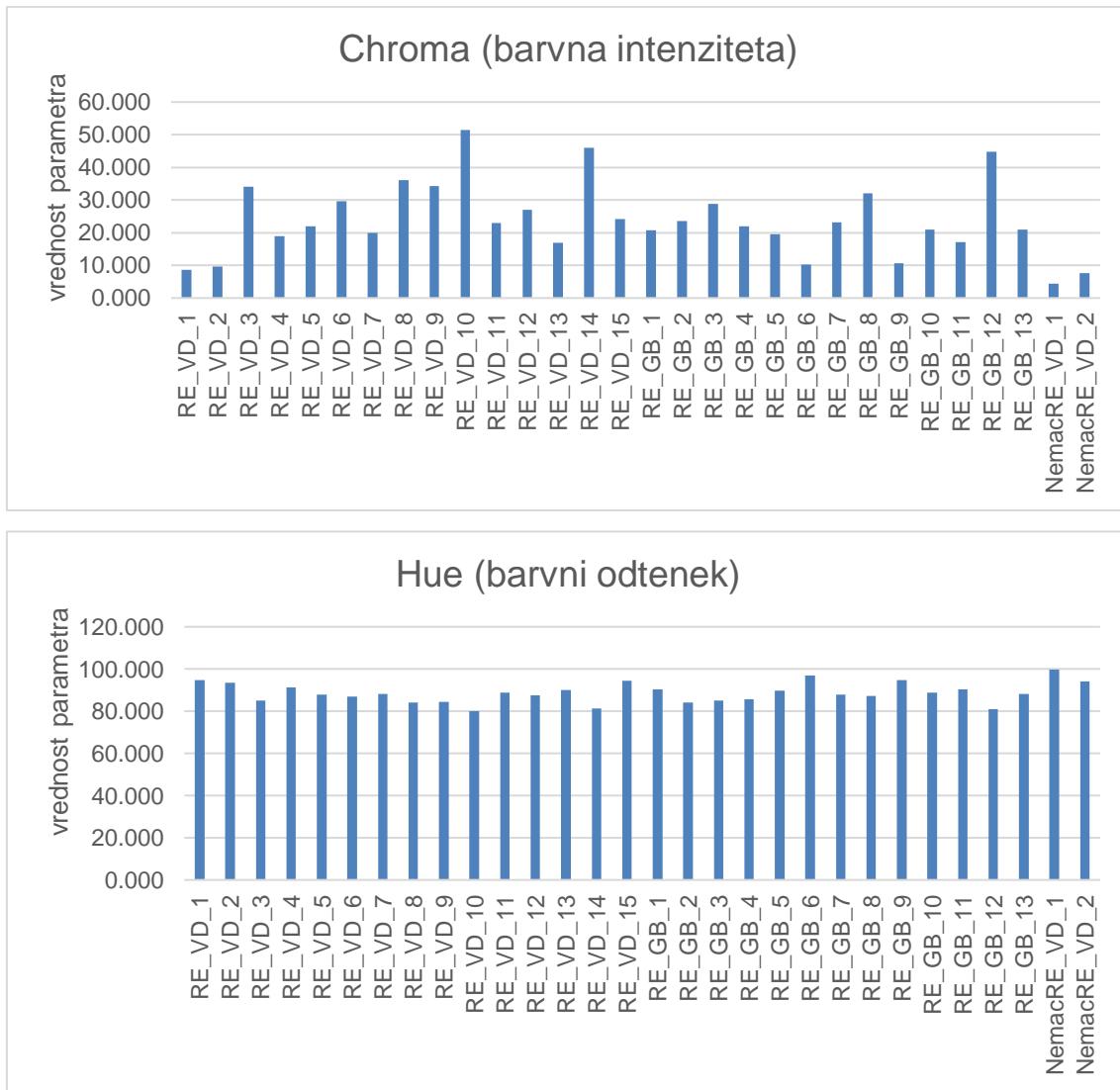
Koreacijski koeficienti (R) in stopnja statističnega tveganja (P-vrednost)	A ₄₂₀	a*	b*	L*	Skupni polifenoli (mg GAE/L)
A ₄₂₀		0,8789	0,9634	-0,9301	0,7263
P-vrednost		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Skupni polifenoli (mg GAE/L)	0,7263	0,6146	0,7506	-0,6625	
P-vrednost	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	
a*	0,8789		0,9019	-0,8168	0,6146
P-vrednost	< 0,001		< 0,001	< 0,001	< 0,001
b*	0,9634	0,9019		-0,8480	0,7506
P-vrednost	< 0,001	< 0,001		< 0,001	< 0,001
Hue	0,9633	0,9053	0,9999	-0,8478	0,7475
P-vrednost	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Chroma	-0,8951	0,8702	-0,9023	-0,8674	-0,8390
P-vrednost	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001



Slika 7: Barvni parametri sistema CIE Lab – L*, a* b* pri vseh vzorcih vina (povprečne vrednosti, n = 3).

Pri instrumentalnem določanju barvnih parametrov in s pomočjo slike 7 imamo možnost videti variabilost parametrov, kot so svetlost (L^*), delež rumenih pigmentov ($+b^*$ pomeni bolj rumeno barvo, $-b^*$ pa bolj modro) in delež rdečega pigmenta (večja $+a^*$ vrednost pomeni bolj rdečo barvo, večja $-a^*$ vrednost pa bolj zeleno barvo). Pri vseh vinih je L parameter v +L položaju, kar pomeni, da so vsi vzorci svetli.

Parametra a^* in b^* sta, kot izgleda, visoko statistično značilno linearno povezana (preglednica 14, $R = 0,9019$), kar nam lahko pove, da je večji delež rdečega pigmenta linearno povezan z večjim deležem rumenega pigmenta v obravnavanih vinih.



Slika 8: Barvni parametri sistema Lab - izračunani barvni odtenek (Hue) in barvna intenzivnost (Chroma) (povprečne vrednosti, n = 3).

Pri tem imajo največjo vrednost parametrov a* in b* vzorci vina RE_VD_10, RE_VD_14 in RE_GB_12, ki jim je skupni podatek dejstvo, da so nefiltrirani. Vsi ti vzorci imajo večje vrednosti Chroma (Chroma-kromatičnost) (slika 8). Pri primerjavi L* in a* ter b* vidimo, da bolj kot je svetlo vino, manjšo koncentracijo imamo rdečega in rumenega pigmenta in obratno.

5 ZAKLJUČEK

V dani diplomski nalogi smo analizirali 30 vin sorte 'Rebula' iz vinorodnih okolišev Vipavska dolina in Goriška brda, med katerimi je bilo 28 takšnih, ki so bili pridelani s podaljšanim časom maceracije drozge grozdja. Vina različnih letnikov smo pridobili na trgu, preko spletnih prodajnih strani, v lokalnih specializiranih prodajalnah vina ali pri pridelovalcih vina. V vinih smo izmerili standardne fizikalno-kemijske parametre vsebnost etanola, prostega in skupnega žveplovega dioksida, vsebnosti organskih kislin, glukoze + fruktoze, hlapne kisline, skupne titrabilne kisline in pH. Med drugim smo določili tudi vsebnost skupnih polifenolov po metodi Folin–Ciocalteu in posamezne polifenole po HPLC-UV-Vis metodi. Barvo vin smo določili spektrofotometrično z absorbanco pri 420 nm (A_{420}) in v barvnem sistemu CIE Lab po metodah OIV.

Podatki nakazujejo trend, da podaljšan stik kožicami (daljši od 10 dni) vpliva na večje koncentracije skupnih polifenolov, ki so v našem naboru vzorcev 'oranžnega vina' sorte 'Rebula' varirali od 600 do 1100 mg GAE/L. Literurni podatki kažejo, da so lahko v tovrstnih sortnih vinih koncentracije skupnih polifenolov tudi večje (približno 2000 mg GAE/L) (Ružič in sod., 2011). Že Gomez-Migues in sod. (2007) so v svoji raziskavi, v kateri so primerjali vpliv časa in temperature predfermentativne fermentacije na količino polifenolov v belih vinih, ugotovili, da so dolgi časi maceracije (12, 18 in 24 ur) pri nizkih temperaturah (5 in 10 °C) bolj koristni za izplen polifenolov kot krajsi časi (2, 4, 6, 8 ur) pri 20 °C.

V naši študiji časa trajanja maceracije in vsebnosti polifenolov nismo uspeli povezati. Izvedba postopka maceracije in pogoji med maceracijo drozge (čas trajanja, temperatura) so se namreč bistveno razlikovali, prav tako so vina različnih letnikov, kar lahko tudi dodatno vpliva na variabilnost rezultatov. Vse navedeno se odraža na nehomogenosti rezultatov meritev, zato zastavljeni hipoteze ne moremo potrditi.

Barva vina je povezana s količino skupnih polifenolov, kot je to pokazala linearna regresijska analiza ujemanja kemijskih podatkov o količini skupnih polifenolov po Folin–Ciocalteu in parametrov instrumentalno določene barve.

Že stroka opaža veliko razliko v barvi teh vin in mi smo jo zaznali tudi instrumentalno. Slednja je povezana s količino skupnih polifenolov, zato barvo 'oranžnih vin' ocenujemo kot potencialni 'marker' vsebnosti celokupnih polifenolov. Je pa dobro, da običajni

spektrofotometrični parameter za določanje barve belih vin A₄₂₀ nm kombiniramo s parametri barvnega sistemoma CIE Lab, ki nam omogoča podrobnejšo analizo barve vina.

V izbranih vinih smo določili izbrane posamezne polifenole, med katerimi je v maceriranih vinih prevladovala galna kislina. Ta je lahko posledica tako daljšega stika vina s kožicami in pečkami (razgradnja galoiliranih kondenziranih taninov) ali pa staranja v lesenih sodih, ki znano prispevajo k povečanju elagotaninov v vinu, ki so v osnovi zgrajeni iz galne kisline, ki se lahko sčasoma sprošča iz tovrstnih taninov. O tem lahko le ugibamo, ker naše analize ne dopuščajo natančnejšega sklepanja. Prav tako bi bilo primerno, da bi v vinih izmerili tudi flavanole, kot so glikozidi kvercetina ali mircetina, ki so prav tako pomembni antioksidanti in tudi lahko prisotni v takšnih vinih.

Opazili pa smo, da kljub vsemu vina vsebujejo zelo malo prostega in skupnega žvepla, ki vina ščiti tudi pred oksidacijo. V vinih so bile vsebnosti hlapnih kislin v večjem številu primerov pod zakonsko določenim pragom 1g/L. Zaščitno vlogo so najverjetneje odigrali posamezni polifenoli, ki jih tudi nismo analizirali. Skladno z obstoječimi podatki iz literature lahko domnevamo, da so se posamezni polifenoli oksidirali in se povezali v rjave pigmente, ki vplivajo na nastalo jantarno barvo vin. Ker v vinih prav tako nismo zaznali procianidinov v takšni meri, kot bi pričakovali, pa tudi na podlagi odsotnosti ostalih polifenolnih in hidroksicimetnih kislin, domnevamo, da se dogajajo tudi že kondenzacije in interne povezave med flavanoli in ostalimi polifenoli, značilni za procese staranja in zorjenja vin. Ker o tovrstnih pretvorbah pri belih vinih, pridelanih z maceracijo drozge grozdja, v literaturi ni veliko podatkov na razpolago in ker smo obenem priča naraščajočim trendom prisotnosti tovrstnih vin na trgu, je zagotovo potreba po nadalnjih raziskavah. Seveda pa morajo biti le-te izvedene v kontroliranem okolju maceracij, fermentacij in nato staranja vina.

6 VIRI

- Arapitsas, P. Oliveira, J. Mattivi, F. (2015). Do White Grapes Really Exist? *Food Research International*, 69: 21–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.002>.
- Bavčar D. (2015). *Postopki izdaje odločb za promet z vinom*. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije; 2015.
- Bavčar D. (2018). *Dolgo macerirana bela vina*. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije; 2018.
- Benítez, P., Castro, R. (2002). Antonio Sanchez, Pazo, J.; Barroso, C. G. Influence of Metallic Content of Fino Sherry Wine on Its Susceptibility to Browning. *Food Research International*, 35 (8): 785–791. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00075-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00075-3).
- Bestulić, E., Rossi, S., Plavša, T., Horvat, I., Lukić, I., Bubola, M., Ilak Peršurić, A. S., Jeromel, A., & Radeka, S. (2022). Comparison of different maceration and non-maceration treatments for enhancement of phenolic composition, colour intensity, and taste attributes of Malvazija istarska (*Vitis vinifera* L.) white wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 109. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104472>.
- Boulton R.B., editor. (1996) *Principles and practices of winemaking*. New York: Chapman & Hall; 1996.
- Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, Volume 1*. (2021). OIV: Paris, 2021. Pridobljeno 19. 2. 2023 s strani: <https://www.oiv.int/public/medias/7907/oiv-vol1-compendium-of-international-methods-of-analysis.pdf>.
- Darias-Martín, J. J., Rodríguez, O., Díaz, E., Lamuela-Raventós, R. M. (2000). Effect of Skin Contact on the Antioxidant Phenolics in White Wine. *Food Chemistry*, 71 (4): 483–487. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00177-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00177-1).
- Fuhrman, B., Volkova, N., Suraski, A., Aviram, M. (2001). White Wine with Red Wine-like Properties: Increased Extraction of Grape Skin Polyphenols Improves the Antioxidant Capacity of the Derived White Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7): 3164–3168. <https://doi.org/10.1021/jf001378j>.

Garrido-Bañuelos, G., Buica, A., Schückel, J., Zietsman, A. J. J., Willats, W. G. T., Moore, J. P., & du Toit, W. J. (2019). Investigating the relationship between cell wall polysaccharide composition and the extractability of grape phenolic compounds into Shiraz wines. Part II: Extractability during fermentation into wines made from grapes of different ripeness levels. *Food Chemistry*, 278: 26–35.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.136>.

Gómez-Míguez, M. J., González-Miret, M. L., Hernanz, D., Fernández, M. Á., Vicario, I. M., Heredia, F. J. (2007). Effects of Prefermentative Skin Contact Conditions on Colour and Phenolic Content of White Wines. *Journal of Food Engineering*, 78 (1): 238–245.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.021>.

Hrček L, Korošec-Koruza Z. (1996). *Sorte in podlage vinske trte: ilustrirani prikaz trsnega izbora za Slovenijo*. Ptuj: SVA Veritas; 1996.

International Code of Oenological Practices (2021). OIV: Paris, 2021. Pridobljeno 19. 2. 2023 s strani: <https://www.oiv.int/public/medias/7713/en-oiv-code-2021.pdf>.

Jefford A. (2013) Georgian wines: older and wiser. Financial Times, August 2013. Pridobljeno dne 8. 4. 2021 s spletno strani: <https://www.ft.com/content/7307e952-f50b-11e2-b4f8-00144feabdc0>.

Katalinić, V.; Milos, M.; Modun, D.; Musić, I.; Boban, M. Antioxidant Effectiveness of Selected Wines in Comparison with (+)-Catechin. *Food Chemistry* 2004, 86 (4), 593–600. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.007>.

Košmerl T., Kač M. (2009). *Osnovne kemijske in senzorične analize mošta in vina laboratorijske vaje pri predmetu Tehnologije predelave rastlinskih živil - vino*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo.

Li, H.; Guo, A.; Wang, H. (2008). Mechanisms of Oxidative Browning of Wine. *Food Chemistry*, 108 (1): 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.065>.

Morata A. (2019). *Red wine technology*. London: Academic Press; 2019.

Morata A. (2022). *White wine technology*. London: Academic Press; 2022.

Moreno, J.; Peinado, R. (2012). *Enological Chemistry*, 1st ed.; Academic Press: London; Waltham, MA, 2012.

Navodilo o fizikalno-kemijskih analizah grozdnega mošta in vina (Uradni list RS, št. 43/01 in 105/06 – ZVin).

Pravilnik o spremembri in dopolnitvi Pravilnika o seznamu geografskih označb za vina in trsnem izboru (Uradni list RS, št. 26/21).

Radeka, S.; Herjavec, S.; Perušić, Đ.; Lukić, I.; in Sladonja, B. (2008). Effect of Different Maceration Treatments on Free and Bound Varietal Aroma Compounds in Wine of *Vitis vinifera* L. cv. Malvazija istarska bijela. *Food Technology and Biotechnology*, 46(1), 86–92.

Radikon B, Blaškovič Z, Ribolica D. (1995). Nekaj o vinu rebuli kot najstarejši Briki. Sodobno kmetijstvo, 28(1):35–6.

Reynolds, A.G. (editor) (2022) *Managing wine quality, Volume 2, Oenology and wine quality*. 2nd ed.; Duxford, United Kingdom: Woodhead Publishing, an imprint of Elsevier; 2022.

Ribéreau-Gayon, P. (editor) (2006) *Handbook of enology*. 2nd ed.; Chichester: J. Wiley & Sons; 2006.

Ružić, I., Škerget, M., Knez Ž., Runje M. (2011). Phenolic Content and Antioxidant Potential of Macerated White Wines. *European Food Research and Technology*, 233 (3): 465–472. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1535-4>.

Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. M. (2019). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. in *Oxidants and Antioxidants Part A* vol. 299 152–178 (Academic Press, 1999).

Sioumis, N., Kallithraka, S., Makris, D. P., Kefalas, P. (2006). Kinetics of browning onset in white wines: Influence of principal redox-active polyphenols and impact on the reducing capacity. *Food Chemistry*, 94(1): 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.059>.

Top Slovenian wine: Orange wine. 6 April, 2021. Pridobljeno s strani: <https://theslovenia.com/gastronomy/wine/top-slovenian-wine-orange-wine/>.

Vertovec M. (1844). *Vinoréja*. V Ljubljani: natisnil Joshef Blasnik; 1844.

Vivi Šola okusov. Orange wine festival. (2022) Pridobljeno s strani 5. 10. 2022.

<https://www.solaokusov.si/vinske-zgodbe/orange-wine-festival-v-izoli/>.

Waterhouse A.L., Sacks G.L., Jeffery D.W. (2016). *Understanding wine chemistry*.

Chichester: J. Wiley; 2015.

White wine with maceration – Interview with the Georgian Minister for Agriculture. (2020).

Organisation of Vine and Wine (OIV), 22 December 2020. Pridobljeno dne 8. 4. 2021 s spletno strani: <https://www.oiv.int/white-wine-with-maceration-interview-with-the-georgian-minister-for-agriculture>.

Woolf S. (2015). Orange wines: it's time to get in touch. Decanter, From our partners. 12.

maj 2015. Pridobljeno dne 8. 4. 2021 s spletno strani:

<https://www.decanter.com/features/orange-wines-it-s-time-to-get-in-touch-245524/>.

Zakon o vinu (Uradni list RS, št. 105/06, 72/11, 90/12).