

ZAKLJUČNO POROČILO

O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Naziv težišča v okviru CRP:

5 Povezovanje ukrepov za doseganje trajnostnega razvoja (tematski sklop)
5.3 Trajnostno kmetijstvo, gozdarstvo in varna hrana (tematski sklop)
5.3.1 Posebni proizvodi in podpora sledljivosti (tema)

 REPUBLIKA SLOVENIJA NOSILEC JAVNEGA POOBLASTILA JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST REPUBLIKE SLOVENIJE, LJUBLJANA	
Prejeto:	16-10-2009
Številka zadeve:	63M3-278/06
Sig. z.:	OMO
Pril.:	
Vrednost:	

2. Šifra projekta:

V4-0317

3. Naslov projekta:

Preprečevanje prehitrega staranja slovenskih belih vin

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Preprečevanje prehitrega staranja slovenskih belih vin

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Prevention of untypical ageing off-flavour in Slovenian white wines

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

neznačilna starikava nota, zorenje, 2-aminoacetofenon, hlapne snovi, kemijska sestava, senzorična analiza, bela vina

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

untypical ageing off-flavour, maturation, 2-aminoacetophenone, volatile compounds, chemical composition, sensory analysis, white wines

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Univerza v Ljubljani (Biotehniška fakulteta)

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

/

6. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano (MKGP)

7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

10688

Tatjana Košmerl

Datum: 14.10.2009

Podpis vodje projekta:

prof. dr. Tatjana Košmerl

Košmerl

Podpis in žig izvajalca:

prof. dr. Radovan Stanislav Pejovnik, rektor
Po pooblastilu prof. dr. Franc Štampar, dekan



[Signature]
1

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

- ☐ a) v celoti
☒ b) delno
☐ c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

Od sprejetega programa ni večjih sprememb oziroma odstopanj.

V letu 2007 smo v okviru sprejete programa dodatno vključili analizo določanja antioksidacijskega potenciala vina z radikalom DPPH (spektrofotometrična analiza), na željo zainteresiranih kleti pa bomo pred trgatvijo vpeljali tudi dodatno metodo določanja polifenoloksidazne aktivnosti, s katero se povezuje stopnja okužbe grozdja s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*, pomanjkanje prostih aminokislin v moštu in nenazadnje prehiter pojav neznačilne starikave note.

Kljub dejstvu, da najprej smo dobili vseh obljubljenih vzorcev primorskih vin (iz vinske kleti Brič), smo raziskovalno delo razširili še na vzorčenje štajerskih belih sort letnika 2007 pred in po vsaki tehnološki fazi (od zaključene alkoholne fermentacije do stekleničenja) in analizo vsebnosti 2-AAP. V ta del so vključene poleg laškega rizlinga in chardonnaya dodatno še naslednje bele vinske sorte: beli pinot, sauvignon, renski rizling in šipon.

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

☒ a) da

☐ b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

Po predhodni najavi smo dodatno opravili pri vseh vzorčenjih spektrofotometrično analizo določanja antioksidacijskega potenciala (AOP) vina z radikalom DPPH, pred trgatvijo 2007 pa tudi nismo mogli izpeljati želene dodatne spektrofotometrične metode določanja polifenoloksidazne aktivnosti, s katero se povezuje stopnja okužbe grozdja s plesnijo vrste *Botrytis cinerea*, pomanjkanje prostih aminokislin v moštu in nenazadnje prehiter pojav neznačilnega starikavega tona.

V primerjavi s prejšnjima letnikoma je bila namreč trgatev 2007 v povprečju 14 dni prej, dodatno pa je bila pri vseh proučevanih sortah tudi stopnja okužbe grozdja s plesnijo minimalna (manj kot 1 %).

2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela¹:

V prvih štirih mesecih leta 2008 smo v skladu s programom opravili analize osnovne fizikalno-kemijske sestave proučevanih vzorcev belega vina in sicer iz vinorodnega okoliša Srednje slovenske gorice-Haloze (v.o. Štajerska Slovenija) na sortah laški rizling in chardonnay obeh letnikov (2005 in 2006) ter iz koprskega vinorodnega okoliša (v.o. Slovenska Istra) samo sorto malvazija letnika 2005. Nadalje smo v zadnjih dveh vzorčenjih (januarja in aprila 2008) že vključili analizo dodatnih štirih vzorcev iz druge vinske kleti koprskega vinorodnega okoliša in sicer istih sort malvazija in chardonnay obeh letnikov 2005 in 2006 (tako v normalnih kot v stresnih razmerah zorenja). Krepko z zamudo smo 18.03.2008 prejeli tudi manjkajoče vzorce malvazije obeh letnikov 2005 in 2006 ter chardonnaya 2005 iz prve vinske kleti v.o. Slovenska Istra, pri katerih smo že opravili začetne analize vin v normalnih razmerah zorenja. Vse proučevane vzorce vin letnika 2007 smo prejeli v mesecih marec-april 2008.

V času od trajanja celotnega projekta (oktober 2006 do september 2009) smo skladno s programom opravili analize osnovne fizikalno-kemijske sestave proučevanih vzorcev belega vina in sicer iz vinorodnega podokoliša Srednje slovenske gorice-Haloze (v.o. Štajerska Slovenija) na sortah laški rizling in chardonnay vseh treh letnikov (2005, 2006 in 2007) ter iz koprskega vinorodnega podokoliša (v.o. Slovenska Istra) na sortah malvazija in chardonnay, prav tako vseh treh letnikov. V zadnjih dveh vzorčenjih (oktober-november 2008, januar-februar in maj-junij 2009) je bila opravljena analiza vseh 19 vzorcev vina (tako v normalnih kot v stresnih razmerah zorenja), skupno torej 38 vzorcev; in nazadnje statistična obdelava vseh dobljenih rezultatov.

V okviru fizikalno-kemijskih analiz, opravljenih v treh ponovitvah, smo torej v letošnjih vzorčenjih v skupno osemintridesetih različnih vzorcih določili: vrednosti pH, vsebnosti posameznih organskih kislin, 2-aminoacetofenona (2-AAP), prostega, vezanega in skupnega žveplovega dioksida, hlapnih snovi (acetaldehid, etilacetat, višje alkohole in njihove estre), titrabilnih in skupnih kislin, kislin soli, alkohola in skupnega suhega ekstrakta, skupnih fenolnih spojin, vrednosti barvnih parametrov (A420 in A520) in oceno motnosti (A600) ter antioksidacijski potencial (AOP).

V času zorenja stekleničenega vina v normalnih razmerah staranja so se pri večjem številu vzorcev že razvile neznačilne (negativne) aromatične snovi iz prisotnih spojin v vinu, ki so spremenile aromatični sortni profil proučevanih vin v smislu zmanjšanja sortnosti, predvsem pa oksidativnosti ali reduktivnosti. Pomembni dejavniki, ki vplivajo na razvoj različnih arom so predvsem temperatura, vsebnosti kisika in žveplovega dioksida; vsebnost slednjega je namreč v normalnih razmerah skladiščenja že na meji, ki zagotavlja vsaj minimalno koncentracijsko območje za zorenje belih vin, tako starejšega kot nekoliko mlajšega letnika (2005 in 2006). Določili smo značilno razliko v kemijski sestavi vin glede na različne razmere skladiščenja vina in sicer je še v večjem številu vzorcev prišlo v stresnih razmerah do značilnih sprememb v vsebnosti skupnih kislin, kislin soli, skupnega suhega ekstrakta, skupnih fenolnih spojin in predvsem prostega žveplovega dioksida. To se je odražalo na povečanju intenzitete barve (A420) in na manjšem povečanju AOP. S senzoričnega stališča se je to odražalo na slabši skupni oceni zaradi oksidativnosti vin, pri nekaterih vzorcih tudi rahle reduktivnosti, predvsem pa zaznavne medene note ali drugih nesortnih-netipičnih arom. Glavna dejavnika, ki značilno vplivata na fizikalno-kemijske

¹ Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

reakcije in povzročata pozitivne ali negativne senzorične spremembe v vinu, sta izhodiščna kemijska sestava vina in razmera med zorenjem in/ali skladiščenjem vina (temperatura, relativna vlažnost). Ena izmed negativnih senzoričnih sprememb je pojav neznačilnega starikavega tona vina, ki se v našem primeru skladiščenja v normalnih razmerah v tem relativno kratkem času (tj. po enem letu in pol zorenja) že pojavila v vinih letnikov 2005 in 2006, v katerih je tudi analitsko določena večja vsebnost 2-AAP.

Panel senzoričnih ocenjevalcev je podrobno kvalitativno vina senzorično analiziral, z določitvijo izbranih senzoričnih opisov vonja, okusa in arome vina, v okviru katerih je zlasti pri zadnjem ocenjevanju potrdil prevladujočo medeno noto vin, z manj prepoznavno sortnostjo, značilno manjšo svežino ter pričakovanim postanim in/ali starikavim vonjem in okusom. Dodatno se je pri nekaterih vzorcih pojavila tudi rahla meglica, opalescenca ali celo motnost vina.

Optimiziran hiter in enostaven test ugotavljanja potencialnega razvoja NST, primeren predvsem za napoved razvoja omenjene napake v mladih belih sortnih vinih takoj po zaključeni alkoholni fermentaciji vin tekočega letnika 2007 (hitri test Würzburger UTAFIX-Test) je pokazal zadovoljivo korelacijo z rezultati vsebnosti 2-AAP, določenimi s plinsko kromatografijo.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen² rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:

- ☒ a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
- ☒ b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
- ☒ c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
- ☐ d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
- ☒ e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:

- ☒ a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpori teh dejavnosti;
- ☒ b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
- ☐ c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
- ☐ d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
 - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
 - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;

² Označite lahko več odgovorov.

- ☐ e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
- ☒ f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
- ☐ g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
- ☒ h) splošni napredek znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
- ☐ i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Z našimi rezultati smo dokazali, da je problematika prehitrega staranja belih vin še kako aktualna v naših vinih. Do sedaj nismo imeli analitskih podatkov o vsebnosti 2-AAP, ki je odvisna od letnika in sorte vina ter razmer zorenja. Nedvomno, da vina zorijo v optimalnih razmerah pri pridelovalcih samih, je pa stvar popolnoma drugačna, ko pridejo na tržišče (trgovine, vinoteke, gostilne,...).

V normalnih razmerah zorenja stekleničenega vina (9-10°C, relativna vlažnost 80-82%, v temnem prostoru) smo določili povprečno koncentracijo 2-AAP 0,46 µg/L za letnik 2005, 0,28 µg/L za letnik 2006 in za letnik 2007 le 0,15 µg/L. Pričakovano so bile vsebnosti 2-AAP v stresnih razmerah (18-23°C, relativni vlažnosti 55-68%, pri dnevni svetlobi) večje in sicer 0,61 µg/L, 0,49 µg/L in 0,18 µg/L. Med proučevanimi sortami izstopa malvazija z vsebnostjo 2-AAP več kot 0,9 µg/L v letnikih 2005 in 2006 ter senzorično prepoznavnim NST v obeh razmerah zorenja.

V okviru spremembe kemijske sestave vin so se ne glede na razmere zorenja zmanjšale koncentracije skupnih in titrabilnih kislin, alkohola in prostega SO₂, povečala pa sta se intenziteta in ton barve. V stresnih razmerah se je vzorcem pričakovano povečala intenziteta barve in motnost, kar pa je lahko tudi za potrošnika že nesprejemljivo.

Najpomembnejši rezultati se nanašajo na vsebnosti 2-AAP v okviru posameznih tehnoloških faz pri pridelavi vina (pred in po izvedenem postopku ali dodatku enološkega sredstva), na podlagi katerih enolog lahko pravočasno ukrepa v smislu preprečevanja NST. Dodatno smo pri vseh naknadno vključenih vzorcih določili tako dejansko prisoten kot potencialni 2-AAP, ki bi se v stresnih razmerah lahko tvoril iz obstoječih prekurzorjev, kar še dodatno daje aplikativno vrednost glede informacije, do kakšnega obsega se NST lahko razvije.

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

V okviru dolgoročnih rezultatov našega projekta pričakujemo, da bodo pridelovalci sami znali s pravilnimi vinogradniškimi in vinarskimi ukrepi čim bolj zmanjšati vsebnost izhodiščnih prekurzorjev in nadalje omejiti nastanek 2-AAP, kot odgovorne spojine prehitrega staranja vina. Tako pridelovalci, kot svetovalci, kolegi s pooblaščenih organizacij in vinarski inšpektorji so bili z rezultati seznanjeni, tako teoretično kot praktično v okviru naših strokovnih srečanj, tako da bodo tudi sami lahko pridobljeno znanje in izkušnje širili naprej. Nadalje pričakujemo tudi večjo osveščenost tako trgovcev kot potrošnikov, v kakšnih razmerah se vina hrani, koliko časa in seveda katero sorto. Nenazadnje ne smemo pozabiti, da vsi naši dodiplomski in podiplomski študenti so ali še bodo v prihodnosti potencialni potrošniki vina, ki bodo znali objektivno ovrednoti, ali bo vino še pridobivalo na kakovosti, ali je že svoj kakovosti višek doseglo oziroma niti ni več sposobno za promet..

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- ☒ a) v domačih znanstvenih krogih;
- ☒ b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- ☒ c) pri domačih uporabnikih;
- ☐ d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Večje število naših večjih in manjših vinskih kleti, kmetijski svetovalci, pooblašcene organizacije za oceno vina, mošta in drugih proizvodov iz grozdja in vina, posamezni vinogradniki-vinarji, vinarski inšpektorji, sommelierji, bodoči degustatorji.

3.7. Število diplomantov, magistrov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

Dva diplomanta Martina Zapušek: ZAPUŠEK, Martina. *Neznačilen starikav ton belih vin : diplomsko delo, univerzitetni študij = Atypical ageing off-flavour of white wines : graduation thesis, university studies*, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1265). Ljubljana: [M. Zapušek], 2007. X, 60 f., graf. prikazi, tabele. [COBISS.SI-ID 3380088] in Matjaž Rihtaršič: RIHTARŠIČ, Matjaž. *Vpliv razmer zorenja na kemijsko sestavo stekleničenih belih vin : diplomsko delo, univerzitetni študij = The influence of maturation conditions on chemical composition of bottled white wines : graduation thesis, university studies*, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1356). Ljubljana: [M. Rihtaršič], 2009. X, 46 f., graf. prikazi, tabele. [COBISS.SI-ID 3680120], medtem ko je magistrandka Mihaela Bregantič, tik pred zagovorom svojega magistrskega dela z naslovom »Vpliv zorenja vina na nastanek 2-aminoacetofenona«.

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi institucijami.

Z ozirom na dejstvo, da smo sami postavili in vpeljali metodo za določanje 2-AAP smo se za primerjavo dobljenih rezultatov obrnili v Italiji na Fondazione Edmund Mach, Istituto Agrario di San Michele all'Adige, Responsabile Laboratorio Chimico e Consulenza Enologica, Centro Trasferimento Tecnologico, Via E. Mach, 1-38010 San Michele all'Adige (dr. Flavia Gasperi), dodatno pa smo sodelovali z dr. Reihard Eder-jem (Lehrer für Chemie der Früchte und Weine, Mikrobiologie und Hygiene, Chemisches u. mikrobiologisches Laboratorium, Stv. Direktor; Institutsleiter Chemie/Biologie; Leiter Abteilung Chemie und Qualitätskontrolle; Leiter der Prüfstelle) iz HBLA und Bundesamt für Wien- und Obstbau Klosterneuburg.

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

Žal s sodelovanjem z italijansko institucijo ne moremo biti zadovoljni, saj smo jim poslali na analizo vse vzorce vin treh zaporednih vzorčenj. Rezultati prvih dveh vzorčenj so bili za nas absolutno previsoki v primerjavi z našimi in nesprejemljivi, na kar niso odreagirali, za zadnje vzorčenje pa so bile vrednosti v mejah pričakovanih in primerljivi. Ponovno so nam potem v maju letošnjega leta ponovno ročno preračunali prve vrednosti za 100 vzorcev, ki so jih potem zmanjšali z obrazložitvijo napake pri avtomatskem integriranju kromatografskih vrhov – instrumentalna kvantifikacija za 79-87 % (prva serija) oziroma za 40-65 % (druga serija).

Sodelovanje z avstrijskimi kolegi je formalne narave in sicer uvajanje naše metode za detekcijo in kvantifikacijo vsebnosti 2-AAP, pri kateri smo uporabili »stir bar-sorptive« ekstrakcijsko metodo (SBSE) in plinsko kromatografijo (GC) s specifičnim dušik-fosfornim detektorjem (NPD).

5. Bibliografski rezultati³ :

Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričujočega projekta.

³ Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletne strani: <http://www.izum.si/>

6. Druge reference⁴ vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:

Dosedanji rezultati aplikativnega projekta so bili predstavljeni v vinskih klet Ptujška klet vinarstvo d.o.o. (direktorju Andreju Sajku in enologu Bojanu Kobalu), Vinakoper (direktorju Neviju Pucerju ter enologu in članu uprave Iztoku Klenarju) ter vinski kleti Brič (bivšemu enologu Boštjanu Zidarju). Predstavitve so bile najmanj dvakrat letno v času trajanja raziskovalnega projekta.

Dodatno so bili rezultati predstavljeni tudi vinarskim inšpektorjem in kmetijskim svetovalcem v okviru njihovega Podiplomskega permanentnega izobraževanja v letih 2007-2009, ko je bila z njimi opravljena opisna (deskriptivna) senzorična analiza proučevanih vzorcev. Na vseh izobraževanjih na terenu za manjše vinogradnike-vinarje z vinorodne dežele Posavje ter tečajih za sommelierje prve stopnje smo posredovali strokovno teorijo in predstavili rezultate.

Zadnja predstavitev vseh dobljenih rezultatov, vključno s senzorično analizo je bila opravljena v torek, 22. aprila 2008 s študenti 4. letnika Živilske tehnologije v okviru predavanj pri predmetu Enologija. Žal nam je v zadnjem študijskem letu 2008/2009 zmanjkalo vzorcev, da bi s študenti opravili senzorično analizo, smo jim pa zato samo v mesecu maju predstavili vse dosedanje rezultate in teoretično osnovo NST.

Septembra 2008 je bil oddan izvirni znanstveni članek z naslovom: »Determination of 2-aminoacetophenone content in wines using the stir bar-sorptive extraction method coupled with GC-NPD«, ki še vedno čaka na objavo v revijo Mitteilungen Klosterneuburg.

Planirano imamo še eno predstavitev končnih in statistično obdelanih rezultatov aplikativnega projekta širši javnosti in sicer v okviru Enološkega dneva (17. november 2009) – oddan prispevek z naslovom »Neznačilen starikav ton in spremembe sestave stekleničenih belih vin v odvisnosti od razmer zorenja«.

⁴ Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije.

Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavitev projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavitevami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.