

**בחינת איכות יין המתקבלת מקלונים שונים של ענבי
יין מזן קברנה סוביניון**

Chemical and Organoleptic evaluation of wine quality from different clones of C.V Cabernet
Sauvignon grown in Israel.

מגיש: אמיר סריג

עבודת הגמר מוגשת לשם קבלת תואר 'מוסמך בביוטכנולוגיה M.Sc.'

לפקולטה למדעים וטכנולוגיה, המכללה האקדמית תל-חי

10 בספטמבר 2018

א' בתשרי תשע"ט

עבודה זו התבצעה בהדרכת:

מאושר על ידי _____ תאריך: _____
(מנחה העבודה)

מאושר על ידי _____ תאריך: _____
(ראש התכנית לתואר השני)

תודות:

ד"ר מאיר שליסל – המכללה האקדמית תל-חי.

ד"ר תרצה זהבי וד"ר עומר קריין – מו"פ צפון.

כל אותם כורמים גיבורים אשר נטעו, גזמו, בצרו וטיפלו בכרמים במסירות.

עובדי מו"פ צפון אשר מדדו ותיעדו את נתוני הכרמים בגשם ובשרב.

כל צוות מעבדת המזון – מכללת תל חי, לד"ר אופיר בנימין על תמיכה וסיוע ביצוע אנליזות וד"ר חגי שמש על סיוע בסטטיסטיקה.

יקבי רמת הגולן על הכנת יינות ותיעוד יוצאים מן הכלל.

משפחתי היקרה, על ימים ארוכים של תמיכה וסבלנות.

תוכן העניינים:

פרק	נושא	עמוד
1	מבוא	8
2	סקר ספרות	9-21
2.1	איכות היין	9
2.2	חוש הטעם - Taste, טעם - Flavor וארומה - Aroma של יין	9-10
2.2.1	חומרי טעם בלתי-נדיפים ביין	10-13
2.3	הגורמים המשפיעים על חומרי הארומה הנדיפים בענבים וביין	13-14
2.4	אנליזה כימית מתקדמת של חומרי ארומה ביין	15-16
2.5	מדידת ההשפעה של חומרי ארומה שונים ביין	17
2.6	גידול הגפן ותעשיית היין בישראל	18-19
2.7	הזן קברנה סוביניון	19
2.8	קלונים בענף הגפן	19-20
3	מטרת המחקר	21
4	חומרים ושיטות	22-28
4.1	הכנת היינות	22
4.2	אנליזה בעזרת לשון אלקטרונית Inset Sensor technology מדגם SA402B	23-24
4.3	מעקבי הבשלה ונתוני צימוח	24
4.4	אנליזה של חומרי ארומה ביין ע"י GCMS-HS-SPME	24-25
4.5	אנליזה באמצעות מערכת אף אלקטרונית AIRSENSE ANALYTICS PEN3	26-27
4.6	מבחנים אורגנולפטיים (מבחני טעימה)	28
4.7	אנליזה של צבע ופוליפנולים ביין	28
5	תוצאות	29-44
5.1	תוצאות אנליזת פוליפנולים ופיגמנטים	29
5.2	תוצאות אנליזה באמצעות לשון אלקטרונית – E-Tongue Analysis	30-32
5.3	תוצאות אנליזה באמצעות אף אלקטרוני – E-Nose	33-34
5.4	תוצאות אנליזה של חומרי ארומה בשיטת GCMS-SPME-MS	35-39
5.5	תוצאות השוואת נתונים פנולוגיים בין הקלונים השונים	40-42
5.6	תוצאות מבחני טעימה (אנליזה חושית)	43-44
6	דיון	45-49

45-48	טכניקות האנליזה בניסוי	6.1
48	הבדלים במאפייני היינות בהתפלגות לפי קלונים שונים	6.2
48	הבדלים במאפייני היינות בהתפלגות לפי חלקות כרם	6.3
49	נתונים פנולוגיים ומעקבי הבשלה	6.4
49-50	סיכום	7
50-52	ספרות	8
53	תקציר באנגלית	9

רשימת טבלאות:

עמוד	נושא	מס'
22	מיקום ותוכן של חלקות הקלונים בניסוי	2.1
25	תנאי אינקובציה ודגימה בהרצת GC-MS	3.4.1
25	תנאי הרצת GC-MS	3.4.2
27	פירוט חיישני האף האלקטרוני PEN3 ע"פ קבוצות גילוי עיקריות	3.5.2
27	פרמטרים במערכת ה-EDU בהרצת מערכת אף אלקטרוני	3.5.3
28	פירוט מבחני טעימה במסגרת המחקר	3.6.1
30	ניתוח סטטי ANOVA לממוצעי נתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרוני בהתפלגות ע"פ קלונים שונים מהזן קברנה סוביניון	5.1
32	ניתוח סטטי ANOVA לממוצעי נתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרוני בהתפלגות ע"פ חלקות כרם שונות מהזן קברנה סוביניון	5.2
34	חומרי ארומה מרכזיים אשר אובחנו בכרומטוגרפיה ע"י GCMS מתוך 16 יינות מכרם גבעת ישעיהו – בציר 2015	6
36	ניתוח סטטי ANOVA לממוצעי נתוני אינטגרציה של חומרי ארומה (רמת מובהקות של 95%) ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ חלקות כרם שונות מהזן קברנה סוביניון	6.1
38	מאפייני חומרי ארומה (סף זיהוי ותיאורים) אשר זוהו כבעלי תרומה משמעותית להבדלים בין הקלונים השונים בתחום כרם יחידני – גבעת ישעיהו – בציר 2015	6.2
38	מאפייני חומרי ארומה (סף זיהוי ותיאורים) אשר זוהו כבעלי תרומה משמעותית להבדלים בין הקלונים השונים בתחום כרם יחידני – קשת – בציר 2015	6.3
43	סיכום דירוג העדפה בהתפלגות לארבעת הקלונים לכלל מבחני הטעימה אשר נערכו במסגרת הניסוי	7.1

רשימת איורים:

מס'	נושא	עמוד
1.3.1	צבירת מומסים שונים בתהליך ההבשלה של ענבי היין	15
3.1	מבנה חלקות הניסוי	22
3.2.1	מערכת הלשון האלקטרונית Insent®	23
3.5	מערכת האף האלקטרוני PEN3 בצמוד למערכת הדגימה EDU	26
4.1	ממוצעי תוצאות מבחני Harbertson-Adams לבדיקת אנטוציאן פיגמנטים וטאנינים ביינות קברנה סוביניון – מכרמי קשת - בציר 2014 וזכרם רמות נפתלי מבציר 2013.	29
4.2	ניתוח תוצאות מבחני Methyl-Cellulose precipitation (MCP) לבדיקת טאנינים ביינות הניסוי מכרמי גבעת ישעיהו + קשת בהתפלגות ע"פ ארבעת הקלונים השונים בניסוי.	29
5.1	תרשים Spider Plot לממוצעי נתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרוני בהתפלגות ע"פ חלקות כרם שונות מהזן קברנה סוביניון	30
5.2	ניתוח Discriminant Analysis (DA) לנתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרוני בהתפלגות ע"פ קלונים שונים מהזן קברנה סוביניון לכלל יינות הניסוי	31
5.3	ניתוח Discriminant Analysis (DA) לנתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרוני בהתפלגות ע"פ חלקות כרם שונות מהזן קברנה סוביניון לכלל יינות הניסוי	32
6.1	ניתוח Discriminant Analysis (DA) לנתוני חיישנים ע"פ אנליזת אף אלקטרוני בהתפלגות ע"פ קלונים שונים מהזן קברנה סוביניון מחלקות גבעת ישעיהו + קשת מבציר 2015	33
6.2	ניתוח Discriminant Analysis (DA) לנתוני חיישנים ע"פ אנליזת אף אלקטרוני בהתפלגות ע"פ שתי חלקות כרם – גבעת ישעיהו + קשת מבציר 2015	33
7.1	ניתוח Discriminant Analysis (DA) ל-22 חומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון לכלל יינות הניסוי	35
7.2	ניתוח Discriminant Analysis (DA) ל-22 חומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ חלקות הניסוי השונות מהזן קברנה סוביניון לכלל יינות הניסוי	35
7.3	איור 7.3 – ניתוח Discriminant Analysis (DA) ל-22 חומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון ליינות בכרם קשת – בציר 2015	36
7.4	איור 7.4 – ניתוח Discriminant Analysis (DA) ל-22 חומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון ליינות בכרם גבעת ישעיהו – בציר 2015	37
7.5.1-7.5.2	הבדלים אשר נמצאו מובהקים בחומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון ליינות בכרם גבעת ישעיהו – בציר 2015	37
7.5.3-7.5.4	הבדלים אשר נמצאו מובהקים בחומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון ליינות בכרם קשת – בציר 2015	38
8.1	הבדלים בממוצעי משקל אשכול במועד הבציר בין ארבעת הקלונים בין כלל חלקות הניסוי	39
8.2	הבדלים בממוצעי מספר אשכולות לגפן במועד הבציר בין ארבעת הקלונים בין כלל חלקות הניסוי	39

40	נתוני מעקבי הבשלה (צבירת סוכר) בין הקלונים השונים בכרם קשת, בציר 2014	8.3
40	ממוצעי משקל אשכול במועד הבציר בחלקות הניסוי השונות	8.4
41	ממוצעי מספר אשכולות לגפן במועד הבציר בחלקות הניסוי השונות	8.5
42	תוצאות מבחן טעימה לציון איכות כללי בהתפלגות ע"פ קלונים ביינות מכרמי קשת וגבעת ישעיהו – 2015.	9.1
42	תוצאות מבחן טעימה בהתפלגות ע"פ קלונים ביינות מכרם קשת – בציר 2014. ביצוע ע"י קבוצת חובבי יין – פורום הבוסתן	9.2
43	תוצאות מבחן טעימה בהתפלגות ע"פ קלונים ביינות מכרם רמות נפתלי – בציר 2013. ביצוע ע"י מרצים וסטודנטים ליין – מכללת אוהלו בקצרין	9.3

תקציר:

זן הענבים הוא בין הגורמים העיקריים המשפיעים על טעם היין, העדפת הצרכנים ועל יכולת השיווק שלו עובדה זאת מקשה על החדרת זנים חדשים במקומות רבים בעולם וגם בישראל. גורמים אלו הביאו את הכורמים והייננים לחפש טיפוסים של זנים (קלונים) כאלה שיהיו בעלי תכונות מעט שונות. קלונים שונים מאותו זן נבדלים זה מזה בכמות היבול, במאפייני ההבשלה, עמידות למחלות ותנאי סביבה, וכן באיכות היין המתקבלת.

עם הבאת קלונים חדשים לישראל בשנת 2009 ניטעו חלקות ניסוי להשוואה של הקלונים שהובאו באותה שנה במספר אזורי הגידול שונים בארץ. עבודה זו התמקדה בארבעה קלונים של הזן קברנה סוביניון במטרה לאפיין את תכונותיהם בהיבט החקלאי והיינני והתאמתם לאזורי הגידול השונים בארץ על מנת ליצור התאמה לדרישות יבול ואיכות שונות ולאפשר בחירה מושכלת של הכורמים והייננים בנטיעות עתידיות.

כחלק ממהלך המחקר הוכנו יינות מהזן קברנה סוביניון אשר נבצרו בכרמי רמות נפתלי (2013), קשת (2014 ו-2015) וגבעת ישעיהו (2015) בשיטה של המיקרו-ויניפיקציה ביקב הניסיוני של יקבי רמת הגולן, זאת על מנת לבחון את איכות היין המתקבלת מהקלונים השונים.

חלקות הניסוי, ניטעו במבנה של 5 שורות המכילות כל אחת 4 חזרות אקראיות של 10 גפנים מכל קלון (20 חזרות בכל חלקת כרם). כל החלקות מטופלות באופן אגרנטני זהה (זמירה, דילולים וריסוס) ונבצרות באופן פרטני ע"פ רמת הסוכר בענבים על מנת ליצור אחידות בהבשלה.

במהלך המחקר נערכה בחינה מקיפה של איכות היין המתקבל מארבעה קלונים שונים של הזן קברנה סוביניון באמצעות כלי אנליזה חושית ואנליזות כימיות מתקדמות הכוללות: ניתוח חומרי ארומה בשיטת HS-SPME-GC MS ואף אלקטרוני, בדיקות טעם באמצעות לשון אלקטרונית ואנליזת חומרים פוליפנולים וטאנינים על מנת לאבחן שונות איכותית אשר תרחיב את הידע הנצבר להתאמתם לדרישות איכות בתעשיית היין בישראל.

תוצאות העבודה מראות כי במבחני טעימה נמצאת העדפה מסוימת לקלונים רמות נפתלי ו- 338. בבדיקות לשון אלקטרונית, לא נמצאו הבדלים מובהקים בין הקלונים במסגרת חלקת כרם יחידנית בשנת בציר נתונה, אך עם זאת נצפו הבדלים משמעותיים בין אזורי הגידול השונים. ניתוח חומרי ארומה בשיטת HS-SPME-GC MS וכן יצירת "טביעת אצבע ארומטית" באמצעות אף אלקטרוני מראה כי קיימים הבדלים פרטניים ברמת חומרי ארומה בין הקלונים השונים בתוך תחום חלקה בודדת, אך עם זאת ישנם הבדלים מובהקים בין חלקות כרם ושנות בציר שונות. בשלב זה, נראה כי השוני הנצפה בין הקלונים הינו קטן מההבדלים באיכות היין הנובעים מהמיקום הגיאוגרפי של הכרמים ושנות הבציר השונות. בהמשך המחקר יוכנו יינות מקלונים שונים של זנים נוספים (מרלו, סוביניון בלאן, שרדונה) ויבוצעו בדיקות נוספות בכלים הקיימים לאבחון ההבדלים בין הטיפוסים השונים של זנים אילו בישראל.

1. מבוא:

יין הינו מוצר צריכה המכיל תערובת מורכבת מאוד של חומרים כימיים שונים אשר מגדירים את מראהו החיצוני, טעמו, הארומה שלו ואת תחושות חלל הפה. החומרים האחראים למאפיינים אילו, נובעים משלושה מקורות עיקריים: ענבי היין המהווים את הבסיס להכנתו, שמרים וחיידיקים המשמשים בתהליך ומוספים ממקור חיצוני או קיימים באופן טבעי על גבי הענבים והציוד ביקב וכן חומרים הנובעים מעץ (לרוב עץ אלון) עמו בא במקרים מסוימים היין במגע בתהליך היצור במסגרת שימוש בחביות עץ ותחליפי חבית שונים. לענבי היין חשיבות מכרעת באיכותו של היין, כאשר מגוון החומרים אשר מקורם בענבים, בהם חומרי טעם וארומה, סוכרים, חומצות ופוליפנולים מעניקים לו את המבנה הבסיסי ואת המאפיינים הזניים וכן תורמים למאפיינים החושיים ותחושות חלל הפה. (Swiegers, 2005) כיום מרבית היינות בעולם מיוצרים מהגפן האירופאית *vinifera*, כאשר ממין זה קיימים למעלה מ- 1300 זנים המשמשים לייצור של יין מסחרי (Robinson, 2013), כאשר בפועל כיום, בעיקר כתוצאה מתהליכי מסחור וגלובליזציה של חברות היין וכן מיתוג ושיווק המאפיינים את שוק היין המודרני מרבית היינות הנמכרים משתייכים לקבוצה מצומצמת יחסית של זנים מוכרים כגון: קברנה סוביניון, מרלו, סירה, שרדונה, וסוביניון בלאן. (This, 2006) כתוצאה מתהליכים אלו, וכן תקנות מחמירות לייצור היין בחלק ממדינות אירופה אשר מגבילות את זני הענבים אותם ניתן לגדל בכל אזור, נוצר הצורך של כורמים וייננים ברחבי העולם באיתור ובידוד של טיפוסים (קלונים) אשר מבטאים שוני ביבול, איכות היין ובמבנה האשכול. למורכבותו של תהליך הסלקציה של טיפוסים הזן מתווספת העובדה כי קיים שוני משמעותי במאפייני הצימוח הווגטיבי, מספר האשכולות, גודל הגרגר וקצב צבירת הסוכר הנובע מתנאי ואזור הגידול בו נטוע הכרם, עובדה אשר מחדדת את הצורך להתאמתם של הטיפוסים השונים לסביבת גידול ספציפית. (Benz, 2006)

2. סקר ספרות:

2.1 - איכות היין:

מונח סובייקטיבי ובעל פרשנויות רבות המעסיק את יצרני היין והצרכנים באופן תמידי, ותלוי לעיתים בהקשר בו נעשה השימוש במונח. האיכות החושית הנתפסת מוגדרת לרוב בתור " ההשתקפות של ההרכב הכימי של היין בזמן הצריכה" וכתוצאה מהבדלים תרבותיים וגנטיים טבעיים באוכלוסיה קיימת שונות גדולה ביכולת לזהות חומרי טעם וארומה שונים ולכן במקרים רבים ישנו שוני גדול בין פרטים בתפיסת האיכות. (Lawless, 2010)

הידע המצטבר וההבנה של המרכיבים הכימיים השונים אשר משפיעים על הטעם והארומה המובילים לאיכותו של היין, מסייעת לבקרה ושליטה על היבטים בגידול הענבים וכן תהליכי יצור ובקרה בתעשיית היין. על מנת להבין ולפרש כראוי את אותם החומרים הכימיים בין אשר מקנים לו את התכונות החושיות הרצויות יש לבצע שילוב מושכל של המידע המתקבל מכלים של אנליזה כימית ואנליזה חושית תוך הבנת המגבלות והקשיים ביישום של שתי השיטות. (Francis & Newton, 2005)

2.2 - חוש הטעם - Taste, טעם - Flavor וארומה - Aroma של יין:

חוש הטעם הבסיסי - Taste, כולל את התכונות: מתיקות, מליחות, חמיצות, מרירות ואומאמי, תכונות אילו נובעות מגירוי רצפטורים ספציפיים הנמצאים על גבי הלשון, על ידי מגוון של חומרים בלתי נדיפים במזון אשר ברובם דורשים ריכוז גבוה יחסית על מנת שישפיעו על הטעם והתחושה בזמן צריכת מזון. רובם בעלי ערכי סף גבוהים (0.01 ועד 10 גרם לליטר) וכתוצאה ממחקרים רבים אשר נערכו בנושא, כימות ואפיון של מרביתם מתבצע באופן שגרתי. עם זאת, קיימות עדויות חזקות כי חומרים אילו, כאשר הם נוכחים בתערובות עלולים להשפיע על תפיסת הטעם גם בערכים הנמוכים מערכי הסף שלהם, ואילו בריכוזים גבוהים חלקם יסתירו או יפחיתו את יכולת האבחנה בחומרים אחרים.

המונח טעם - Flavor, הינו מורכב ביותר, ומתייחס לרוב למגוון רחב מאוד של גירויים המיוחסים לשילוב בין ריח, טעם ומגע ומיוחסים למגוון רחב מאוד של חומרים נדיפים / בלתי נדיפים במזון וכן לאינטראקציות שונות בניהם.

הארומה - Aroma, הוא מונח המתייחס לתגובת המערכת החושית למולקולות נדיפות אשר נקלטות ברקמת האף ומעבירות אותות עצביים לפקעית ההרחה ומשם למוח. מערכת זו הינה מורכבת במיוחד, ומערבת מרכיבים של תפיסה חושית, זיכרון ורגש. גירוי חושי זה מתרחש כתוצאה משאיפה ישירה של חומרים נדיפים דרך האף (הרחה של היין) או על ידי קליטה אחורית של מולקולות נדיפות מחלל הפה בזמן הטעימה. טבעו המורכב של חוש הריח נובע ממספר גורמים: המערכת הפיזיולוגית אשר ע"פ המידע הקיים כיום מסוגלת לזהות עשרות אלפי מולקולות נדיפות שונות, מעורבות של גורמי זיכרון ורגש, וכן, הבדלים גנטיים גדולים באוכלוסיה המובילים לרגישות שונה לחומרי ארומה שונים.

בין, אשר מכיל מעל ל-800 חומרי ארומה מזהים, מתרחשות אינטראקציות בין חומרים אילו, לבין חומרים בלתי נדיפים, כמו כן, ישנן השפעות של חסימה / מודיפיקציה בין חומרי ארומה בריכוזים גבוהים, וכן עדויות

לתרומתם של חומרים אשר נמצאים מתחת לערכי הסף שלהם על ידי תופעות של "הגברה". (Firestein, 2001. Francis & Newton, 2005. Paniguel, 2014)

2.2.1 - חומרי טעם בלתי-נדיפים ביינ:

החומרים הבלתי נדיפים ביינ אשר אחראים על טעמים בסיסיים (חמיצות, מתיקות, מרירות ומליחות), וכן חומרים אשר אחראים על תחושות חלל הפה בזמן צריכת יין (צמיגות, עפיצות, דגדוג) משתייכים למספר קבוצות כימיות מוגדרות היטב, כאשר העיקריות שבהן: חומצות אורגאניות, סוכרים ופוליסכרידים שונים, פוליפנולים שונים, גזים מומסים וחלבונים.

חומצות בענבים וביין:

לחומצות החופשיות בענבים, תפקיד משמעותי בקביעת תכונת החמיצות של היין, ליין באופן טיפוסי ערכי pH אשר נעים בתחום אשר בין 3.1 ל- 3.6 כאשר עיקר החומצות המשפיעות הינן טרטריט ומאלית וכן קיימים ריכוזים נמוכים של החומצות: ציטרית, גלוטרית, פומרית, סוקסינית וקפטריט. חומצות נוספות כגון חומצות אמיניות וחומצות שומן משפיעות על טעמו של היין מאחר והן מהוות חומרי מוצא (פרקורסורים) למגוון של חומרי ארומה, אך הן זניחות בהקשר של החומציות הכללית הנמדדת בטכניקות של טיטרציה.

בתהליך הויניפיקציה, בעיקר עקב פעילות מיקרוביאלית נוספות חומצות שונות כגון חומצה אצטית, בוטירית וחומצה לקטית (נוצרת מהמרה מיקרוביאלית של חומצה מאלית) אשר במקרים מסוימים אינן רצויות ומעל לריכוז מסוים מהוות פגם, כמו כן, מתבצעות תוספות "טכניות" של חומצות שונות ע"י היקב על מנת לשנות במידת הנדרש את אופיו הכימי של היין, לרוב חומצה טרטריט, ציטרית או אסקורבית. (Boulton, 2013. Iland, 2004)

לחומצות השונות ביינ, חשיבות בהיותן אחד הגורמים הקובעים "איזון", כאשר יין בעל ריכוזי חומצה גבוהים מדי ייתפס בתור "חמוץ" או מימי, ואילו יין ללא חומצה יוגדר כ"שטוח" או שמנוני. בנוסף על השפעתה הישירה של החומציות על טעמו של היין, משפיעה החמיצות על תפיסתם של טעמים אחרים ביינ, לדוגמא: נוכחות החומצה מסתירה את טעמי המתיקות, אך תגביר את תפיסת העפיצות בזמן טעימת היין. בנוסף, לחומצות השפעה על צבעו הנראה של היין על ידי יוניציה של מולקולות אנטוציאן וכן השלכות על יכולת ההתיישנות של יין והופעתם של פגמים שונים. (Jackson, 2009). אנליזה של חומצות בענבים וביין מתבצעת באופן שוטף בכרם וביקב בטכניקות פשוטות של מדידת pH וחומצה כללית (TA- Titratable Acidity) על מנת לנטר תהליכי הבשלה בכרם ולבחון את תקינות היין. בנוסף מבוצעות מדידות באמצעות כרומוטוגרפיה / אנזימטיות של חומצה מאלית וכן זיקוק ומדידה של ריכוזי חומצה נדיפה (Volatile Acidity) ביינ למטרות של בקרה תהליכית (Iland, 2004).

סוכרים:

מבין כלל המוצקים המסיסים בענבים, מהווים סוכרים ללא ספק את הקבוצה המשמעותית ביותר בתהליך הייצור של היין. בענבי היין, תערובת רצמית של גלוקוז + פרוקטוז מהווה את עיקר הסוכרים, כאשר בנוסף, נמצאים גם ריכוזים נמוכים מאוד של סוכרים אחרים כגון: סוכרוז, מלטוז, מאנוז, גלקטוז ועוד.

בתהליך ההבשלה של הענבים, משלב הבוחל ועד לבציר מתרחשת בענבים הצטברות מהירה של סוכרים (איור 1.3.1) אשר מהווה את המדד המרכזי להבשלת הפרי, מאחר ואותם הסוכרים, מהווים את הבסיס לתהליך התסיסה האלכוהולית לריכוזם השפעה מכרעת על איכות היין ואופיו.

בתהליך התסיסה של היין, הופכים הסוכרים לאתנול, כאשר סגנון היין (יבש, חצי יבש, מתוק) יוכתב על ידי תקנים שונים הקובעים את ריכוז הסוכר השארתי אשר המשפיע על מידת המתקות של היין בטעימה. אנליזה של סוכרים מחזרים (גלוקוז + פרוקטוז) מתבצעת במהלך שלבי הייצור השונים במספר טכניקות: א. בענבים - מדידת בריקס (Brix) בטכניקות של רפרקטומטריה / הידרומטריה לקביעת רמת ההבשלה ומועד הבציר.

ב. במהלך התסיסה - לרוב מבוצעות בדיקות צפיפות יחסית בשיטות הידרומטריות על מנת לנטר את התקדמות התסיסה על ידי השפעות קצב ירידת ריכוז הסוכר במקביל לעלייה בריכוז אתנול.

ג. בין לאחר התסיסה - מתבצעות בדיקות שונות לקביעת שארית הסוכרים המחזרים, לרוב בטכניקות המבוססות על ריאקציות אנזימטיות או באנליזה כימית המבוססת על חיזור של נחושת.

בנוסף על השפעתם הישירה של הסוכרים על טעמו של היין, לקצב ההבשלה ולמועד הבציר משמעות נרחבות נוספות מאחר וגורמים אילו קובעים את הלוגיסטיקה ביקב במהלך הבציר (יכולת קליטה, ניצול מיכלים ואחסון וכו) וכן ישפיעו על חשיפת הענבים בכרם למחלות ומזיקים.

(Boulton, 2013. Iland, 2004)

כהלים:

הכהלים השונים נעדרים באופן כמעט מוחלט בענבים ובתירוש, ונוצרים במהלך תהליכי היוניפיקציה השונים כמטבוליטים של שמרים וחיידקים.

בתהליך התסיסה של היין, מהווה האתנול את החומר המשמעותי ביותר מבחינת השפעתו על המאפיינים החושיים, ריכוזו ביינות יבשים נע בין 8 ל-16% בנפח בהתאם למידת ההבשלה (ריכוז הסוכר) בו נבצרו הענבים, כאשר נוסחת ההמרה המקובלת בתסיסה האלכוהולית קובעת כי כל 16.8 גרם / ליטר של סוכר יהפכו לאחר התסיסה ל-1% כהל בנפח.

לאתנול השפעה ישירה ניכרת על תפיסה חושית המתאפיינת בצמיגות, "גוף" ו-"חום" של היין וכן השפעות עקיפות על תפיסה של עפיצות, מרירות ומתיקות, כמו כן, משנה האתנול את מידת נדיפותם וכן את המאפיינים הנתפסים של חומרי ארומה שונים ובכך משפיע על הארומה של היין.

בזמן התסיסה, נוצר על ידי השמרים גם גליצרול בריכוז הנע סביב 10-15 גרם לליטר, ולמרות שנמצא בפני עצמו מתחת לריכוז הסף, קיימת הסכמה על תרומה מסוימת שלו לתחושת הצמיגות והמתיקות של יין.

כהלים שניוניים: Fusel / High alcohols נוצרים גם הם על ידי שמרים וחיידקים כחלק מתהליך של מטבוליזם של חומצות אמיניות שונות, והם מהווים מבחינה כמותית את אחד מחומרי הארומה המשמעותיים ביותר ביין. (Boulton, 2013. Iland, 2004. Ugliano, 2009)

פוליפנולים:

חומרים פנוליים בין הינם גורמי איכות משמעותיים אשר תורמים לצבעו, טעמו והתחושות של היין. חומרים אלו אחראים על תכונת ה"עפיצות" (Astringency) בין אשר נגרמת ככל הנראה לקישור שלהם לחלבוני הרוק אשר אחראים לסיכוך של חלל הפה.

חלק קטן מחומרים אילו נובע משימוש בעץ אלון בתהליך הייצור וכן ממקורות מיקרוביאליים אך מקורם של מרביתם הינו ממיצוי בתהליך הויניפיקציה מקליפות וגרעינים של ענבי היין עצמם.

כתוצאה מהמגוון העצום הכולל אלפי חומרים פנוליים שונים ואינסוף אינטראקציות בינם לבין עצמם וכן שילובים עם מומסים נוספים ביין, מהווים פוליפנולים בין אתגר מדעי מתמשך אשר מהווה בסיס למאות מחקרים מדעיים. בין התכונות המיוחסות לחומרים אילו, מספר אינדיקציות לתועלת בריאותית לאדם הכוללת צמצום סיכונים לטרשת עורקים ומחלות לב, פעילות אנטי-קריצינוגנית ואנטי-דלקתית, תכונות אשר מגבירות באופן ניכר את העניין המדעי בהם. בשל תפקודם כנוגדי חמצון, לחומרים הפנוליים השונים ביין תרומה ניכרת גם ליכולת ההתיישנות של היין.

החומרים הפנוליים ביין, מתחלקים ל-3 קבוצות עיקריות: חומצות פנוליות, אנטוציאן, וטאנינים (פרואנטוציאנידין / טאנינים "דחוסים"), כאשר ביינות אדומים, הקבוצות המרכזיות המשפיעות על איכות היין הינן טאנינים ואנטוציאן.

תרומתם של הטאנינים ליין הינה בעיקר לתחושות של "גוף" ועפיצות, ואילו מולקולות האנטוציאן תורמות בעיקר לצבעם האדום של יינות צעירים, במהלך התיישנות היין נוצרים פיגמנטים פולימריים שונים אשר מקורם בשילוב בין הקבוצות השונות יחד עם קו-פקטורים מקבוצות כימיות שונות, פיגמנטים אילו הנם האחראים העיקריים על יציבות הצבע של יין אדום לאורך זמן כאשר מחקרים רבים מראים, כי במהלך התיישנותו של היין ישנה העלמות כמעט מוחלטת של אנטוציאנינים מונומריים המתרחשת במקביל לעליה ברמת הפיגמנטים הפולימריים המורכבים (Boulton, 2010).

בשלבי ההבשלה הראשונים של הענבים ככל הנראה כחלק ממנגנון הגנה מובנה של הצמח, מתרחשת הצטברות של טאנינים בגרעינים ובקליפות הענבים, כאשר החל משלב הבוחל נוצרים אנטוציאנינים בקליפת הענב (איור 1.3.1), מחקרים רבים עסקו בקשר שבין תנאי סביבה וטיפולים אגרוטכניים שונים בכרם לבין ריכוז פוליפנולים בענבים וקיימות עדויות מבוססות כי ישנם הבדלים ניכרים הנובעים מהשפעתם של גורמים אילו.

לאחר בציר הענבים, ההרכב הפנולי של היין תלוי בעיקרו בתהליכי העיבוד במהלך ייצור היין ביקב, מאחר ומרבית החומרים הפנוליים נמצאים בחלקי הענב המוצקים (גרעינים + קליפות), לתהליכי ההשריה והתסיסה חשיבות מכרעת בריכוזם הסופי ביין.

בשל מיקומם של החומרים הפנוליים בתוך וקואולות שונות ברקמה הצמחית, המעבר שלהם ליין מתבצע בתהליכי דיפוזיה אשר תלויים בגורמים של ריכוז, טמפרטורה, מפל הריכוזים, חדירות התאים, שטח הפנים, הרכבו של המדיום הנוזלי, וזמן ההשריה, כאשר בתהליך ייצור שגרת של יין הגורמים המרכזיים המשפיעים הינם זמן וטמפרטורה. (Harbertson, 2003. Kennedy, 2008).

בשל אופיים הכימי המורכב של החומרים הפנוליים והאינטראקציות הרבות בניהם ביין ישנו קושי מסוים בכימות ואפיון מדויק שלהם ביין, כאשר במרבית היקבים, עקב עלויות ציוד ותפעול יחסית גבוהות לא מתבצעות אנליזות של חומרים אלו למרות חשיבותם הרבה לאיכות היין. במקרים המעטים בהם מבוצעת אנליזה כימית לחומרים אלו, היא מבוססת על מדידות ספקטרוטומטריות איכותיות המבוססות על מדידת "יחידות בליעה" באורכי גל שונים (לרוב A420+A520) אשר נותנות מדד לעומק צבע וכן מדידה איכותית של כלל הפנולים המבוססת על בליעה באורך גל של 280nm (Iland, 2004).

במשך השנים פותחו שיטות אנליזה מגוונות המבוססות על השקעה של טאנינים באמצעות קישור לחלבונים ופולימרים שונים וכן על בסיס התנהגות שונה של אנטוציאנינים, טאנינים ופיגמנטים פולימריים בתנאי pH שונים ועמידותם לתופעות של "הלבנה" (Bleaching) על ידי גופרית דו חמצנית. (Boulton, 2013. Harbertson, 2008. Iland, 2004. Kennedy, 2008.)

טכניקות מורכבות לביצוע אנליזה וכימות של חומרים פוליפנוליים ביין מבוססות לרוב על הפרדה כרומטוגרפית באמצעות HPLC וכימות למול עקומות כיוול של חומרי סטנדרט נקיים (Gomez, 2002) אולם גם בשיטות אילו קיימות מגבלות הנובעות מהמגוון הכימי הנרחב של חומרים אלו, כמו כן, עקב עלויות המכשור ומורכבות הבדיקות הללו, הן אינן מיושמות בתעשייה ומשמשות למטרות מחקר מדעי בלבד.

2.3 - הגורמים המשפיעים על חומרי הארומה הנדיפים בענבים וביין:

לחומרי הארומה ביין מספר מקורות שונים, ולמרות שחלקם נוצרים על ידי שמרים וחיידקים בתהליכי התסיסה או נובעים ממגע עם עץ, חלק ניכר מהחומרים הנדיפים קיימים כבר בענבים עצמם או כחומרי מוצא לא נדיפים (לרוב בקישור לגלוקוז או לחומצה האמינית ציסטאין) אשר משוחררים בתהליך הויניפיקציה על ידי ריאקציות אנזימטיות וכימיות שונות.

מגוון החומרים הנדיפים אשר קיימים בענבי היין אחראים על תופעת הארומה הייחודית המאפיינת כל זן ענבים (Varietal Aroma), מושג זה אינו מעיד על קיומם של חומרים ספציפיים ייחודיים לכל זן, אלא על שילוב ייחודי של חומרים בריכוזים שונים אשר יוצר "טביעת אצבע" ארומטית ייחודית. עיקר הצבירה של חומרי טעם וארומה בענבים מתרחש במהלך תהליך ההבשלה זוהי תקופה פיזיולוגית חשובה אשר מתחילה בשלב הבוחל (Veraison) ונמשכת בממוצע כ- 40 ימים עד לבציר. משכו של פרק זמן זה, המהווה גורם קריטי באיכותו של היין, משתנה כתלות בזן הענבים, תנאי הסביבה וכן פעולות אגרוטכניות שונות המבוצעות בכרם.

במסגרת תקופה זו מתרחשים תהליכים פיזיולוגיים וכימיים משמעותיים אשר גורמים לשינוי גדול בהרכבם הכימי של הענבים כאשר לרוב, השינויים הנמדדים באופן רציף ע"י המגדלים והיקבים הינם קצב צבירת הסוכרים (גלוקוז + פרוקטוז) וכן הירידה ברמת החומציות, מדדים אילו הם יחסית נוחים למדידה בכלים פשוטים, ונמצאים בקורלציה מסוימת עם תהליכי ההתפתחות של חומרי הטעם והארומה, יחד עם זאת, קיימת הסכמה כללית כי נתונים אילו אינם בהכרח מעידים באופן גורף על איכות היין הצפויה, מאחר ורבים

מתהליכי הצבירה והמודיפיקציה של חומרי הטעם והארומה הרצויים מתרחשים בפרק זמן קצר יחסית בסיומה של תקופת ההבשלה, בשלב בו קיימת האטה בצבירת הסוכר ובקצב המשתנה כתלות בזן הענבים, גורמי סביבה, וטיפולים אגרוטכניים שונים.

בזני הענבים האדומים מתאפיינת צבירת חומרי הארומה בנוכחות גבוהה יחסית של אסטרס (Esters) בתחילת תקופת ההבשלה, ריבוי יחסי של אלדהידים בתקופת הביניים, ואלכוהולים שונים בשלבי ההבשלה המאוחרים. צבירה זו של אלכוהולים, המתרחשת בשרשרת של פעילות אנזימאטית, הינה רצויה בהיבט הייני, זאת מאחר וחומרים אלו משמשים בתהליך הויניפיקציה כמוצא לחומרים נדיפים בעלי מאפיינים חיוביים המתוארים לרוב כפירותיים או פרחוניים.

(Gonzalez, 2015. Kennedy, 2002)

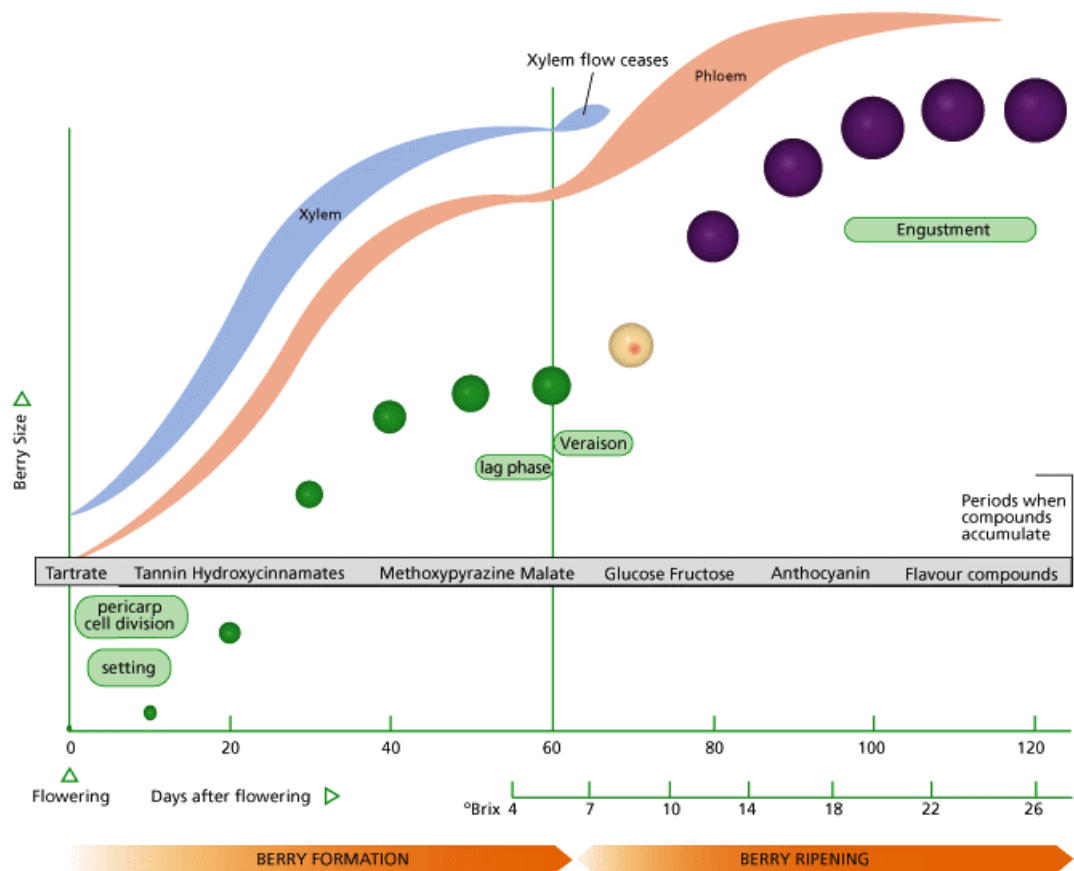
במחקרים רבים קיימת הסכמה כי לאתר הגידול עצמו, חשיבות ניכרת באופיים וריכוזם של חומרים נדיפים בענבים וביין המתקבל, נראה כי הגורם המוביל לכך הינם גורמי סביבה אשר יוצרים "עקה" מסוימת על הגפן אשר מובילה לריסון בצימוח הווגטיבי.

בין מגוון הגורמים הסביבתיים באתר הגידול, ניכר כי הגורם המשפיע ביותר הינו המבנה הפיזיקלי והרכב הקרקע עצמה המשפיעים על זמינות של מים וחומרי הזנה לגפן באופן אשר קובע את האיזון שבין הצימוח הווגטיבי לבין הפנייה של תוצרי הפוטוסינתזה אל הפרי עצמו.

בין שלל הגורמים הסביבתיים אשר משפיעים על איכותו של היין נמצאים גם אופן העיצוב (הדלייה) של הגפנים, תנאי האקלים ומזג האוויר באתר הגידול, מידת חשיפת הענבים לקרינה, משטר ההשקיה וכן תנאים המשפיעים על הופעתם של מזיקים ומחלות שונים.

הכרה בגורמים אילו בקרב חלק ממדינות אירופה, הובילה ליצירה של דירוגי איכות שונים המבוססים על אתר הגידול וליצירת המונח הנפוץ "טרואר" (Terroir) אשר יוצר הגדרה כוללת למגוון הגורמים אשר משפיעים על איכותו של היין, בניהם: תנאי הקרקע והאקלים השונים וכן הגורם האנושי והידע הקולקטיבי המאפיינים אזור גידול מסוים. (<http://www.oiv.int/public/medias/379/viti-2010-1-en.pdf>)

איור 1.3.1 - צבירת מומסים שונים בתהליך ההבשלה של ענבי היין:



(Kennedy, 2002A)

2.4 - אנליזה כימית מתקדמת של חומרי ארומה ביין:

במשך שלושת העשורים האחרונים, חלה התפתחות משמעותי בטכניקות הקיימות לאנליזה כימית אשר כללה פיתוח של טכניקות המכונות: TAS - Total Analysis Systems, שיטות אילו נותנות מענה אשר מאחד תחת מערכת אוטומאטית אחת את הכנת הדוגמא עצמה ואת האנליזה שלה. טכניקות אילו מאפשרות אנליזה מלאה על ידי מערכת אוטונומית היוצרת חיסכון בזמן וכוח אדם, ולרוב מבטלות או מצמצמות באופן ניכר את השימוש במיצוי על ידי מומסים (סולבנטים) שונים אשר יצרו בעיות של בטיחות ופסולת רעילה. בין האפליקציות השונות לטכניקות אילו דווחו במחקרים שונים שימושים כגון: ניתוח ריחות של פרחים ופירות, זיהוי חומרי לוחמה כימית שונים, איתור זיהומים בתעשיית התרופות וזיהוי של שאריות חומרי הדברה במוצרי מזון שונים.

בין שיטות האנליזה החדשות:

א. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) :

טכניקת ה-SBSE אשר פותחה בשנת 1999, מבוססת על ספיחה של מומסים מהפאזה הנוזלית על ידי מגנט ערבול המצופה בחומר סופח (לרוב PDMS). המוט מוכנס לתוך הדוגמא וסופח אליו את הדגימה תוך כדי ערבוב.

בשלב השני מבוצע שחרור של החומרים אשר נדגמו, לרוב באופן תרמי והעברתם באמצעות פאזה גזית לאנליזה על GC-MS או על ידי פאזה נוזלית לאנליזה ע"י HPLC.

ב. Head-Space Sorptive Extraction (HSSE):

טכניקה המבוססת על עקרון דומה ומשמשת לדגימה של הפאזה הגזית (אזור האדים) מעל לנוזל. לשיטות אילו מגבלות מסוימות בשימושים באנליזת יין, זאת מאחר וקיים רק ציפוי מסחרי אחד - PDMS, אשר מגביל את האפליקציה לאנליזה של חומרים מסוימים.

ג. Solid Phase Micro-Extraction (SPME):

טכניקה של מיצוי דגימות אשר פותחה בשנות ה-90 המאוחרות ומביאה יכולות ייחודיות לאנליזות כרומטוגרפיות של תמיסות חלשות בעלות מבנה מורכב. השיטה מבוססת על צינורית דקה או סיב המצופים בחומר פולימרי סופח או שילוב של מספר חומרים כגון: Polydimethylsiloxane, Polyacrylate, Carboxen, Polyethylene glycol ועוד, בחירת הסיב מבוצעת בהתאם לאופי החומרים הנבדקים, בראשם מידת הפולאריות שלהם.

בטכניקה זו מתבצעת בשלב הראשון ספיחה של מומסים / חומרים נדיפים מהדגימה הנבדקת ולאחר מכן שחרור (לרוב תרמי) של הדגימה לאנליזה ע"י GC או על ידי פאזה נוזלית להפרדה ע"י LC. לשיטות דגימה אילו, יתרונות רבים, כאשר העיקרית שבהן הינה היכולת להפריד דוגמאות מתערובות בעלות מבנה מורכב אשר עלול לפגוע באיכות ההפרדה הכרומטוגרפית וכן הפשטות וקלות השימוש היחסית אשר מאפשרות אוטומציה עבור מגוון רחב של יישומים וסוגיית הפחתת השימוש בממסים רעילים. אל מול היתרונות הרבים של טכניקות אילו, לשיטה ישנם מספר חסרונות, כאשר הבולטים שבהם הינם: הגבלה של מספר החומרים הנקלטים כתוצאה מהשימוש בפולימרים ספציפיים, תופעות של "התעייפות" החומר הסופח במשך בדיקות מרובות וכן מגבלה באנליזות של חומרים בעלי רגישות תרמית במקרים בהם מתבצע השחרור באמצעות חימום.

(Bicchi, 2009. Hinshaw, 2003. Laaks, 2012)

מראשית תחילת השימוש באנליזות מסוג HS-SPME, בוצעו בהצלחה מחקרים רבים לניתוח של קבוצות חומרי ארומה שונות ביין תוך שימוש בפולימרים שונים וכן בתנאי אינקובציה והרצה המשתנים בהתאם לאופיים של החומרים הנבדקים (Panighel & Flamini, 2014), מגבלה עיקרית בשימוש בטכניקה זו לאנליזת יין הינה "אפקט המטריקס" (Matrix effect) הנובע מהאינטראקציות האפשריות בין עשרות אלפי חומרים כימיים שונים בדגימות יין, מספר ניסיונות בוצעו על מנת להתגבר על מגבלה זו באמצעות שיטות כגון Stable Isotope Dilution Analysis - SIDA וכן על ידי ביצוע מספר חזרות של מיצוי מאותה הדגימה

וניתוח התוצאה לפי יצירת סכום של כל השטחים המתקבלים, זאת במטרה להגיע למיצוי מלא של החומרים הרצויים מהיין הנבדק.
(Gonzalez, 2011).

2.5 - מדידת ההשפעה של חומרי ארומה שונים ביין:

במחקרים בתעשיית המזון המדד המקובל לקביעת השפעתם של מרכיבי טעם וארומה שונים הינו השימוש בסוגים שונים של ערכי סף, ערכים אילו מייצגים את הריכוז הנמוך ביותר בו מסוגל אדם בעל חושים תקינים לזהות את החומר הכימי, השפעתו או את השינוי בריכוזו בדוגמא. בהקשר לחומרי ארומה שונים ביין, ההתייחסות הינה לרוב לערכו של סף ההכרה - Recognition Threshold שזהו הריכוז הנמוך ביותר בו יזוהו המאפיינים הספציפיים של חומר נתון, אם כי במקרים ספציפיים, בדגש על פגמים שונים, נבדק ערכו של סף הגילוי (Detection Threshold) - הריכוז הנמוך ביותר בו ניתן להבחין בשינוי כלשהו (Lawless, 2010). שימוש בערכים אילו מבוצע על מנת לאפיין את חשיבותו היחסית של חומר מסוים לאחר שריכוזו נמדד בכלים אנליטיים, בערכים הקיימים בספרות קיימים הבדלים ניכרים הנובעים משימוש בשיטות אנליזה וניתוחים סטטיסטיים שונים לקביעתם וכן מעצם החומר הנושא בו התבצעה הבדיקה (אוויר / מים / אתנול / יין וכולי), כאשר במקרים רבים, גם במדיום הספציפי של יין, ערכי הסף שונים באופן ניכר (לעיתים בסדרי גודל של פי-10) בינות מסוגים או סגנונות שונים. (Francis & Newton, 2005)

בשנים האחרונות, התפתחות משמעותית של כלים אנליטיים שונים מאפשרת את הזיהוי והכימות של חומרי ארומה רבים, גם כאילו הנמצאים במינונים נמוכים במיוחד (לעיתים עד ננוגרמים בודדים לליטר) המשפיעים על איכותו של היין, אולם אינטראקציות רבות המתקיימות בין אלפי החומרים הנדיפים וכן בינם לבין חומרים בלתי-נדיפים (אפקט המטריקס) הקיימים ביין, בשילוב עם מורכבותו הפיזיולוגית של מנגנון הטעם האנושי מעוררים צורך בהמשך פיתוח שיטות אנליטיות אשר יבהירו את התפיסה החושית הנובעת מצריכת יין.
(Gonzalez, 2011)

למרות ההתקדמות המשמעותית ביכולת האנליטית לאבחן את מרכיבי היין השונים התורמים לאיכותו, קיימים פערים ביצירה של קורלציה בין הנתונים הכימיים לבין איכות היין החושית הנתפסת בעיני הצרכנים ומומחים. לאורך שנים רבות, המידע ממחקרים מדעיים היה ברובו "מקוטע" בכך שהתמקד בטכניקה אנליטית ספציפית או מדגם ניסיוני "צר", כיום קיימת הבנה כי על מנת ליצור תמונה רחבה יותר, קיים צורך בשילוב של מבחני אנליזה חושית ואנליזה כימית אשר משלימים את התמונה המתקבלת מערכי ריכוזם של חומרים שונים, כלי האנליזה החושית הנפוצים כיום, כוללים מגוון של מבחנים תיאוריים, רגשניים וכן מבחני הבדלה שונים, ומשמשים באופן שוטף את תעשיית המזון והמשקאות בתהליכי פיתוח מוצרים, בקרת איכות, שינוי תהליכים ודירוגי איכות שונים. השימוש בכלים של אנליזה חושית על ידי מערכים בודדים וקבוצות יוצר לעיתים קרובות קשיים בניתוח סטטי וצופן מגבלות האופייניות למערכים אנושיים, כאשר הבולטות שבהן הינן: עייפות, ציפיה ושעמום. גורמים אשר פוגמים בעקביות התוצאות. (Gonzalez, 2011. Lawless, 2010)

2.6 – גידול הגפן ותעשיית היין בישראל:

תעשיית היין בישראל בעת המודרנית מוגדרת כתעשייה "צעירה" אשר עברה במהלך תקופה קצרה תהליכי שינוי ניכרים, בשנות ה-80 המוקדמות פעלו בארץ 5 יצרנים מסחריים בלבד, אשר עיקר הייצור בהם התמקד בינות באיכות נמוכה יחסית, בשנים שעברו עד ל-2008, גדל מספר היצרנים ליותר מ-140 יקבים פעילים, כאשר מרביתם מתמקדים בייצור של יינות איכות. (Roberts, 2010)

על פי נתוני המועצה לגפן יין, היקף בציר ענבי היין בישראל נכון לשנת 2014 הינו כ-60,054 טון, מאחר ולא קיימים נתונים רשמיים עבור ייצור יין, ניתן להעריך (ע"פ תפוקה ממוצעת של 0.65 ליטר יין לק"ג ענבים) כי היקף הייצור השנתי בישראל הינו כ-40 מיליון ליטרים בשנה, ויש לקחת בחשבון כי חלק נכבד מערך זה משמש ביקבים הגדולים לייצור של מיץ ענבים. למרות הגידול הניכר במספר היקבים הפעילים העומד כיום על למעלה מ-250, כ-75% מהיקף הייצור הכולל נמצא עדיין בידי 5 יצרנים מרכזיים בלבד, כאשר בהשוואה ליצרניות היין המובילות בעולם כגון צרפת, איטליה וספרד, מדובר בתעשייה בממדים קטנים מאוד, (לפי נתונים עבור שנת 2011 גודלה של תעשיית היין בישראל הינה כ-0.8% מהתעשייה בצרפת בלבד). צריכת היין השנתית לנפש בישראל נמוכה מאוד, ועומדת על פי הערכות על כ-5 ליטר עבור האוכלוסייה הבוגרת, ללא מגמה ניכרת של עליה. על פי נתוני הבציר הרשמיים, למעשה משנות ה-70 ועד היום, כמעט ולא התרחש בפועל גידול כמותי במשקל הענבים הנבצרים, אם כי ישנו גידול משמעותי בשטחי נטיעות הכרמים, עובדה הנובעת בעיקרה ממגמה של מעבר לגידול זני איכות אשר מניבים פחות ליחידת שטח.

<http://www.bakbuk.co.il>

ישראל כאזור לגידול גפן:

מרביתם של אזורי גידול גפן היין בחצי הכדור הצפוני, נמצאים בתחום שבין קווי הרוחב 30°N - 60°N , כאשר מדינת ישראל נמצאת בגבולו הדרומי ביותר של אזור זה, וחלק מאזורי גידול ענבי היין בישראל נמצאים מחוץ לטווחים המקובלים על פי רבים מהמדדים האקלימיים המקובלים עבור גידול ענבי יין. (Gladstones, 1992)

בהשוואת נתוני אקלים עבור גידול גפן, פותחו במשך השנים מדדים רבים, כאשר לרוב, מתבצעת השוואה של נתוני טמפרטורות ממוצעות במשך עונת הגידול, מדדי קרינה שונים וכן נתוני משקעים והתאדות על מנת לקבוע את התאמתו של אזור גידול מסוים לייצור של יין.

תנאי האקלים לגידול גפן בארץ ע"פ רוב המדדים המקובלים בחקלאות ניתנים להגדרה כאזור גידול יבש וחם מאוד בהשוואה לאזורי גידול אחרים בעולם, ע"פ עבודה אשר בוצעה ע"י Tonietto & Carbonneau בשנת 2010 להשוואת נתוני גידול אקלימיים, נמצאת ישראל בצידה הקיצוני של הסקאלה, לצד אזורי גידול בתוניס ודרום איטליה על פי השוואת פרמטרים של:

Heliothermal Index – מדד המבוסס על סכום של טמפ' יומית ממוצעת מעל 10 מ"צ וטמפ' יומית

מקסימלית מעל 10 מ"צ בתקופה שבין תחילת אפריל ועד סוף אוגוסט.

Cool night Index – טמפרטורת המינימום הממוצעת במשך חודש ההבשלה של הענבים.

Dryness Index – מדד לפוטנציאל המים הזמינים בקרקע בתנאי גידול כרם, ע"פ שקלול של נתוני משקעים, התאדות והערכת צריכת המים על ידי הגפנים.

מאחר וקיימת הסכמה כללית כי לנתונים אילו ישנה השפעה מכרעת על ריכוזם של מטבוליטים ראשוניים בענבים (ביחוד סוכרים וחומצות), וכן על מטבוליטים משניים (פוליפנולים וחומרי ארומה) גורמים אשר קובעים את איכותו של היין (van Leeuwen, 2013) ישנו צורך להתאמתם של זנים וקלונים שונים לתנאי סביבת הגידול, צורך זה מתחזק כאשר אזור הגידול מתאפיין בנתוני אקלים בעלי אופי חריג, מאחר ובמקרה זה, נתונים המבוססים על תצפיות באזורים בעלי תנאי אקלים "מסורתיים" אינם בהכרח נותנים מענה לבחירה מושכלת של זנים וקלונים.

2.7 - הזן קברנה סוביניון:

זן ענבי יין אדומים ממשפחת הגפן האירופאית - *vitis vinifera* אשר נוצר בסביבות המאה ה-17 מהכלאה בין הזנים קברנה פרנק וסוביניון בלאן (Bowers & Meredith, 1997). הזן, CV Cabernet Sauvignon הינו נטיבי לאזור בורדו בצרפת, ונחשב כאחד החשובים בעולם בשל נטייתו ליצור יינות בעלי איכות גבוהה במיוחד בפני עצמו וכן בשילובים עם זנים רבים אחרים. כיום בעולם נטועים למעלה מ-250,000 הקטר (2.5 מיליון דונם) של קברנה סוביניון, והוא מהווה כ-4.5% מסך שטחי ענבי היין הגלובאליים כאשר יצרניות היין המובילות מזן זה הינן צרפת, צ'ילה, קליפורניה ואוסטרליה. (Anderson & Nelgen, 2011) כחלק משינויים במגמות השיווק והייצור של תעשיית היין בישראל, בשנת 2009 תפס זן הקברנה את מקומו של זן הקריניאן – CV Carignan כמוביל בהיקף הבציר השנתי, עובדה אשר מייצגת את מגמת "מהפכת האיכות" של יקבי ישראל, והמעבר מזנים "כמותיים" (עתירי יבול) לזני איכות. בישראל כיום, זהו זן ענבי היין המוביל בהיקף השטח הנטוע, כאשר במהלך בציר 2014 נבצרו ממנו כ-11,450 טון פרי המהווים קרוב ל-20% מכלל ענבי היין אשר נבצרו במהלך שנה זו. (דוחות בציר - המועצה לגפן יין <http://www.wineboard.co.il>)

2.8 - קלונים בענף הגפן:

הגפן האירופאית – *Vitis vinifera* הינה אחד מגידול הפרי הוותיקים והחשובים בעולם, תהליך ביות הגפן, על פי עדויות ארכיאולוגיות החל לפני למעלה מ-6000 שנה והיא נפוצה בחלקים נרחבים של העולם. צמח הגפן הינו הטרוזיגוט דיפלואידי, ולכן על מנת לשמור על מאפיינים רצויים של הזנים השונים המשמשים למאכל ולייצור יין, מתבצע כלל הריבוי המסחרי בשיטות של ריבוי וגטטיבי. שיטה זו של ריבוי מתורגלת ככל הנראה כבר מהעת העתיקה, כאשר מולו נמצא לעיתים רחוקות השימוש בטכניקות של זריעה והאבקה אשר מבוצע על מנת ליצור מגוון זנים חדשים, תהליך אשר מתרחש גם באופן טבעי והוביל ככל הנראה למרביתם של זני הגפן המבויתים המוכרים כיום. את מגוון הטיפוסים הקיימים של כל זן, ניתן לייחס למספר גורמים: גורמים סביבתיים אשר מובילים לשינויים גנטיים קלים, נוכחות של גורמים פיטופתולוגיים כגון ווירוסים ווירואידים וכן התרחשות של מוטציות ספונטאניות במהלך ביצוע מחזורים רבים של ריבוי וגטטיבי. מוטציות אילו, אשר מובילות לשינויים פנוטיפיים

והתנהגותיים, יוצרים טיפוסים שונים – "קלונים" של אותו הזן, כאשר הטיפוס / קלון מהווה בהגדרתו את היחידה הטקסונומית הבסיסית ביותר לאותו המין.

עצם המנגנונים אשר מובילים להתרחשותן של מוטציות אילו בתהליכי הריבוי של צמח הגפן אינם מובנים באופן מלא, אולם קיימות מספר השערות בהן קיומם של רטרוטרנספוזונים שונים ומצבים כימריים במבנה התאי אשר תורמים לשינויים אלו (Moncada, 2006).

התהליך המתמשך של בידוד ואפיון של קלונים שונים, מבוצע החל משנות ה-50 על ידי המגדלים עצמם, יקבים ומשתלות גפן, לרוב על בסיס של תצפיות מקומיות על המאפיינים הפנולוגיים של פרטים באתר נבחר, כאשר המניע הינו הרצון לשיפור של מאפייני הגידול ואיכות היין, קלונים רבים נמצאים כיום בתפוצה בינלאומית, וכן קיימים קלונים בעלי תפוצה אופיינית "מקומית" למדינה או אזור גידול יין מסוים (Gatti, 2014).

במשך השנים, בייחוד בזני גפן וותיקים אשר נמצאים בתפוצה נרחבת, גדל באופן ניכר מספר הקלונים הקיימים מאותו הזן, במקרה הספציפי של קברנה סוביניון, בקטלוגים מסחריים עדכניים של משתלות גפן מופיעים למעלה מ-70 קלונים שונים מן זה, כאשר בזנים אחדים כגון פינו-נואר CV Pinot Noir קיימים לעיתים מאות קלונים רשומים. <http://www.vignevin.com> accessed 28/11/2016. (ENTAV-INRA UC Davis FPS <http://fps.ucdavis.edu/grapelist.cfm>, accessed 28/11/2016)

מאחר ולא קיים כיום מידע מקיף על ההבדלים הגנטיים בין קלונים, ומחקרים בודדים אשר עוסקים בנושא של זיהוי ברמה המולקולארית, ייתכן וקיימות "חפיפות" בין קלונים הנפוצים בשמות מסחריים שונים. מספר מחקרים מראים כי בין קלונים שונים של זני ענבי יין קיימים לעיתים הבדלים ניכרים אשר מתאפיינים בשינויים במחזור הפנולוגי, הבדלים בעצמת הצימוח, יבול פרי, צבירת סוכר, חומציות וכן תכונות נוספות כגון עמידות למחלות ותנאי סביבה וייצור של מטבוליטים משניים כגון פוליפנולים וחומרי ארומה אשר משפיעים באופן ישיר ועקיף על איכותו של היין.

התכונות הנדרשות מכל קלון שונות באופן התלוי בתנאי הסביבה, לדוגמא: קלון אשר מתאפיין בצבירת סוכר מהירה יחסית, יהיה מועדף באזורי גידול בעלי אקלים קר יותר בהם מהווה תקופת ההבשלה גורם מגביל, באזורי גידול בהם ישנם תנאי אקלים הגורמים לנטייה למחלה פטרייתית מסוימת, יועדפו קלונים בעלי עמידות גבוהה יותר אשר יפחיתו את הוצאות הגידול (van Leeuwen, 2013).

3. מטרת המחקר:

במשך זמן רב, בשל מדיניות נוקשה הנוגעת ליבוא של חומר צמחי לישראל על ידי השירותים להגנת הצומח (<http://old.moag.gov.il/ppis>) וכן כתוצר של מימדיה ואופייה של תעשיית היין בישראל, מצאי הזנים של ענבי היין והקלונים של אותם זנים נותר מוגבל יחסית, כאשר במקרים רבים הוגבל המגוון המקומי לקלון אחד בלבד מזן נתון.

כתוצאה משינוי זמני של מדיניות היבוא אשר נולד בעקבות סוגיות של נגיעות בוורוסים בחלקות הריבוי המקומיות וכן מביקוש גובר של היקבים, הכורמים ומשתלות הגפן, בשנים 2009-2011 הותר יבוא של חומר

ריבוי מצרפת בהיקפים גדולים יחסית, בשנים אילו גדל באופן ניכר מצאי הזנים והקלונים של ענבי היין הקיימים בישראל.

הגדלת המגוון של הקלונים הזמינים של זני ענבי יין שונים יצרה את הצורך בביצוע בחינה מקיפה של המאפיינים של אותם הקלונים בתנאי הגידול הקיימים בישראל וכן את איכות היין המתקבלת מאותם הקלונים, זאת על מנת לאבחן שונות איכותית אשר תרחיב את הידע הנצבר להתאמתם לדרישות איכות בתעשיית היין בישראל.

במסגרת מחקר המתקיים ע"י מו"פ צפון בראשותו של ד"ר עומר קריין, ניטעו בשנת 2009 חלקות ניסוי המורכבות מקלונים שונים של זני היין הבינלאומיים המובילים: קברנה סוביניון, מרלו, סירה, שרדונה וסוביניון בלאן באזורי גידול שונים בישראל, זאת במטרה לאפיין את תכונות הקלונים השונים בהתאמתם לאזורי הגידול השונים בארץ על מנת ליצור התאמה לדרישות יבול ואיכות שונות ולאפשר בחירה מושכלת של הכורמים והייננים בנטיעות עתידיות.

כחלק ממהלך המחקר הוכנו בשנים 2013, 2014 ו-2015 ינות מהזן קברנה סוביניון אשר נבצרו בכרמי רמות נפתלי (2013) וקשת (2014+2015) וגבעת ישעיהו (2015) בשיטה של המיקרו-ויניפיקציה ביקב הניסוי של יקבי רמת הגולן, זאת על מנת לבחון את איכות היין המתקבלת מהקלונים השונים. חלקות הניסוי, המפורטות בטבלה 1, ניטעו במבנה של 5 שורות המכילות כל אחת 4 חזרות אקראיות של 10 גפנים מכל קלון (20 חזרות בכל חלקת כרם). כל החלקות מטופלות באופן אגרוטכני זהה (זמירה, דילולים וריסוס) כאשר באופן אידיאלי, מועד הבציר של הענבים נקבע ע"פ רמת הסוכר בענבים על מנת ליצור אחידות בהבשלה ועל ידי כך לצמצם הבדלים הנובעים משינויים אלו.

טבלה 2.1 - מיקום ותוכן של חלקות הקלונים בניסוי:

קברנה סוביניון – 169, 338, 15, "רמות נפתלי"

סוג הקרקע	אזור	מקום	DMS Coordinates
חומה בזלתית, אלוביאלית	צפון הגולן	קשת	N33°4'31" E35°46'9"
אלוביאלית	עמק קדש	רמות נפתלי	N33°5'31" E35°32'14"
אלוביאלית	שפלה	גבעת ישעיהו	N31°39'51" E34°56'2"

איור 3.1 – מבנה חלקות הניסוי:

169	338	15	ישן	שורה 1
15	ישן	338	169	שורה 2
338	169	15	ישן	שורה 3
ישן	338	169	15	שורה 4
169	15	ישן	338	שורה 5

4. חומרים ושיטות:

4.1 - הכנת היינות:

הענבים מכל חזרה בחלקות הניסוי נבצרו באופן דיפרנציאלי בנקודת הבשלה של 25-26 בריקס והועברו למתקן המיקרו-ויניפיקציה ביקבי רמת הגולן. מכל חזרה נשקלו 19 ק"ג של ענבים אשר הועברו לאחר הפרדת שזרות ומעיכה לתסיסה בחביות פלסטיק בנפח 70 ליטר.

לכל אחד מהיינות במועד הקליטה בוצעו תוספות ע"פ הפירוט:

מזין שמרים – DAP – Diammonium Phosphate – בריכוז של 0.4 גרם לליטר.

שמרים - Lallemand® DV10 – מינון של 0.2 גרם לליטר.

חומצה טרטריית: במינון פרטני, על סמך בדיקת מעבדה, תיקון ל- pH 3.50.

היינות נסחטו (הפרדה מקליפות וגרעינים) במועד אחיד של 10 ימים לאחר הקליטה והועברו לבקבוקי זכוכית בנפח 20 ליטר עד סיום התסיסה. בסיום התסיסה (תזמון נקבע ע"פ אנליזה לריכוז סוכרים מחזרים) הוספו לכל יין חיידקים לתסיסה מאלו-לקטית במינון של 0.01 גרם לליטר והוא הועבר לבקבוקי זכוכית מלאים בנפח 12 ליטר.

בסיום תסיסה מאלו-לקטית בוצעה שפייה של היינות (הפרדה מהמשקעים) לבקבוקי זכוכית בנפח 10 ליטר ותוספות של גופרית דו-חמצנית (SO₂) במינון של 25ppm וחומצה טרטריית במינון פרטני לכל יין על מנת לבצע תיקון ל- pH 3.70.

שפיות נוספות (Racking) בוצעו בשני מועדים של 8 שבועות לאחר השפייה הראשונה ופעם נוספת כ-4 שבועות לאחר מכן. במהלך פעולות אילו בוצע תיקון לריכוזי גופרית דו חמצנית למינון של 35ppm.

מילוי היין בבקבוקי זכוכית סטנדרטיים בנפח 750 מ"ל בוצע במועד אחיד של 8 חודשים לאחר תחילת התהליך.

4.2 - אנליזה בעזרת לשון אלקטרונית Insent Sensor technology מדגם SA402B:

הלשון האלקטרונית הינה מכשיר המבוסס על מערך של חיישנים כימיים ספציפיים בעלי סלקטיביות ייחודית לקבוצות חומרים אשר גורמות לתחושות הטעם האנושיות (מליחות, מרירות, חמיצות, מתיקות, עפיצות ואומאמי). חיישנים אילו מתוכננים כך שגיבו באופן עקבי ופרטני לחומרי טעם מסוימים באופן המדמה את המערכת הפיזיולוגית. עקרון המדידה בכל חיישן פועל על בסיס של קשרים אלקטרוסטטיים והידרופוביים על פני ממברנה ליפידית מלאכותית, השינוי אשר נגרם בפוטנציאל החשמלי על פני הממברנה נמדד ומתורגם על יד תכנת מחשב לפלט מספרי.

איור 3.2.1 – מערכת הלשון האלקטרונית Insent®:



מהלך הבדיקה עבור כל דוגמא מתבצע ע"פ השלבים הבאים:

א. טבילת החיישן בתמיסת ייחוס המכילה ריכוז של 30mM KCl בתוספת 0.3mM חומצה טרטריית, תמיסה זו שומרת על פוטנציאל הממברנה, ומדמה למעשה את פעולת הרוק האנושי.

ב. החיישן נטבל בדוגמא עצמה, ולאחר התייצבות הערכים, מתבצעת מדידה בה נקבע ההפרש בין הפוטנציאל החשמלי אשר נוצר בדוגמא אל מול תמיסת הייחוס, ערך זה מדמה את תגובת הטעם הראשונית של המערכת הפיזיולוגית לגירוי.

ג. טבילת החיישן לזמן קצר בתמיסת הייחוס על מנת להסיר חומרים אשר לא נקשרו לממברנה, לאחר מכן, נטבל שוב החיישן בתמיסת הייחוס ומתבצעת מדידה של שינוי הפוטנציאל הנגרם עקב ספיחה של חומרים הגורמים לתחושות של עפיצות ומרירות (טעמי לוואי).

ד. ביצוע של מספר שטיפות בתמיסת אתנול על מנת להסיר את כלל החומרים מהממברנה וחזרה לקו הבסיס של המדידה לפני בדיקת הדוגמא הבאה.

מחזור הפעולה המובנה של הלשון האלקטרונית בנוי באופן בו מתבצעות 4 חזרות מדידה לכל דוגמא, ניתוח התוצאות התבצע על בסיס ממוצע שלושת החזרות האחרונות (התעלמות מתוצאות החזרה הראשונה).

(<http://www.insent.co.jp> accessed 02/12/2016)

בדיקות לשון אלקטרונית בוצעו באמצעות מכשיר מדגם Insent SA402B לכלל היינות אשר השתתפו בניסוי (סה"כ 64 יינות), תוך שימוש בחיישנים תוצרת חברת Insent Sensor technology, Japan לבדיקה לפי פרמטרים של תכונות חמיצות, מרירות, עפיצות, אומאמי ומליחות. מאחר ובאנליזה כימית של סוכרים מחזרים ביין לא נמצאו הבדלים משמעותיים – לא בוצעו בדיקות בחיישן זה.

4.3 - מעקבי הבשלה ונתוני צימוח:

במהלך ביצוע הניסוי, בוצע בכלל החלקות ניטור של נתוני צימוח שונים בגפן, השוואת מועדים פנולוגיים וכן בחינה של קצב ההבשלה ונתוני הפרי ע"י צוות מו"פ צפון. הנתונים אשר נמדדו כללו את הפרמטרים הבאים:

- לאחר התעוררות מתרדמה: מספר שריגים, מספר אשכולות לגפן.
- לאחר בוחל (Veraison) : מעקב הבשלה ע"י מדידת BRIX בשלושה עד ארבעה מועדים שונים עד לבציר.
- נתוני בציר: מספר אשכולות לגפן, משקל כולל לגפן (יבול) ומשקל אשכול ממוצע.

4.4 – אנליזה של חומרי ארומה ביין ע"י GCMS-HS-SPME :

מדידה של חומרי ארומה ביינות השונים בוצעה ע"י GC-MS בשיטה של Headspace Solid Phase micro-extraction (HS-SPME) כמתואר ע"י Laaks et al, 2012 ו-Panighel & Flamini, 2014. האנליזה בוצעה באמצעות מכשיר מתוצרת Agilent Technologies® מדגם G1530A המוצמד למערכת דגימה אוטומטית מסוג CombiPAL מתוצרת CTC Analytics AG® שוויץ. הקולונה בה נעשה שימוש הינה מתוצרת Agilent Technologies® מדגם HP-5 19091J-433 באורך של 30 מ' וקוטר 0.25 מיקרון, המורכבת על גלאי 5793 Network Mass Selective Detector. הדגימה בוצעה בעזרת סיב מסוג SPME המורכב משילוב Carboxen/DVB/PDMS במידות 50/30µm באורך 2 ס"מ מתוצרת SUPELCO®. דוגמאות יין בנפח 6.5 מ"ל בתוספת של 1.3 גרם NaCl (הגברת יוניזציה של חומרי ארומה) הוכנו בבקבוקונים בנפח 20 מ"ל מסוג: Clean Vial® 20mL clear headspace עם פקק הברגה מגנטי בעל ספטה מ-PTFE. כל הרצה בוצעה ב-2 חזרות (סה"כ 8 חזרות עבור כל קלון בחלקה).

3.4.1 - טבלה 3.4.1 - תנאי אינקובציה ודגימה:

Pre-Incubation time	5 Min
Incubation Temperature	35°C
Agitation Speed	250 RPM

Agitation "ON" time	40 Sec
Agitation "Off" time	20 Sec
Extraction time	40 Min
Desorption Time	1 Min
Fiber Bakeout	1 Min

טבלה 3.4.2 - תנאי ההרצה:

Inlet	Flow	8.9 mL/Min		
	Heater	260°C		
	Mode	Splitless		
Column	Flow	1.1 mL/Min		
	Pressure	8.5 psi		
	Mode	Constant Pressure		
Oven				
Ramp	°C / Min	Next °C	Hold	Runtime (Min)
Initial		45°C		2:00
Ramp 1	5	225	0	37:00
Ramp 2	15	300	5:00	8:00
Total Runtime				47:00

4.4.1 - עיבוד תוצאות אנליזת GCMS וניתוח סטטיסטי:

גילוי הפיקים השונים, אינטגרציה וזיהוי בוצעו באמצעות תוכנת OpenChrom® 1.1.0 תוך שימוש בספריית Wiley® 275. ניתוח בוצע עבור חומרי ארומה מוכרים ביין (Panighel & Flamini, 2014) אשר זוהו ע"י הספרייה בוודאות הגדולה מ- 85% לאחר הסרת חומרי רקע אשר זוהו בדוגמאות ביקורת של אוויר ומים מזוקקים.

ניתוח סטטיסטי מסוג Discriminant Analysis (DA) ו- ANOVA של התוצאות בוצע בעזרת תכנת XLSTAT® 2016.

4.5 - אנליזה באמצעות מערכת אף אלקטרוני AIRSENSE ANALYTICS PEN3:

מערכת האף האלקטרוני בנויה מיחידת דגימה ויחידת גילוי המורכבת מ-10 חיישנים מסוג Metal Oxide Semiconductor (MOS), בעלי רגישות סלקטיבית לקבוצות חומרים נדיפים ונדיפים למחצה. תגובות כל חיישן נמדדות ביחידות מוליכות חשמלית (ohm) ונקלטות בתכנת מחשב ייעודית (Winmuster 3.0) המשמשת גם לשליטה ובקרה על פעילות ותקינות המכשיר. כאשר מתבצעת בדיקה של דוגמאות המכילות ריכוזים גבוהים של אלכוהול, או חומרים אחרים אשר יוצרים עומס יתר על החיישנים, ניתן לבצע את הדגימה בצמוד ליחידת ספיחה והעשרה (EDU) המכילה קולונה אשר סופחת באופן סלקטיבי את החומרים הנדיפים ומשחררת אותם באמצעות חימום להמשך אנליזה ע"י יחידת האף האלקטרוני.

איור 3.5 – מערכת האף האלקטרוני PEN3 בצמוד למערכת הדגימה EDU:



בניסוי זה נעשה שימוש בקולונה המכילה 150 גרם של פולימר Tenax-TA® אשר משמש לאפלקציות שונות של ניטור סביבתי וכן ע"פ מחקרים קודמים, מאפשרת יצירת "טביעת אצבע" של חומרי ארומה לאפיון של יינות שונים. (Buratti, 2004).

טבלא 3.5.2 : פירוט חיישני האף האלקטרוני PEN3 ע"פ קבוצות גילוי עיקריות.

Reference	תאור כללי	שם חיישן	מספר חיישן
Toluene, 10ppm	תרכובות ארומטיות	W1C ארומטי	1
NO ₂ , 1ppm	רגיש מאוד, טווח רגישות רחב, מגיב על ניטרוגן אוקסידאז ואוזון. מאוד רגיש לסיגנלים שליליים.	W5S טווח רחב	*2
Benzene, 10ppm	אמוניה, שימוש כחיישן לתרכובות ארומטיות	W3C ארומטי	3
H ₂ , 100ppb	מימן בעיקר, באופן סלקטיבי (גזי נשימה)	W6S הידרוגן	4
Propane, 1ppm	אלקנינים, תרכובות ארומטיות, תרכובות פחות פולאריות.	W5C ארום אליפטי	5

CH ₄ , 100ppm	רגיש למתאן (סביבה), בקירוב 10ppm לדקה. טווח רחב, דומה לחישן מס. 8	W1S מתאן רחב	*6
H ₂ S, 1ppm	מגיב לתרכובות גופרית (0,1ppm H ₂ S)	W1W גופרית אורגנית	*7
CO, 100ppm	קולט אלכוהולים, חלקית תרכובות ארומטיות, טווח רחב.	W2S אלכוהול רחב	*8
H ₂ S, 1ppm	תרכובות אורגניות, תרכובות גופרית אורגניות.	W2W גופרית כלוריד	*9
CH ₄ , 10ppm	מגיב לריכוזים גבוהים < 100ppm לפעמים מאוד סלקטיבי (מתאן)	W3S מתאן אליפטי	10

* - חיישנים מהם נקראו תוצאות לאנליזה.

בדיקות באמצעות מערכת אף אלקטרוני נייד (PEN3) בוצעו ב- 2 מסדרות הניסוי, בתוספת יין ביקורת מזן אחר (מרסלן - CV Marselan) :

• קברנה סוביניון - כרם קשת 2014

• קברנה סוביניון - כרם גבעת ישעיהו 2015

הבדיקה התבצעה ב-2 חזרות ל- 1 מ"ל של יין בטמפרטורת סביבה (כ-25 מ"צ) בבקבוקונים בנפח של 20 מ"ל.

טבלה 3.5.3 : הפרמטרים במערכת ה-EDU לאחר אופטימיזציה על בסיס נתוני מחקר שהתבצע ע"י

Buratti et al, 2004

EDU Settings:	
Sampling	60 seconds @ 20°C
Post-Sampling	11 Seconds
Desorption	60 seconds @ 80°C
Injection	100 seconds @ 160°C
Cleaning	100 seconds @ 280°C
Cooling	335 sec
Sample Flow Rate	400 mL / min
Automatic Dilution – ON	

ניתוח הנתונים בוצע ע"פ ממוצע 20 המדידות של כל חיישן בתחום הזמן אשר בין 30-50 שניות מתוך זמן ההזרקה הכולל של 100 שניות (תחום בו נצפתה מדידה לינארית). אנליזות בוצעו רק על סמך חיישנים פעילים בהם נקראו תוצאות החורגות מקו הבסיס.

4.6 - מבחנים אורגנולפטיים (מבחני טעימה):

מבחני אנליזה חושית לבחינת העדפה בוצעו כמתואר ע"י Jackson et al, 2009. הטעימה נערכה במסגרת קבוצות שונות של ייננים וחובבי יין ע"פ הפירוט:

טבלה 3.6.1 – פירוט מבחני טעימה במסגרת המחקר:

שם היין:	קבוצת טעימה:	מס. טועמים (n)	שיטה:
ק.ס קשת 2014	פורום "הבוסתן" – חובבי יין	16	דף טעימה: UC Davis
ק.ס רמות נפתלי 2013	צוות ייננים – יקבי רמת הגולן	4	Affective - Ranking
ק.ס רמות נפתלי 2013	ייננים וסטודנטים – מכללת אוהלו	7	דף טעימה: UC Davis
ק.ס קשת 2015	צוות ייננים – יקבי רמת הגולן	6	Affective - Ranking
ק.ס גבעת ישעיהו 2015			

מפורט בטבלה 3.5.1, בוצעו במסגרת המחקר 4 אירועי טעימה שונים בהשתתפות של פנלים אשר כללו חובבי יין, סטודנטים ליין וכן אנשי מקצוע בתחום (ייננים). מבחני טעימה אשר בוצעו על ידי צוות הייננים של יקבי רמה"ג בוצעו לפי פרוטוקול פנימי הנהוג ביקב בחדר טעימות ייעודי בשיטה של דרוג הדוניסטי מאולץ של 8 דוגמאות בכל מקצה לפי קטגוריות של ארומה, טעם, טעם לוואי ודירוג כללי. בכל מקצה ניתנו הדוגמאות בצורה עיוורת ובאופן אקראי. מבחני הטעימה אשר התבצעו במכללת אוהלו וכן על ידי קבוצת חובבי יין מ"פורום הבוסתן" בוצעו בשיטה של דרוג קטגורי כולל של 20 נקודות ע"פ דף UC Davis כמתואר על ידי Ough & Winton, 1976. סימון דוגמאות בוצע בעזרת מספור תלת-סיפרתי אקראי, בכל אירוע טעימות הוגשו הדוגמאות בכוסות זהות ובמפרטורה אחידה כמתואר ע"י תקן ISO 8587, 2006 לעריכת מבחני טעימה.

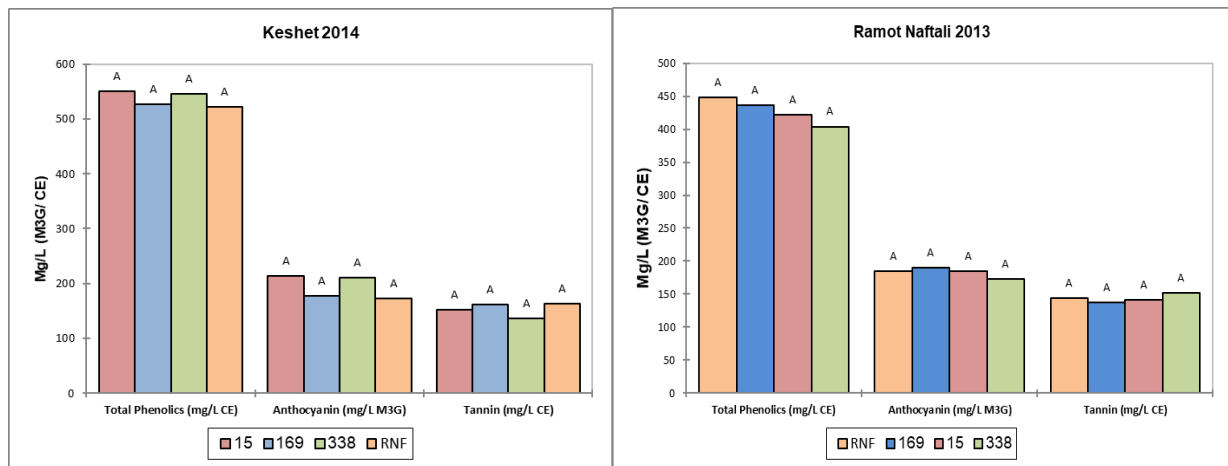
4.7 - אנליזה של צבע ופוליפנולים ביין:

3.7.1 - אנליזה של עומק צבע (Color Intensity) בוצעה ליינות במועד המילוי על ידי בדיקה ספקטרופוטומטרית כמתואר ע"י (Iland et al (2004) באורכי גל של A420 + A520.

3.7.2 - בדיקות טאנינים ופיגמנטים פולימריים בוצעו בשלבים הראשונים של המחקר ע"פ השיטה המתוארת ע"י (Harbertson et al (2003) המבוססת על השקעה של טאנינים באמצעות חלבון BSA ואנליזה של אנטוציאנינים מונומריים ופיגמנטים פולימריים קטנים בנוזל העליון (Supernatant), לאחר מכן מבוצעת המסה מחודשת של המשקע לקביעת ריכוזם של פיגמנטים פולימריים גדולים, ראוי לציין כי שיטה זו התגלתה כמורכבת לביצוע ובעלת רמת דיוק נמוכה יחסית. בשלבים מאוחרים יותר של המחקר בוצעו אנליזות לטאנינים בין בטכניקה המבוססת על השקעה של טאנינים על ידי פולימר מתיל-צלולוז ומדידה באורך גל של 280nm, כימות מבוצע למול עקומת כיוול של epicatechin כפי שמתואר ע"י (Sarneckis et al (2006). ניתוח סטטיסטי של התוצאות מסוג ANOVA בוצע בעזרת תכנת XLSTAT® 2016.

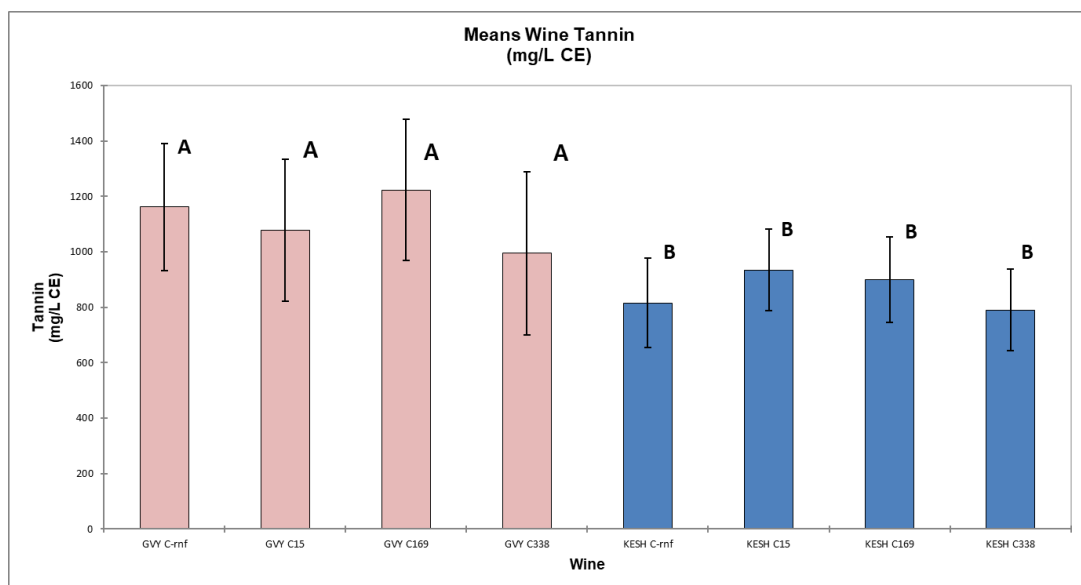
5. תוצאות:

4.1 – תוצאות אנליזת פוליפנולים ופיגמנטים:



איור 4.1 – ריכוזי פנולים כללי, אנטוציאן וטאנינים נקבעו לפי שיטת Harbertson-Adams ביינות קברנה סוביניון מארבעת הקלונים 15, 169, 338 ו-RNF בכרם קשת (רמת הגולן) בציר 2014 וכרם רמות נפתלי (גליל עליון) מבציר 2013.

ניתן לראות כי לא נראו הבדלים מובהקים בין הקלונים השונים בכל האנליזות שבוצעו, יחד עם זאת, נמצא כי לשיטת Harbertson-Adams רגישות נמוכה וכן דורשת הרבה מאמץ עבודה ולכן בהמשך בוצעו אנליזות ע"י שיטת MCP המבוססת על השקעה של פנולים באמצעות מתיל-צלולוז.



איור 4.2: ריכוז טאנינים ביינות הניסוי מכרמי גבעת ישעיהו (עמק האלה, בציר 2015 – מסומנים באדום) וקשת (רמת הגולן, בציר 2015 – מסומנים בכחול). סימון היינות בשילוב של שם הכרם והקלון: כרם קשת (KESH) וכרם גבעת ישעיהו (GVY), הקלונים cRNF, c15, c169, c338.

ניתן לראות כי לא קיימים הבדלים מובהקים בין הקלונים בתחום של חלקה בודדת, יחד עם זאת, ישנו הבדל בין שתי החלקות השונות.

5.2 – תוצאות אנליזה באמצעות לשון אלקטרונית – E-Tongue Analysis

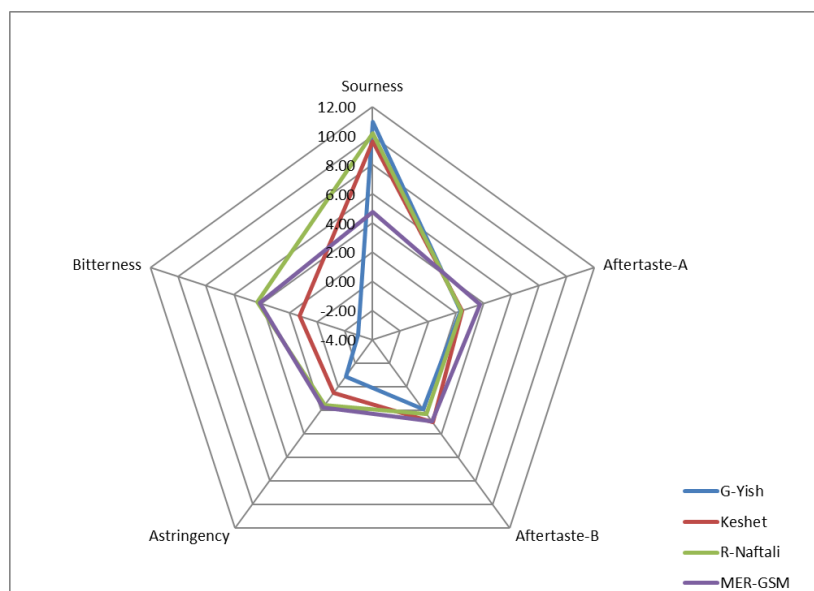
מכשיר הלשון האלקטרונית מאפשר למדוד באופן אובייקטיבי את ארבעת הטעמים המרכזיים: חמיצות, מרירות, מתיקות, מליחות וכן עפיצות ותחושת פה. בטבלה 5.1 נעשתה אנליזת ANOVA כאשר נבדקו

הבדלים מובהקים בין ארבעת הקלונים השונים : קשת 2013, קשת 2014, גבעת ישעיהו 2014 ורמות נפתלי 2013.

טבלה 5.1 – תוצאות אנליזת לשון אלקטרונית בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים: c15, c169, c338, cRNF, מהזן קברנה סוביניון :

	Sourness	Bitterness	Astringency	Aftertaste-B	Aftertaste-A	Richness
15	-10.473 a	1.242 a	0.523 a	2.698 a	2.458 a	1.191 a
RNF	-10.099 a	0.701 a	0.425 a	2.411 a	2.414 a	1.331 a
169	-9.217 a	1.088 a	0.582 a	2.438 a	2.353 a	1.156 a
338	-10.633 a	0.662 a	0.131 a	2.517 a	2.329 a	1.303 a
Significant	No	No	No	No	No	No

על פי מבחן ANOVA בהתפלגות ע"פ הקלונים המשתתפים בניסוי, ניתן לראות כי לא נמצאו הבדלים משמעותיים בין הקלונים בתוצאות הטעם כפי שנבדקו ע"י לשון אלקטרונית בכרמי קשת (בציר 2014 ו-2015), רמות נפתלי (בציר 2013) וגבעת ישעיהו (בציר 2015).

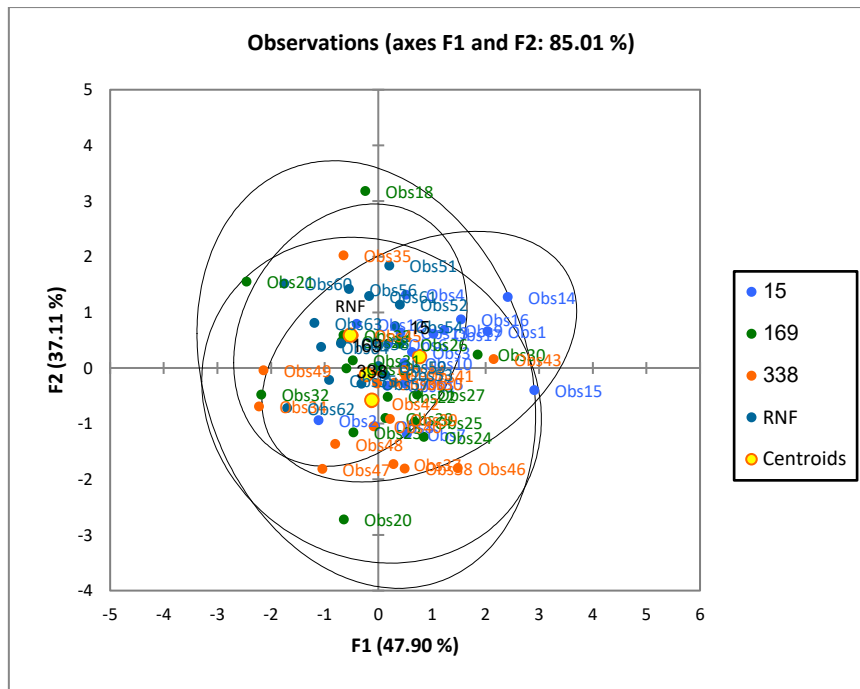


איור 5.1 – תרשים Spider Plot לממוצעי נתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרונית בהתפלגות ע"פ חלקות הכרם השונות: קשת, גבעת ישעיהו ורמות נפתלי, מהזן קברנה סוביניון.

ניתן לראות כי בין החלקות השונות קיימים הבדלים מובהקים (נתונים בטבלה 5.2) בדגש על נתוני מרירות ועפיצות.

** היין המוצג בסגול הינו ביקורת מזן שונה (סירה) לבחינה של רגישות שיטת הבדיקה.
 *** ממוצעי הטעם של נתוני מליחות ואומאמי אינם מוצגים מאחר ואינם מדדים מקובלים לבחינת איכות ביינ.

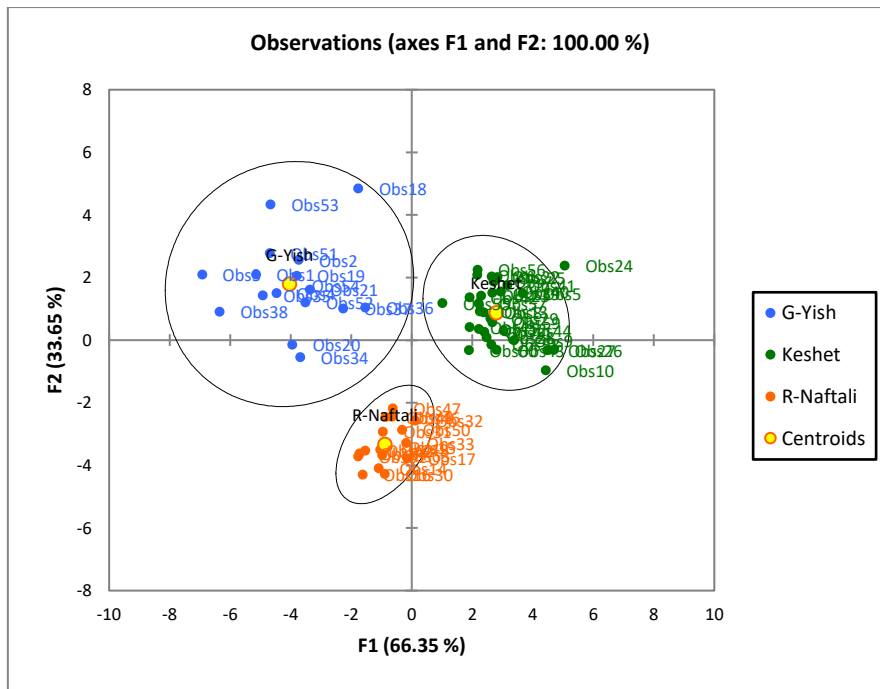
איור 5.2 – ניתוח Discriminant Analysis (DA) לנתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרונית בהתפלגות ע"פ קלונים שונים מהזן קברנה סוביניון לכלל ינות הניסוי (n=64):



איור 5.2 – נערכה אנליזת DA באמצעות תכנת XL stat לכלל יינות מהזן קברנה סוביניון שבניסוי. האנליזה בוצעה על סמך הפרדה בין הקלונים השונים.

בניתוח מבחין – Discriminant analysis של נתוני הטעם שנבדקו, ניתן לראות שלא קיימת התקבצות של הנתונים סביב המשתנה התלוי (במקרה זה, הקלונים השונים), הקורלציה בין המשתנים אינה מראה שונות משמעותית ולא נמצא הבדל מובהק בין הקלונים (תוצאות ניתוח אינן מוצגות).

איור 5.3 – ניתוח Discriminant Analysis (DA) לנתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרוני בהתפלגות ע"פ חלקות כרם שונות מהזן קברנה סוביניון לכלל יינות הניסוי (n=64):



איור 5.3 – נערכה אנליזת DA באמצעות תכנת XL stat לכלל היינות מהזן קברנה סוביניון שבניסוי. האנליזה בוצעה על סמך הפרדה בין חלקות הניסוי השונות (ראה מקרא).

בניתוח מבחין – Discriminant analysis של נתוני הטעם שנבדקו, קיימת התקבצות מובהקת של הנתונים סביב המשתנה התלוי (במקרה זה, חלקות הכרם השונות) - הקורלציה בין המשתנים מראה שונות משמעותית בין חלקות הכרם ובמבחן המשך מסוג Anova נצפו הבדלים מובהקים בין חלקות הכרם. מעניין לראות שלא נצפו הבדלים הנובעים משונות בציר שונות בכרם קשת.

טבלה 5.2 – ניתוח סטטי ANOVA לממוצעי נתוני טעם ע"פ אנליזת לשון אלקטרוני בהתפלגות ע"פ חלקות כרם שונות מהזן קברנה סוביניון :

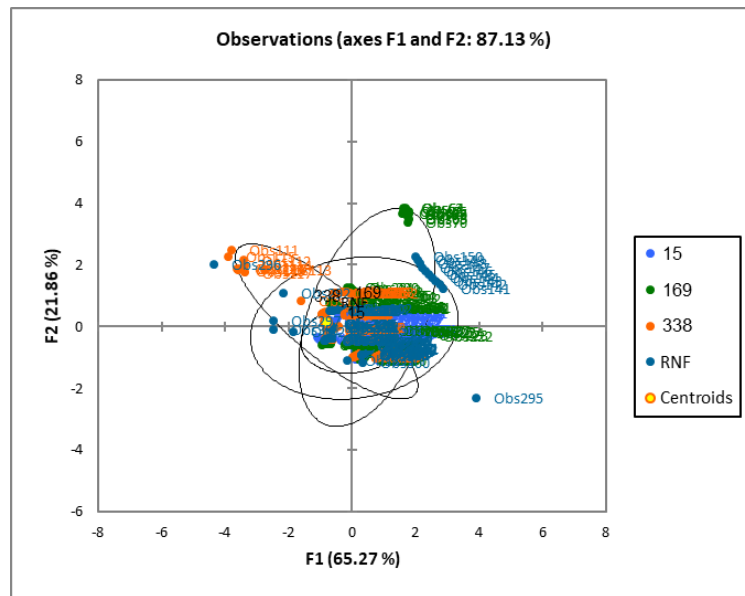
	Sourness	Bitterness	Astringency	Aftertaste-B	Aftertaste-A	Richness
Keshet	-9.607 a	1.231 b	0.500 b	3.007 a	2.430 a	1.075 b
R-Naftali	-10.184 a	4.279 a	1.530 a	2.312 ab	2.372 a	1.339 a
G-Yish	-10.959 a	-2.947 c	-0.862 c	1.877 b	2.329 a	1.441 a
Significant	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes

ניתן לראות שההבדלים בין הכרמים השונים נובעים מחיישן המרירות, העפיצות, ו aftertasteB שהוא חיישן שמדמה את תחושת שארית הטעם הנובעת ממרירות לעומת זאת לא נמצא הבדל מובהק בחמיצות בין היינות שיוצרו בחלקות הניסוי השונות. וכן בחיישן ה Aftertaste A שהוא חיישן המדמה תחושת שארית טעם הנובעת מעפיצות.

5.3 – תוצאות אנליזה באמצעות אף אלקטרוני – E-Nose

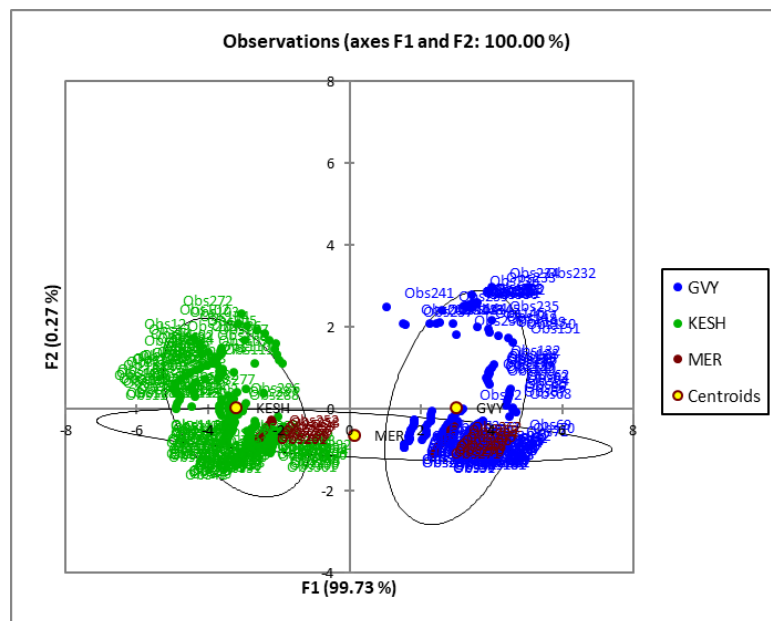
מכשיר האף האלקטרוני כולל 10 חיישנים הספציפיים לזיהוי קבוצות חומרים נדיפים שונים. באיור 7.1 נערכה אנליזת DA לכלל תוצאות החיישנים מיינות שהוכנו מחלקות הניסוי בקשת וגבעת ישעיהו מבציר 2015. ההתפלגות נעשתה לפי הקלונים c15, c169, c338, c-RNF.

איור 6.1 – ניתוח Discriminant Analysis (DA) לנתוני חיישנים ע"פ אנליזת אף אלקטרוני בהתפלגות ע"פ קלונים שונים מהזן קברנה סוביניון מחלקות גבעת ישעיהו + קשת מבציר 2015:



בניתוח מבחין – Discriminant analysis של נתוני האף האלקטרוני שנבדקו, לא קיימת התקבצות של הנתונים סביב המשתנה התלוי (במקרה זה, הקלונים השונים), הקורלציה בין המשתנים אינה מראה שונות משמעותית.

איור 6.2 – ניתוח Discriminant Analysis (DA) לנתוני חיישנים ע"פ אנליזת אף אלקטרוני בהתפלגות ע"פ שתי חלקות כרם – גבעת ישעיהו (עמק האלה) וקשת (רמת הגולן) מבציר 2015:



בניתוח מבחין – Discriminant analysis של נתוני האף האלקטרוני שנבדקו, קיימת התקבצות מובהקת של הנתונים סביב המשתנה התלוי (במקרה זה, חלקות הכרם השונות) - הקורלציה בין המשתנים מראה שונות משמעותית בין חלקות הכרם. קיימת התקבצות כללית של 94.3% סביב המשתנה התלוי.

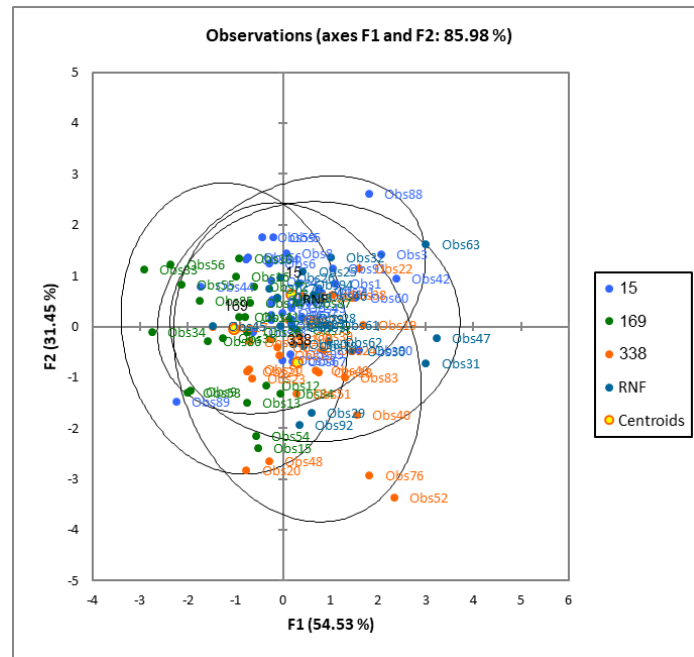
5.4 – תוצאות אנליזה של חומרי ארומה בשיטת HS-SPME-GCMS:

על מנת לאפיין את חומרי הארומה המרכזיים ביינות הניסוי, נערכה אנליזת במכשיר ה GCMS בשיטת ה HS-SPME. בטבלה 6 מוצגים 26 חומרי הארומה המרכזיים המשותפים לכל חזרות הניסוי אשר שימשו לביצוע ניתוח השוואתי של ההבדלים בין הקלונים וחלקות הכרם השונות בהרצת החומרים במכשיר ה GCMS הוכנס חומר סטנדרט - Toluene בריכוז 10ppm בכמות קבועה, על מנת לנרמל את השטחים המתקבלים מאינטגרציה של השטחים שמתחת לפיקים שהתקבלו.

טבלה 6 - חומרי ארומה מרכזיים אשר אובחנו בכרומטוגרפיה ע"י GCMS מתוך 16 יינות מכרם גבעת ישעיהו – בציר 2015

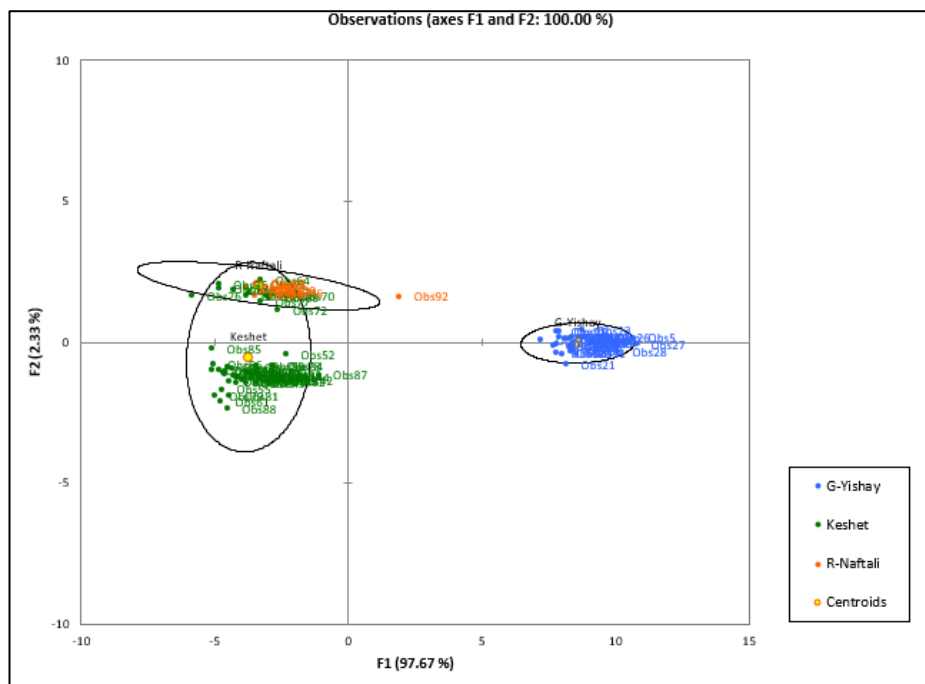
No.	RT (min)	Name
1	1.77	ETHYL ACETATE
2	2.46	Propanoic acid, ethyl ester
3	2.82	ISOAMYL ALCOHOL
4	3.04	Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester
5	3.73	ETHYLBUTANOATE
6	4.73	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester
7	4.84	ETHYLISOVALERATE
8	5.28	1-HEXANOL
9	5.39	ISOAMYLACETATE
10	8.84	ETHYL CAPROATE
11	9.26	Acetic acid, hexyl ester
12	10.27	ethyl E-2-hexenoate
13	11.89	ETHYL N-HEPTANOATE
14	12.02	Linalool
15	12.59	PHENYLETHYL ALCOHOL
16	14.49	Butanedioic acid, diethyl ester
17	14.95	ETHYL CAPRYLATE
18	16.42	ETHYLPHENYL ACETATE
19	16.78	B-PHENYLETHYL ACETATE
20	17.48	vitispirane
21	20.31	.beta.-Damascenone
22	20.38	ethyl 9-decenoate
23	20.59	ETHYL CAPRATE
24	25.69	ETHYL LAURATE

איור 7.1 – ניתוח (DA) Discriminant Analysis ל-22 חומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון לכלל יינות הניסוי (n=64):



בניתוח מבחין – Discriminant analysis של חומרי הארומה שנבדקו מכלל יינות הניסוי, לא קיימת התקבצות של הנתונים סביב המשתנה התלוי (במקרה זה, הקלונים השונים), הקורלציה בין המשתנים אינה מראה שונות משמעותית. במבחי מובהקות שנערכו (התוצאות אינן מוצגות), לא נמצאו הבדלים מובהקים במוצעי נוכחות חומרי ארומה בין הקלונים השונים.

איור 7.2 – ניתוח (DA) Discriminant Analysis ל-22 חומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ חלקות הניסוי השונות מהזן קברנה סוביניון לכלל יינות הניסוי (n=64):



בניתוח מבחין – Discriminant analysis של נתוני הטעם שנבדקו, קיימת התקבצות מובהקת של הנתונים סביב המשתנה התלוי (במקרה זה, חלקות הכרם השונות) - הקורלציה בין המשתנים מראה שונות משמעותית בין חלקות הכרם. ניתן לראות שבציר F1 המהווה כ 97% מהשונות בין החלקות יש הפרדה ניכרת בין כרם גבעת ישעיהו לבין כרם קשת וכרם רמות נפתלי. ההפרדה בין כרם קשת לכרם רמות נפתלי אינה מובהקת ומתרחשת רק על ציר F2 המסביר רק כ 3% מהשונות.

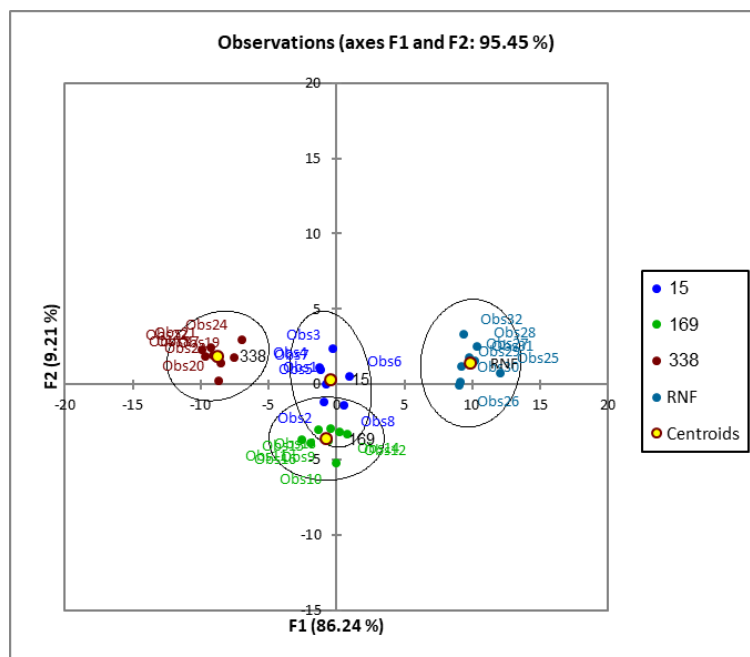
טבלה 6.1 – ניתוח סטטי ANOVA לממוצעי נתוני אינטגרציה של חומרי ארומה (רמת מובהקות של 95%) ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ חלקות כרם שונות מהזן קברנה סוביניון:

	Ethyl acetate	Ethyl propionate	Isoamyl alcohol	ETHYL BUTANOATE	Ethyl 2-methylbutyrate	Ethyl isovalerate	ISOAMYLACETATE	ethyl E-2-hexenoate
Keshet	20377253 a	1569686 b	105939116 a	1656277 b	1475127 a	1909320 a	20904097 a	25024227 a
G-Yishay	19933087 a	1943239 a	84342432 b	1972968 a	650463 b	1200687 b	22033435 a	782112 b
R-Naftali	21473577 a	1316269 c	90462817 b	1368872 c	1396100 a	1902308 a	6940197 a	27115874 a
Pr > F	0.855	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.068	0.000
Significant	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes

	ETHYL N-HEPTANOATE	PHENYLETHYL ALCOHOL	Ethyl succinate	ETHYL CAPRYLATE	Phenethyl acetate	vitispirane	ethyl 9-decenoate	ETHYL CAPRATE
Keshet	26440581 a	52622648 b	31668666 b	58251699 c	149700307 a	17324203 a	5793941 a	23374934 b
G-Yishay	1108069 b	95439013 a	14671365 c	172404969 a	4932052 b	2173806 b	2635271 b	73656288 a
R-Naftali	300263 b	106752136 a	59066803 a	119807713 b	9035438 b	1844829 b	1128042 b	31627272 b
Pr > F	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Significant	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

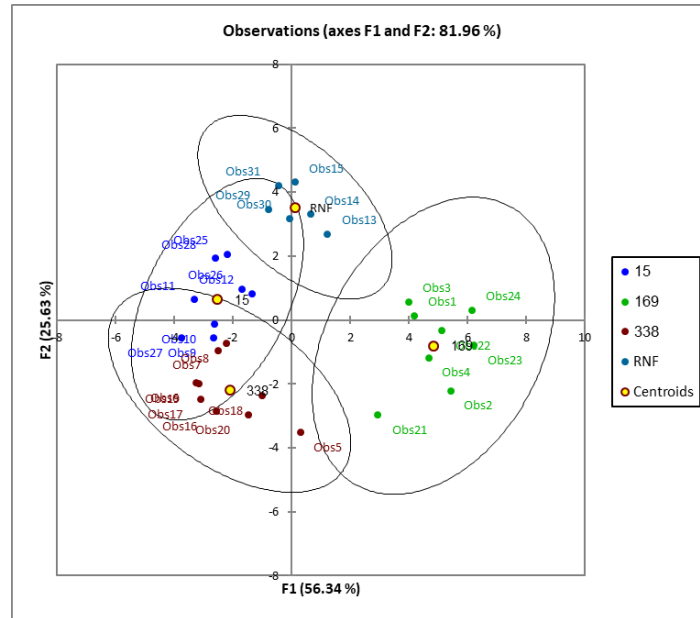
ניתן לראות את החומרים שתרמו לשונות המובהקת בין היינות שנלקחו מחלקות הגידול השונות. בניתוחים הסטטיסטיים שהוצגו לעיל נערכה השוואה בין כלל היינות לפי התפלגות הקלון או חלקת הגידול. על מנת לבחון אם יש הבדל בין היינות שהוכנו מהקלונים השונים באיזור גידול מסוים נערכה אנליזה סטטיסטית ליינות שהופקו מהקלונים בחלקת הניסוי קשת מבציר 2015.

איור 7.3 – ניתוח Discriminant Analysis (DA) ל-22 חומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון ליינות בכרם קשת – בציר 2015:



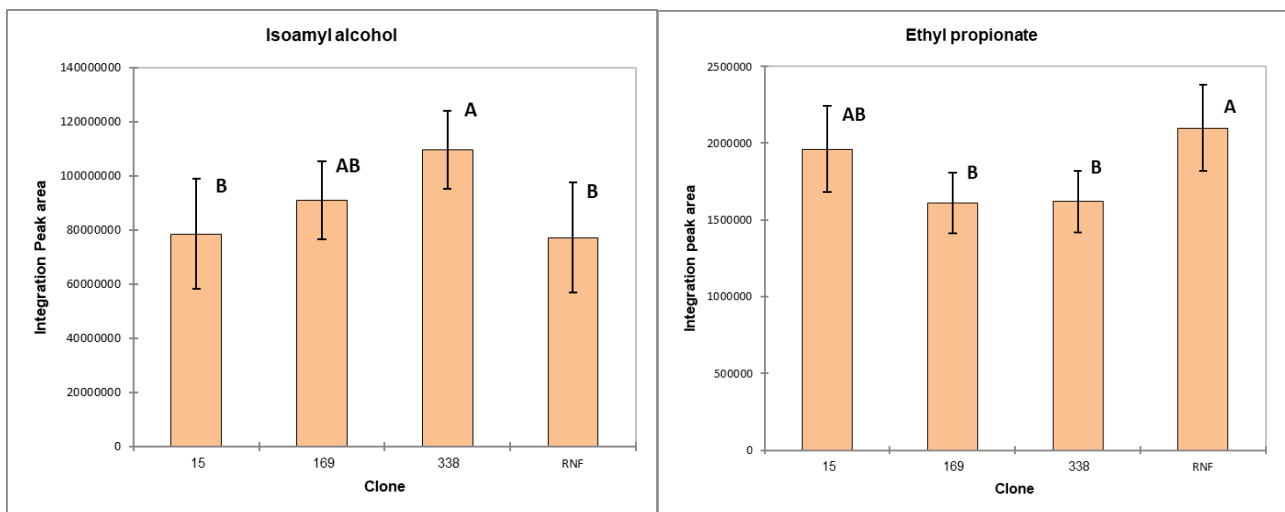
בניתוח מבחין – Discriminant analysis של נתוני אנליזת ה- GCMS שנבדקו, קיימת התקבצות מובהקת של הנתונים סביב המשתנה התלוי (במקרה זה, הקלונים השונים) - הקורלציה בין המשתנים מראה שונות בין הקלונים בתוך תחום חלקת כרם יחידני.

איור 7.4 – ניתוח Discriminant Analysis (DA) ל-22 חומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון ליינות בכרם גבעת ישעיהו – בציר 2015:



בניתוח מבחין – Discriminant analysis של נתוני הטעם שנבדקו, קיימת התקבצות מובהקת של הנתונים סביב המשתנה התלוי (במקרה זה, הקלונים השונים) - הקורלציה בין המשתנים מראה שונות בין הקלונים בתוך תחום חלקת כרם יחידני.

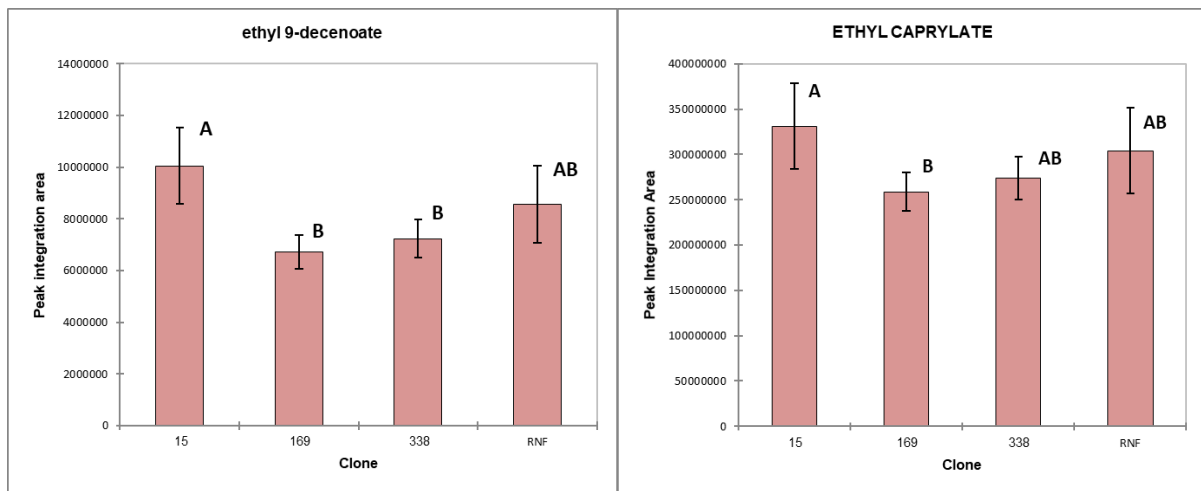
איורים 7.5.1 – 7.5.2 – הבדלים אשר נמצאו מובהקים בחומרי ארומה ע"פ אנליזת HS-SPME-GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון ליינות בכרם גבעת ישעיהו – בציר 2015:



טבלה 6.2 – מאפייני חומרי ארומה (סף זיהוי ותיאורים) אשר כבעלי תרומה משמעותית להבדלים בין הקלונים השונים בתחום כרם יחידי – גבעת ישעיהו – בציר 2015.

Compound	Synonym	Odor TH (mg/L)	Aroma Description
Ethyl Propionate		8.1	Pungent, Soy
Isoamyl Alcohol		30	Solvent

איורים 7.5.3 – 7.5.4 – הבדלים מובהקים אשר נמצאו בחומרי ארומה פרטניים ע"פ אנליזת HS-SPME GCMS בהתפלגות ע"פ הקלונים השונים מהזן קברנה סוביניון ליינות בכרם קשת – בציר 2015:



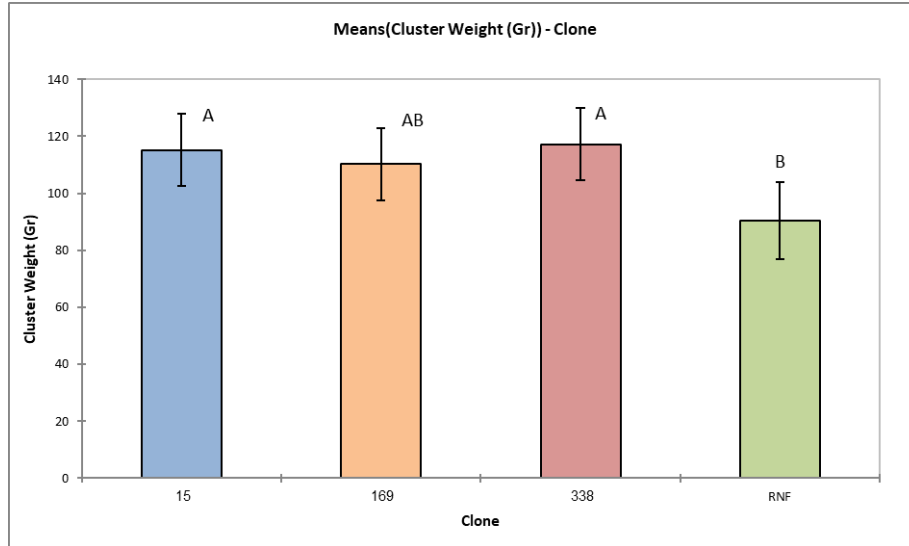
טבלה 6.3 – מאפייני חומרי ארומה (סף זיהוי ותיאורים) אשר כבעלי תרומה משמעותית להבדלים בין הקלונים השונים בתחום כרם יחידי – קשת – בציר 2015.

Compound	Synonym	Odor TH (mg/L)	Aroma Description
Ethyl Caprylate	Ethyl Octanoate	0.58	Floral, sweet
Ethyl-9-Decenoate		0.1	Brandy, grapes

5.5 – תוצאות השוואת נתונים פנולוגיים בין הקלונים השונים:

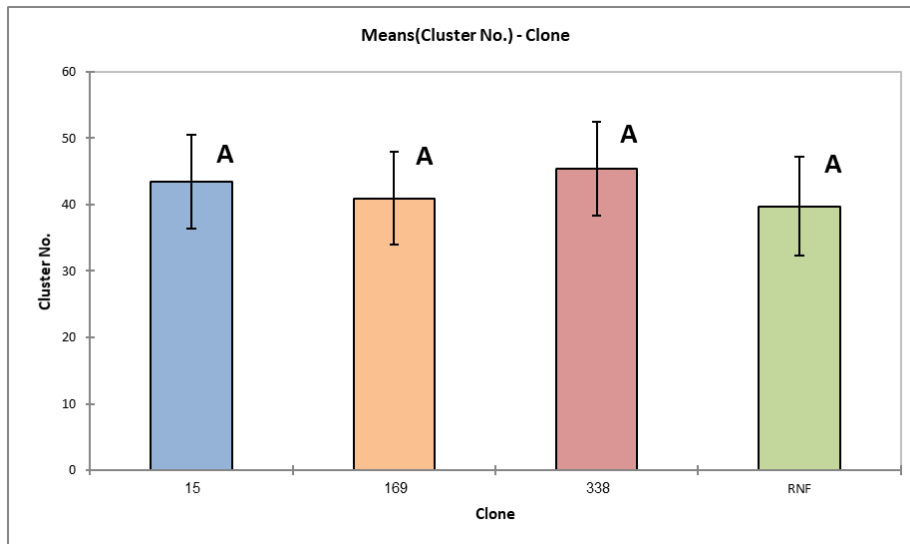
כלל הנתונים המוצגים באדיבות מו"פ צפון.

איור 8.1 – הבדלים בממוצעי משקל אשכול במועד הבציר בין ארבעת הקלונים בין כלל חלקות הניסוי:



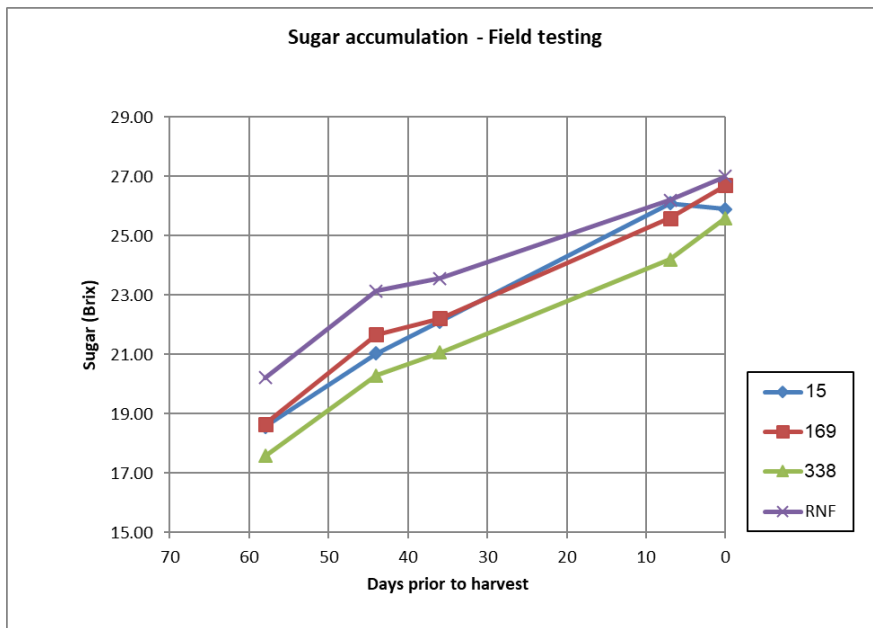
בניתוח סטטיסטי של ממוצעי משקל אשכול ניתן לראות כי בקלון "רמות נפתלי" משקל האשכול הממוצע נמוך באופן מובהק מהקלונים האחרים, כאשר בין שלושת הקלונים 15, 169 ו-338 לא נצפו הבדלים.

איור 8.2 – הבדלים בממוצעי מספר אשכולות לגפן במועד הבציר בין ארבעת הקלונים בין כלל חלקות הניסוי:



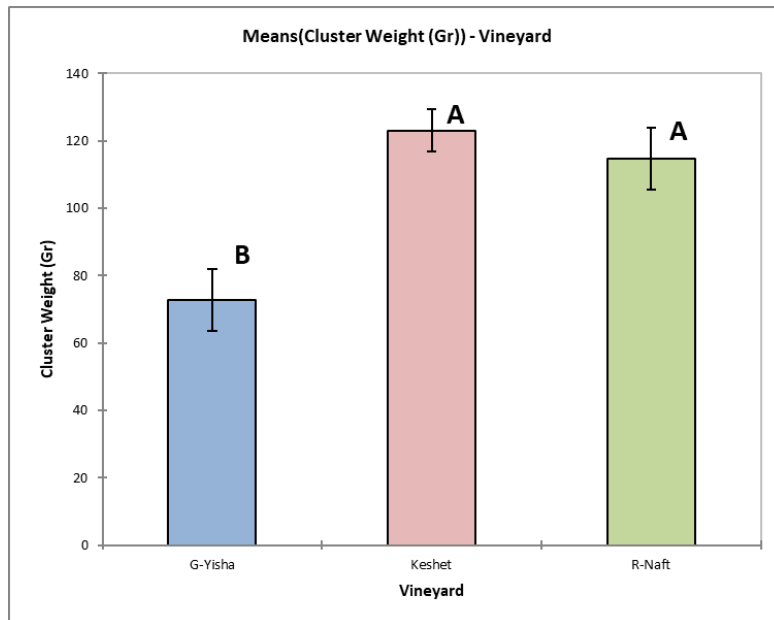
בניתוח סטטיסטי של מספר אשכולות לגפן ניתן לראות כי לא קיים הבדל מובהק בין הקלונים השונים בניסוי.

איור 8.3 – נתוני מעקבי הבשלה (צבירת סוכר) בין הקלונים השונים בכרם קשת, בציר 2014:



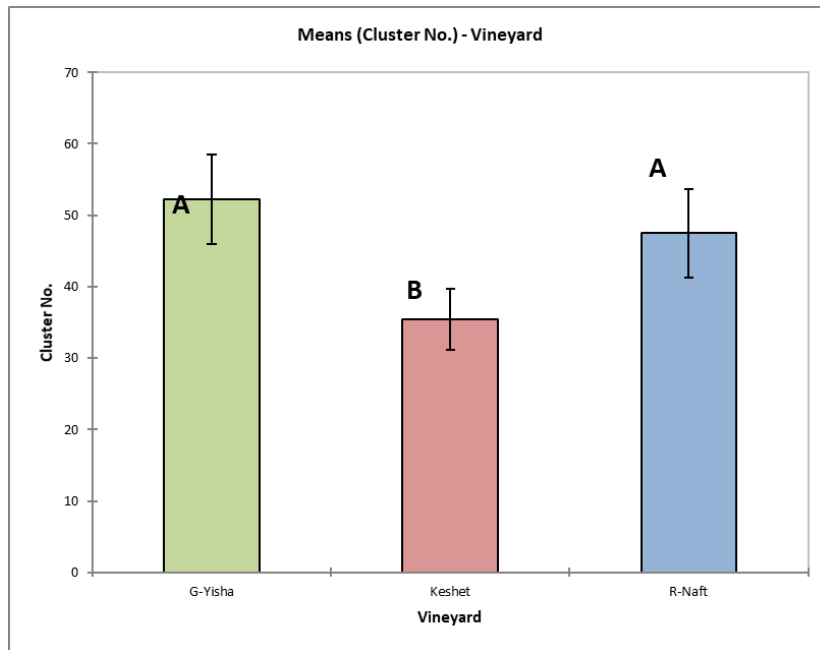
במעקבי ההבשלה אשר נערכו בחלקת קשת בשנת 2014 ניתן לראות כי קלון "338" התאפיין בקצב צבירת סוכר איטי יותר משלושת הקלונים האחרים. בחלקות האחרות שנבדקו (הנתונים אינם מוצגים) נראתה מגמה דומה.

איור 8.4 – ממוצעי משקל אשכול במועד הבציר בחלקות הניסוי השונות:



בניתוח סטטיסטי של ממוצעי משקל אשכול ניתן לראות כי בחלקת גבעת ישעיהו משקל האשכול הממוצע נמוך באופן מובהק מהחלקות האחרים, כאשר בין שתי החלקות האחרות לא נצפו הבדלים.

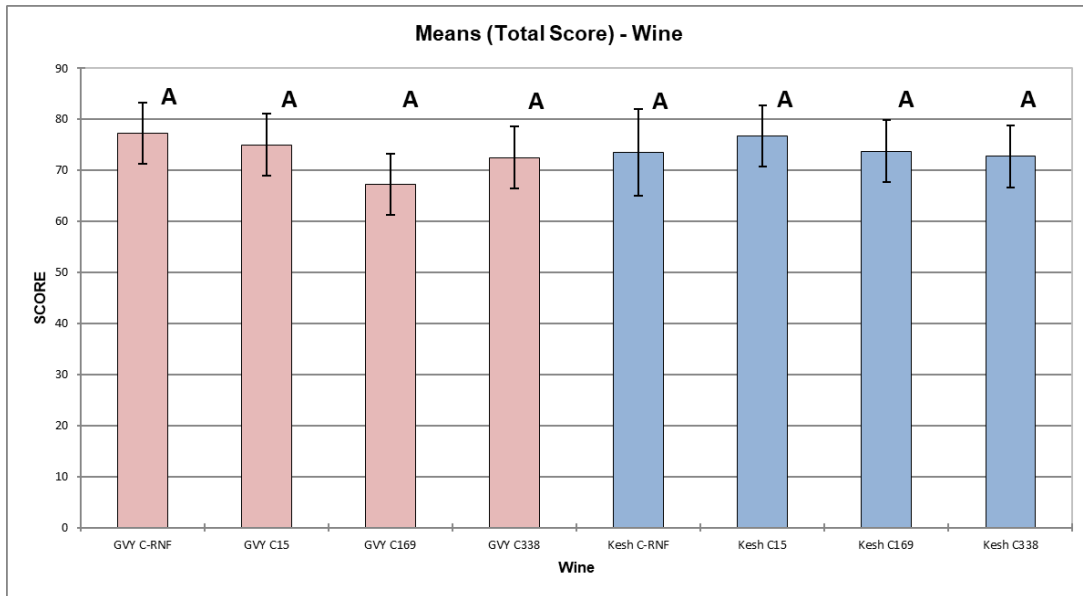
איור 8.5 – ממוצעי מספר אשכולות לגפן במועד הבציר בחלקות הניסוי השונות:



בניתוח סטטיסטי של ממוצעי מספר אשכולות לגפן במועד הבציר ניתן לראות כי בחלקת קשת מספר האשכולות הממוצע נמוך באופן מובהק מהחלקות האחרות, כאשר בין שתי החלקות האחרות לא נצפו הבדלים.

5.6 – תוצאות מבחני טעימה (אנליזה חושית):

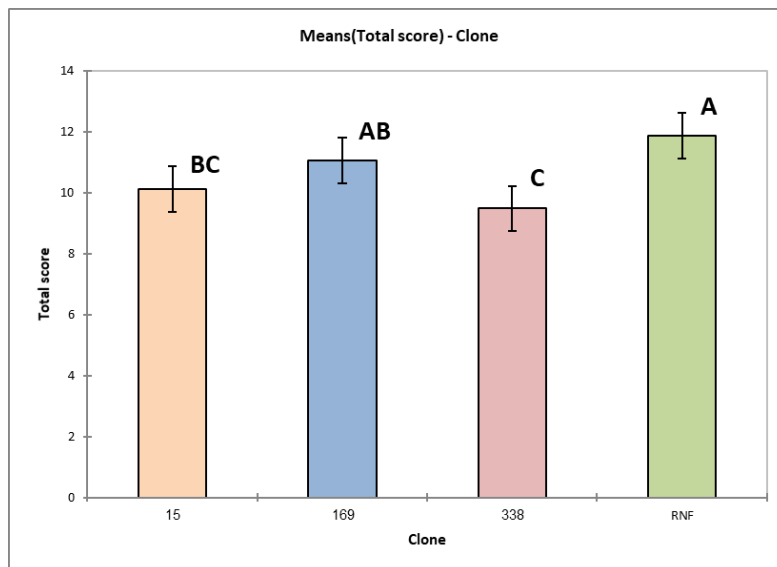
איור 9.1 – תוצאות מבחן טעימה לציון איכות כללי בהתפלגות ע"פ קלונים ביינות מכרמי קשת (רמת הגולן, בציר 2015) וגבעת ישעיהו (עמק האלה, בציר 2015).



איור 9.1 – מבדקי טעימה עיוורים בוצעו ע"י צוות ייננים של יקב רמת הגולן (n=6) דירוג היינות בוצע בסקאלה של 100 נקודות ע"פ פרוטוקול פנימי של היקב.

ניתן לראות שלא נמצא הבדל מובהק באיכות היין בין היינות שיוצרו מכרם קשת ברמה"ג לבין היינות שיוצרו מכרם גבעת ישעיהו וכן לא נמצאו הבדלים מובהקים באיכות בין הקלונים השונים.

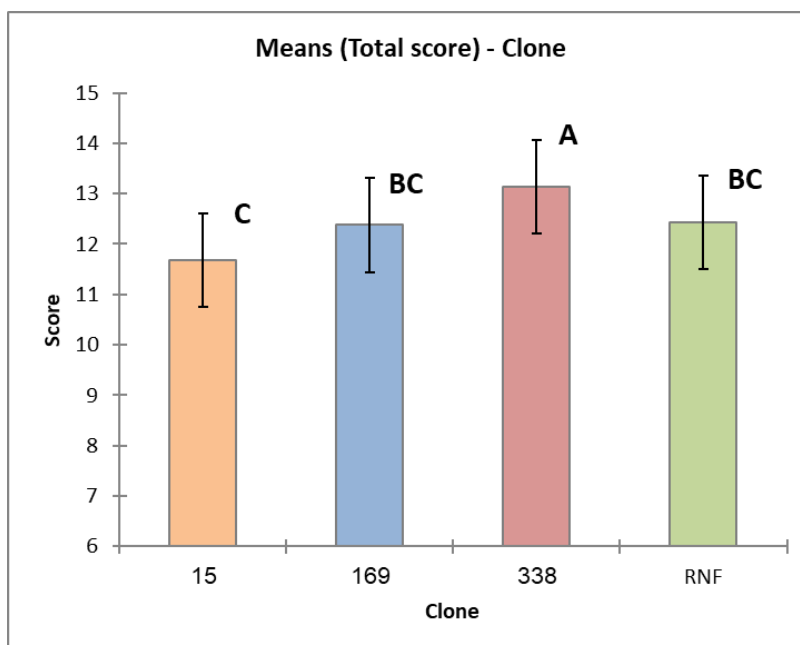
איור 9.2 – תוצאות מבחן טעימה בהתפלגות ע"פ קלונים ביינות מכרם קשת (רמת הגולן, בציר 2014).



איור 9.2 - מבדקי טעימה עיוורים בוצעו ע"י צוות טועמים לא מקצועי המוגדר כחובבי יין (n=12) הטועמים דירגו את היינות לפי מידת העדפה ע"פ פרוטוקול טעימה DAVIS בסקאלה של 20 נקודות.

בניתוח סטטיסטי של תוצאות טעימת היינות מכרם קשת – בציר 2014 נמצא כי קיימת העדפה לקלונים "רמות נפתלי" ו-169 (קבוצה A) הקלונים אשר דורגו נמוך יותר (קבוצה C) הינם קלון 15 ו-338.

איור 9.3 – תוצאות מבחן טעימה בהתפלגות ע"פ קלונים ביינות מכרם רמות נפתלי (גליל עליון, בציר 2013).



איור 9.3 - מבדקי טעימה עיוורים בוצעו ע"י צוות טועמים לא מעורב המשלב יינים וחובבי יין (n=7) הטועמים דירגו את היינות לפי מידת העדפה ע"פ פרוטוקול טעימה DAVIS בסקאלה של 20 נקודות.

בניתוח סטטיסטי של תוצאות טעימת יינות כרם רמות נפתלי בבציר 2013 נמצאה העדפה מובהקת לקלון 338, בין יתר הקלונים שנבדקו בניסוי לא נמצאה העדפה.

מאחר ומבחני הטעימה היו שונים מבחינת צוות הטועמים ואופי ביצועם קיים קושי לניתוח סטטיסטי של כלל התוצאות. לכן, נבנה מדרג העדפה כללי של היינות בכל טעימה בהתאם למובהקות סטטיסטית פרטנית. יין שקיבל את הציון הגבוה ביותר באופן מובהק במבחן הטעימה זכה לציון 3, יין שדורג הנמוך ביותר זכה לציון 1 ויין שהשיג את תוצאת הביניים זכה לציון 2. סיכום הדירוגים מופיעים בטבלה 7.1.

טבלה 7.1 – סיכום דירוג העדפה בהתפלגות לארבעת הקלונים לכלל מבחני הטעימה אשר נערכו במסגרת הניסוי:

קלון 15	קלון 169	קלון 338	קלון RNF	טעימה
3	3	3	3	קשת + גבעת ישעיהו 2015
2	2	1	3	קשת 2014
1	2	3	2	רמות נפתלי 2013 – אוהלו
2	2	3	3	רמות נפתלי 2013 – רמה"ג
8	9	10	11	ציון דירוג כולל

בדירוג הדוניסטי כללי, ניתן לראות כי ישנה העדפה (לא סטטיסטית) לקלונים "רמות נפתלי" ו-338 על פני הקלונים 15 ו-169.

6.1 – טכניקות האנליזה בניסוי:

במהלך בחינת ההבדלים בין ארבעת הקלונים השונים אשר השתתפו בניסוי, נעשה שימוש במגוון של טכניקות אנליזה כימית ואנליזה חושית אשר משלבות שיטות מסורתיות המלוות את תעשיית היין במשך שנים רבות ושיטות חדשניות הנמצאות כיום בשלבי בדיקה כגון אנליזות האף האלקטרוני והלשון האלקטרונית.

אנליזה חושית Sensory analysis: טכניקה זו הינה הוותיקה ביותר מכלל שיטות האנליזה בניסוי ומלווה את תעשיית היין במשך אלפי שנים, מאחר ואנליזה זו עושה שימוש במעריכים אנושיים לקביעת איכות היין היא נתונה למגוון של מגבלות כגון עייפות, שעמום, ציפייה והרגל. בראשם של יתרונות השיטה עומדת העובדה כי בבחינה של מוצר מזון, היא יוצרת תמונה שלמה של חווית הצריכה כפי שנתפסת ע"י המערכת החושית האנושית.

מאחר ויין מהווה מוצר דינמי אשר כתוצאה מתהליכים כימיים (בעיקרם חמצון) משתנות תכונות הטעם והארומה שלו, קיימת חשיבות לאחידות של פרקי הזמן העוברים מזמן הבציר ועד מועד ביצוע הטעימה. עובדה זו יצרה קשיים לוגיסטיים במסגרת הזמן אשר הוקצבה לניסוי ולאור העובדה שהינות שנבחנו מקורם ב-3 שנות בציר עוקבות.

חוסר אחידות בסוג המבחן אשר בוצע בין הטעימות השונות וכן קבוצות טועמים בעלות אופי שונה (טבלה 3.6.1) יצרו קשיים בניתוח סטטיסטי של התוצאות ופירושו, כתוצאה מכך קיים קושי בביצוע של ניתוח השוואתי בצורה רוחבית (בין חלקות הכרם השונות) ובצורה אורכית (בין שנות בציר שונות). מפרשנות הדוניסטית של התוצאות (טבלה 7.1) ניתן להסיק כי במרבית הטעימות (איורים 9.1 עד 9.3) הייתה העדפה מסוימת לקלון "רמות נפתלי" ולקלון 338, כאשר קלון 15 הציג העדפה נמוכה יותר במבחני הטעימה.

אנליזת פוליפנולים ופיגמנטים:

בשלבי הניסוי הראשונים נערכה אנליזת של טאנינים ופיגמנטים פולימריים ע"פ השיטה המתוארת ע"י Harbertson et al (2003), טכניקה זו התגלתה כמסורבלת ובעלת רמת רגישות נמוכה מהנדרש להשוואה בין היינות (איור 4.1). בשיטה זו לא נמצאו הבדלים מובהקים בין הקלונים בריכוזי הטאנינים, פיגמנטים ואנטוציאן (איור 4.1).

בהמשך הניסוי נעשה שימוש באנליזה לקביעת ריכוז טאנינים בשיטת MCP (השקעה ע"י מתיל-צלולוז) כמתואר ע"י Sarneckis et al (2006), בדיקה זו נמצאה אמינה ופשוטה יותר לביצוע ובוצעה במקביל לבדיקת צבע ספקטרופוטומטרית ע"י סיכום יחידות בליעה באורכי גל של 520 ו-420 ננומטר. בשלב זה של הניסוי בוצעה אנליזה רק ליינות מכרם קשת וכרם גבעת ישעיהו בשל מחסור בדוגמאות מהיינות האחרים.

תוצאות אנליזה בשיטת MCP הראו כי לא קיימים הבדלים מובהקים בריכוזי הטאנינים או בעוצמת הצבע בין ארבעת הקלונים שנבדקו בניסוי (איור 4.2), אך עם זאת, נראה הבדל מובהק בריכוזי הטאנינים בין חלקת גבעת ישעיהו – ממוצע של 1124 מ"ג לליטר CE לעומת חלקת קשת בה נמדד ממוצע נמוך יותר של 860 מ"ג לליטר CE.

אנליזה באמצעות לשון אלקטרונית:

אנליזה באמצעות לשון אלקטרונית בוצעה לכלל היינות בניסוי (n=64) ב-2 חזרות ע"י מכשיר מדגם Insent SA402B. בהשוואה בין הקלונים אשר מאגדת את כלל התוצאות (3 קלונים, 3 חלקות כרם, 2 חזרות) לא נמצאו הבדלים מובהקים בין ארבעת הקלונים השונים (טבלה 5.1, איור 5.2) בפרמטרים הנבדקים ע"י הלשון האלקטרונית: חמיצות, עפיצות וטעם שיורי (aftertaste). בנוסף, בניתוחים סטטיסטיים בתוך תחום כרם יחידני (הנתונים אינם מוצגים) לא נמצאו הבדלים מובהקים בין הקלונים השונים, עובדה אשר נתמכת באופן חלקי על ידי מבחני הטעימה שבוצעו אשר לא מציגים במרבית המקרים הבדל משמעותי בין הקלונים. בניתוחים נוספים אשר נערכו לתוצאות הבדיקה, נמצא כי לעומת זאת, בהשוואה בין חלקות הכרם השונות (רמות נפתלי, קשת וגבעת ישעיהו) קיימים הבדלים מובהקים במרבית הפרמטרים של הטעם (איורים 5.1 ו-5.3, טבלה 5.2) בדגש על נתוני מריחות ועפיצות, בהם נמצאו ההבדלים הגבוהים ביותר.

מבין מגוון שיטות הבדיקה אשר שימשו בניסוי, הלשון האלקטרונית הינה טכניקה אשר מתימרת ליצור הדמיה של חוש הטעם האנושי, וכתוצאה מכך לאנליזה זו פוטנציאל לניתוח של הקשר בין תכונותיו הכימיות של מוצר לבין התפיסה החושית הנוצרת כתוצאה מאותם מאפיינים. יחד עם זאת, קיים כיום מידע מוגבל בנוגע לשימוש בלשון האלקטרונית באפליקציה של יין אשר מהווה מוצר מזון מורכב מאוד אשר קיימות בו השפעות הדדיות של קבוצות החומרים הכימיים השונים על תפיסת הטעם וכנגזרת מכך על תפיסת האיכות. השפעות "מטריצה" אלו אינן נמדדות ע"י מערכת הלשון האלקטרונית ולכן נוצר קושי ביצירת קשר ישיר בין המדידות לבין מאפייני הטעם השונים. הידע הקיים כיום בתחום האנליזה של יין ע"י לשון אלקטרונית הינו מוגבל מאוד, ונדרשת עבודה רבה בתחום על מנת לנתח את ההשלכות של ההרכב הכימי על המדידות המבוצעות ע"י המכשיר. כתוצר של אופי הנתונים המתקבלים בשיטה זו ומידת הרגישות אשר נצפתה ניתן להסיק כי קיימות אפשרויות רבות הגלומות בשימוש באנליזות מסוג זה בתעשיית המזון, בדגש על אפליקציות בהן נדרש לבצע התאמה, מודיפיקציה או חיקוי של מוצרים קיימים על ידי יצירת פרופיל טעם רצוי.

אנליזה באמצעות אף אלקטרוני:

האנליזה באמצעות האף האלקטרוני הינה שיטה חדשנית אשר נועדה ליצירה של "טביעת אצבע" לפרופיל של חומרים נדיפים או לזיהוי של חומר מסוים ע"פ מאפיינים אלו.

באנליזה באמצעות האף האלקטרוני, לא נצפו הבדלים מובהקים בין הקלונים השונים (איור 6.1), לעומת זאת, בניתוח מבחין של נתוני שתי החלקות שנבדקו (קשת + גבעת ישעיהו – בציר 2015) נראים הבדלים מובהקים בפרופיל הנתונים בין החלקות – איור 6.2.

לשימוש במכשור מסוג זה, המשמש כיום באופן נרחב למגוון אפליקציות בתחומי איכות הסביבה, ביטחון ובטיחות, נראה כי ישנו פוטנציאל במספר שימושים מעשיים בתעשיית היין, בדגש על:

א. זיהוי של זיופים / חיקויים ביין.

ב. איתור של פגמים / זיהומים ביינות שונים.

קיים קושי בשימוש באף האלקטרוני ככלי אנליטי ביין, מאחר וכנגזרת משיטת הפעולה שלו, מתקבלת קריאה ממספר מצומצם של חיישנים בלבד וזאת מבלי שמתבצע זיהוי ספציפי של אותם החומרים.

אנליזה באמצעות HS-SPME-GCMS:

בניתוח מבחין של תוצאות אנליזת חומרי ארומה בשיטת GCMS-SPME-HS לכלל יינות הניסוי (n=64), לא נראו הבדלים מובהקים בנוכחות חומרי ארומה בין ארבעת הקלונים השונים (איור 7.1), לעומת זאת, ניתוח אשר בוצע לאותה סדרת הנתונים בשינוי של המשתנה התלוי לחלקות הכרם השונות, מציג שונות מובהקת בין החלקות השונות (איור 7.2), ניתוח סטטיסטי של הנתונים ע"י ביצוע ANOVA הראה הבדלים מובהקים בין ממוצעי האינטגרציה של חומרי הארומה ב- 14 חומרים שונים (טבלה 6.1). תוצאות אילו הן בעלות אופי דומה לתוצאות אשר התקבלו בניתוחים של אנליזות אשר בוצעו ע"י האף האלקטרוני והלשון האלקטרונית אשר הראו מובהקות בהבדלים בין חלקות הכרם השונות.

באופן ייחודי לאנליזה זו, כאשר בוצע ניתוח סטטיסטי להשוואה בין הקלונים השונים בתוך תחום של חלקה

יחידנית, נראו מספר הבדלים מובהקים בין חומרי הארומה:

איורים 7.5.1-7.5.2 – כרם גבעת ישעיהו, בציר 2015.

איורים 7.5.3-7.5.4 – כרם קשת, בציר 2015.

יחד עם זאת, חומרי הארומה אשר נמצאו בהם הבדלים פרטניים בתוך תחומי החלקות (טבלאות 6.2 ו-6.3)

אינם משותפים לחלקות השונות.

מכלל שיטות הבדיקה אשר שימשו לאנליזה של היינות בניסוי, הראתה שיטה זו את הרגישות הגבוהה ביותר

בניתוח של חומרי הארומה ביין ושימוש בה אפשר השוואה בין כ-24 חומרים נדיפים שונים המזוהים עם

ארומה של יין (טבלה 6).

כתוצאה מאופייה של שיטת SPME אשר מבוססת על קישור תחרותי של חומרי הארומה לפאזה הנייחת

(הסיב עצמו), במדיה מורכבת כדוגמת היין אשר מכיל מאות רבות של חומרים נדיפים קיים קושי בכימות

מדויק של ריכוזי חומרי הארומה הספציפיים ולכן בוצע ניתוח השוואתי אשר מבוסס על נתוני האינטגרציה

אשר תועדו לכל חומר, שיטת אנליזה זו, אפשרה השוואה יחסית בין הקלונים והחלקות השונות ויכולה לשמש בסיס לביצוע של אנליזה מכוונת של חומרים ספציפיים.

ראוי לציין כי בהשוואה לשיטות האנליזה האחרות, כדוגמת האף האלקטרוני והלשון האלקטרוני, היקף הדרישות לביצוע אנליזה זו בהיבטים של זמן, ידע ומשאבים הינו גדול משמעותית, אך אם זאת, בביצוע של השוואה בין קלונים שונים, אשר באופן אינהרנטי קיים בניהם דמיון רב, הציגה שיטת בדיקה זו פוטנציאל גדול יחסית להמשך פיתוח המחקר בתחום.

6.2 – הבדלים במאפייני היינות בהתפלגות על פי הקלונים השונים:

בניתוח התוצאות של מרבית האנליזות אשר בוצעו ליינות, במגוון של שיטות שונות ניתן לראות כי לא נמצאו הבדלים מובהקים בין הקלונים בצורה אחידה לאורך (שלושת שנות הבציר) ולרוחב חלקות הכרם השונות. על פי המידע אשר נסקר בפרק 2.8, כתוצאה מהקרבה הגנטית הכמעט מוחלטת וידע גנומי מוגבל העוסק בהבדלים בין הקלונים וכן ידע אשר הצטבר במשך כ- 70 שנים בלבד, המבוסס בעיקרו על תצפיות מקומיות של התנהגות פנולוגית, קיימים כיום פערים רבים במידע העוסק באפיון של הקלונים השונים מכל זן. שילוב של תוצאות מבחני הטעימה השונים אשר בוצעו, האנליזות הכימיות השונות וכן מרבית הנתונים הפנולוגיים אשר נאספו בכרמים ע"י צוות מו"פ צפון לאורך הניסוי (הנתונים אינם מוצגים) מראה כי במקרה זה, בו נבחנו 4 קלונים הקיימים בישראל מהזן קברנה סובינון, קיים קושי לקשר בין הרכבו הכימי ואיכותו של היין לבין מקורו מהקלונים השונים.

באנליזה מסוג HS-SPME-GCMS נראו הבדלים מובהקים בין מספר חומרי ארומה בודדים ביינות מהקלונים השונים, אך זאת רק בתחום של חלקת ניסוי יחידנית, עובדה המקשה על פרשנות התוצאות מאחר וחומרי ארומה אלו (טבלאות 6.2 ו-6.3) אינם אחידים בצורה רוחבית בין אתרי הניסוי השונים.

6.3 – הבדלים במאפייני היינות בהתפלגות על פי חלקות הכרם השונות:

בכל שיטות האנליזה השונות אשר בוצעו במהלך העבודה נצפו הבדלים מובהקים בפרמטרים הכימיים השונים אשר נמדדו בהשוואה בין חלקות הכרם השונות. כאשר השפעתו של אזור הגידול על ההבדלים בין היינות השונים מתועדת היטב לאורך מאות שנים ומעוגנת במושג המקובל בעולם היין של TERROIR אשר נסקר בפרק 2.3 ומתאר את הביטוי של השפעת נתוני הסביבה הפיזיים, הביולוגיים והשילוב בניהם על איכותו של היין, ניתן לצפות לתוצאות המעידות על הבדלים בין אזורי הגידול. יחד עם זאת, בישראל, אשר מהווה אזור גידול "קטן" יחסית קיים מידע מחקרי מוגבל על השפעתו של אזור הגידול על איכות היין ומידת ההבדלים אשר תועדו במהלך העבודה הייתה גבוהה מהצפוי, גם בתאי שטח קרובים יחסית מבחינה גיאוגרפית כגון צפון רמת הגולן (קשת) והגליל העליון (רמות נפתלי). כלל הנתונים אשר תועדו במהלך העבודה מראים כי גם בתנאי ניסוי מבוקרים (טיפול אגרוטכני אחיד לרוחב כלל אתרי הניסוי) קיימים הבדלים מובהקים הנובעים ככל הנראה מהבדלי הקרקע והאקלים בין חלקות הניסוי השונות.

6.4 – נתונים פנולוגיים ומעקבי הבשלה:

הנתונים אשר תועדו בחלקות השונות ע"י צוות מו"פ צפון לא הראו ברובם הבדלים פנולוגיים מובהקים בין הקלונים השונים במרבית הפרמטרים שנבחנו כגון: מועד לבלוב, מספר שריגים ומספר אשכולות. במעקבי הבשלה אשר בוצעו (איור 8.3), נראה כי לקלון 338 קצב הבשלה (צבירת סוכר) איטי יותר משלושת הקלונים האחרים, לנתון זה בפני עצמו אין בהכרח השפעה ישירה על איכות היין, אך עם זאת, עבור יקבים הוא מהווה שיקול בבחירה של זנים וקלונים לנטיעה מאחר והינו בעל השלכות על תכנון הבציר ותכנית הקליטה של היקב.

נתוני קבלת הענבים במועד הבציר מראים כי משקל האשכול בקלון "רמות נפתלי" נמוך באופן מובהק מהקלונים האחרים (איור 8.1), מאחר ולא נראו הבדלים בנתוני מספר האשכולות הממוצע לגפן (איור 8.2), ניתן להסיק כי משקל האשכול הנמוך נובע בהכרח מגודל גרגר קטן יותר, תכונה הנתפסת לרוב כבעלת השפעה חיובית על איכותו של היין.

בבחינת הנתונים בהשוואה בין אתרי הניסוי השונים, נראה כי גם במקרה זה, קיימים הבדלים מובהקים במשקל האשכול (איור 8.4) ובמספר האשכולות לגפן (איור 8.5) הנובעים ככל הנראה מהבדלי קרקע / אקלים בין החלקות.

7. סיכום:

במבחינה אנליזה חושית של דירוג העדפה (affective) לבחינה של איכות היינות אשר התקבלו מהקלונים השונים של הזן קברנה סוביניון נראה כי בטעימות השונות אשר בוצעו הייתה העדפה מסוימת לקלונים 338 ו-"רמות נפתלי", אולם קיים קושי בניתוח סטטיסטי השוואתי הנובע מביצוע הטעימות במועדים שונים, שיטות שונות וקבוצות טעימה מגוונות. מבחינה אנליזה החושית בשל מגבלות השיטה, לא אפשרו השוואה רחבת בין חלקות או אורכית בין שנות בציר שונות.

תוצאות האנליזה הכימית אשר בוצעה במסגרת העבודה מראות כי ישנם הבדלים בין ארבעת הקלונים אשר נבדקו בדגש על ניתוח של חומרי ארומה ספציפיים בשיטת HS-SPME-GC MS, אך עם זאת, אותם הבדלים בין הקלונים נצפו באופן מובהק בתוך תחום של חלקת כרם יחידנית ולא באופן אחיד לרוחב אתרי הניסוי השונים.

הנתונים המראים הבדלים בנתוני הצימוח של הגפן והבדלים כימיים בין היינות המתקבלים מהקלונים השונים בתוך תחום אתר ספציפי רומזים על מורכבותם של ההבדלים הגנטיים במסלולים ביוכימיים שונים המושפעים מתנאי הקרקע והאקלים. מאחר והידע הגנטי הקיים בנושא זנים וקלונים של הגפן האירופאית מוגבל, נדרש מחקר רב בתחום על מנת למפות את המוטציות השונות והשפעתן על גידול הגפן, מאפייני הפרי המתקבל ואיכות היין הנגזרת מכך.

באופן אחיד לאורך הניסוי, בביצוע אנליזה באמצעות אף אלקטרוני, לשון אלקטרונית, HS-SPME-GC MS ואנליזה כימית, נראו הבדלים מובהקים בפרמטרים השונים שנבחנו בין שלושת אתרי הניסוי השונים. מאחר ובמסגרת הניסוי קיבלו החלקות טיפול אגרוטכני אחיד והכנת היינות עצמם בוצעה באופן אחיד ומבוקר, נראה כי ההבדלים בין היינות מהחלקות השונות נובעים בעיקרם מנתוני הקרקע, אקלים ומזג האוויר בין האתרים השונים.

השפעות נתוני הסביבה על איכות היין הן בפני עצמן נושא המעסיק את עולם היין מזה מאות שנים ומעוגנות בתפיסת המונח "טרואר" (Terroir) המבטא את אותן ההשפעות על איכותו של היין ומהווה במספר אזורי גידול בעולם בסיס לקביעת איכותו כדוגמת שיטת Appellation d'Origine Contrôlée הנהוגה בצרפת. בישראל, המהווה אזור גידול "קטן" יחסית ויצרנית יין "צעירה" במונחי העולם הישן לא קיימת חלוקה גיאוגרפית ברורה לאזורי יין שונים, וההבדלים המובהקים אשר נצפו בין האתרים השונים מדגישים את הצורך בבחינה ופיתוח עתידיים של הנושא.

במסגרת העבודה נעשה שימוש בכלים אנליטיים מתקדמים, חלקם, בדגש על האף האלקטרוני והלשון האלקטרונית, בעלי תיעוד מוגבל של אפליקציה באנליזה של יין. הניסיון אשר נצבר במהלך המחקר סייע לשיפור ההבנה של האפשרויות והמגבלות ויכול להוות בסיס להמשך המחקר בתחום.

- Anderson, Kym, and Signe Nelgen. *Global wine markets, 1961 to 2009: a statistical compendium*. University of Adelaide Press, 2011.
- Bicchi, Carlo, et al. "Stir-bar sorptive extraction and headspace sorptive extraction: An overview." *LC GC North America* 27.5 (2009).
- Benz MJ, Anderson MM, Williams MA, Barnhisel K, Wolpert JA. Viticultural performance of five Merlot clones in Oakville, Napa Valley. *Am J Enol Vitic.* 2006;57(2):233-7.
- Bowers, John E., and Carole P. Meredith. "The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon." *Nature genetics* 16.1 (1997): 84-87.
- Boulton, Roger. "Red wine color-relating color to composition in young wines and predicting the color of aged wines." (2010).
- Boulton, Roger B., et al. *Principles and practices of winemaking*. Springer Science & Business Media, 2013.
- Buratti, S., et al. "Characterization and classification of Italian Barbera wines by using an electronic nose and an amperometric electronic tongue." *Analytica Chimica Acta* 525.1 (2004): 133-139.
- Cetó, Xavier, et al. "Instrumental measurement of wine sensory descriptors using a voltammetric electronic tongue." *Sensors and Actuators B: Chemical* 207 (2015): 1053-1059.
- Cicchetti, Domenic V., and Arnold F. Cicchetti. "Wine rating scales: Assessing their utility for producers, consumers, and oenologic researchers." *International Journal of Wine Research* 1 (2009): 73-83.
- Firestein, Stuart. "How the olfactory system makes sense of scents." *Nature* 413.6852 (2001): 211-218.
- Francis, I. L., and J. L. Newton. "Determining wine aroma from compositional data." *Australian Journal of Grape and Wine Research* 11.2 (2005): 114-126.
- Gatti M, Civardi S, Ferrari F, Fernandes N, van Zeller de Macedo Basto Gon, MI, Bavaresco L. Viticultural performances of different Cabernet Sauvignon Clones. X International Conference on Grapevine Breeding and Genetics 1046; ; 2010.
- Gladstones, John. *Viticulture and environment*. Winetitles, 1992.
- Ibern-Gómez, M., Andrés-Lacueva, C., Lamuela-Raventós, R. M., & Waterhouse, A. L. (2002). Rapid HPLC analysis of phenolic compounds in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(3), 218-221.
- Harbertson JF, Picciotto EA, Adams DO. Measurement of polymeric pigments in grape berry extract and wines using a protein precipitation assay combined with bisulfite bleaching. *Am J Enol Vitic.* 2003;54(4):301-6.
- Hernandez-Orte, Purificacion, et al. "Influence of viticulture practices on grape aroma precursors and their relation with wine aroma." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95.4 (2015): 688-701
- Hinshaw, John V. "Solid-phase microextraction." *LC GC EUROPE* 16.12 (2003): 803-807.
- Iland P. Chemical analysis of grapes and wine. Patrick Iland Wine Promotions PTYLTD; 2004.
- Jackson RS. Wine tasting: a professional handbook. Academic Press; 2009.
- Kennedy, James. "Understanding grape berry development." *Practical Winery & Vineyard* 4 (2002): 1-5.

- Kennedy, James A., Mark A. Matthews, and Andrew L. Waterhouse. "Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids." *American Journal of Enology and Viticulture* 53.4 (2002): 268-274.
- Kennedy, James A., Cédric Saucier, and Yves Glories. "Grape and wine phenolics: history and perspective." *American Journal of Enology and Viticulture* 57.3 (2006): 239-248.
- Kennedy, James A. "Grape and wine phenolics: Observations and recent findings." *Ciencia e investigación agraria* 35.2 (2008): 107-120.
- Laaks J, Letzel T, Schmidt TC, Jochmann MA. Fingerprinting of red wine by headspace solid-phase dynamic extraction of volatile constituents. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2012;403(8):2429-36.
- Lawless HT, Heymann H. *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Springer Science & Business Media; 2010.
- Lybbert TJ, Barrett CB, Narjisse H. Market-based conservation and local benefits: the case of argan oil in Morocco. *Ecol Econ*. 2002;41(1):125-44.
- Moncada, Ximena, et al. "Genetic diversity and geographical dispersal in grapevine clones revealed by microsatellite markers." *Genome* 49.11 (2006): 1459-1472.
- Muñoz-González C, Rodríguez-Bencomo JJ, Moreno-Arribas MV, Pozo-Bayón MÁ. Beyond the characterization of wine aroma compounds: looking for analytical approaches in trying to understand aroma perception during wine consumption. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2011;401(5):1497-512.
- Ough, C. S., and W. A. Winton. "An evaluation of the Davis wine-score card and individual expert panel members." *American Journal of Enology and Viticulture* 27.3 (1976): 136-144.
- Panighel A, Flamini R. Applications of Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (SPME-GC/MS) in the Study of Grape and Wine Volatile Compounds. *Molecules*. 2014;19(12):21291-309.
- Robinson, Anthony L., et al. "Influence of yeast strain, canopy management, and site on the volatile composition and sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines from Western Australia." *Journal of agricultural and food chemistry* 59.7 (2011): 3273-3284.
- Robinson J, Harding J, Vouillamoz J. *Wine grapes: A complete guide to 1,368 vine varieties, including their origins and flavours*. Penguin UK; 2013.
- Roberts, Peter W., Tal Simons, and Anand Swaminathan. "Crossing a categorical boundary: the implications of switching from non-kosher wine production in the Israeli wine market." *Research in the Sociology of Organizations* 31 (2010): 153-173.
- Sagratini, Gianni, et al. "Comparative study of aroma profile and phenolic content of Montepulciano monovarietal red wines from the Marche and Abruzzo regions of Italy using HS-SPME-GC-MS and HPLC-MS." *Food Chemistry* 132.3 (2012): 1592-1599.
- Sarneckis, Caroline J., et al. "Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grape and wine analysis." *Australian Journal of Grape and Wine Research* 12.1 (2006): 39-49.
- Styger, Gustav, Bernard Prior, and Florian F. Bauer. "Wine flavor and aroma." *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 38.9 (2011): 1145.
- Swiegers J, Bartowsky E, Henschke P, Pretorius I. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of grape and wine research*. 2005;11(2):139.

Tao, Yongsheng, and Li Zhang. "Intensity prediction of typical aroma characters of cabernet sauvignon wine in Changli County (China)." *LWT-Food Science and Technology* 43.10 (2010): 1550-1556.

This P, Lacombe T, Thomas MR. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *TRENDS in Genetics*. 2006;22(9):511-9.

Tonietto, Jorge, and Alain Carbonneau. "A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide." *Agricultural and Forest Meteorology* 124.1 (2004): 81-97.

Ugliano, Maurizio, and Paul A. Henschke. "Yeasts and wine flavour." *Wine chemistry and biochemistry*. Springer New York, 2009. 313-392.

Van Leeuwen, Cornelis, et al. "Impact of clonal variability in *Vitis vinifera* Cabernet franc on grape composition, wine quality, leaf blade stilbene content, and downy mildew resistance." *Journal of agricultural and food chemistry* 61.1 (2012): 19-24.

Chemical and Organoleptic evaluation of wine quality from different clones of C.V Cabernet Sauvignon grown in Israel.

9. Abstract:

Wine grape variety is amongst the main factors influencing wine flavour, quality and consumer preference and therefore its market demand, in conjugation with modern global marketing and branding factors, it has become difficult for winemakers and grapegrowers to introduce new grapevine varieties and their derivative wines.

The solidity of existing common winegrape varieties has driven growers and oenologists for a search of new clones of popular varieties who individually differ in yields, ripening rates, resistance to disease, environmental conditions and ideally – wine quality.

With the introduction of new clones of C.V Cabernet Sauvignon to Israel during 2009, several test plots were planted within existing wine domains in order to characterize their viticultural and oenological properties and to match local growing demands and therefore, allow a rational approach in clonal selection prior to future plantings.

All test plot consisted of a 5-row structure, each containing 4 random repetitions of 10 vine blocks, each block representing a single clone. All test plots received identical agrotechnical treatments (uniform pruning, thinning and spraying regime) and each clone was individually harvested at a uniform ripeness based on fruit sugar levels. As part of the research a total of 64 Cabernet Sauvignon wines were made by micro-vinification from ENTAV-INRA® clones 338, 15 and 169 in addition to an unrecognized resident clone named "Ramot-Naftali" (abbr. "RNF"), grapes were harvested in 3 test plots located in the Upper Golan heights, Upper Galilee and Judean foothills.

During the course of this study, all wines were subjected to affective sensory evaluation by various tasting panels and were analyzed by a wide array of methods, including E-tongue, E-nose, HS-SPME-GC MS and chemical analysis of color and tannins.

Sensory evaluation results show some preference for the clones 338 and "RNF", however, this was not statistically significant.

Results of this study, show some differences in aroma compounds between clones within an individual test block, however, differences are not consistent horizontally across different vineyard blocks and vertically across vintage years.

Surprisingly, all chemical analysis results show significant differences between the 3 growing regions, indicating that soil, climate and weather factors, consisting the main part of the "Terroir" concept, overpower the clonal differences in influencing wine quality.