

Utjecaj solarizacije loze na sadržaj antocijana u mladim crnim vinima

Bernard KOZINA¹, Marko KAROGLAN¹, Luna MASLOV¹, Nika SILIĆ²

¹ Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska
(e-mail: bkozina@agr.hr)

²Riviera Orebić d.o.o., Bana Josipa Jelačića 3, 20250 Orebić, Hrvatska

Sažetak

Tehnika solarizacije vinove loze čija je osnovna namjena refleksija sunčevog svjetla uvelike utječe na promjenu temperaturnog režima i spektra osvjetljenja zone grožđa. Osnovni cilj bio je istražiti utjecaj solarizacije na sadržaj antocijana u mladim crnim vinima sorata Pinot crni, Merlot i Cabernet sauvignon u 2005. godini. Sadržaj antocijana mjeren je na HPLC-u. Solarizacija je utjecala na viši sadržaj ukupnih antocijana u vinima Merlota i Pinota crnog, ali i na niži sadržaj istih kod Cabernet sauvignona. Sadržaj malvidin-3-glukozida bio je niži u vinu od solariziranog grožđa Cabernet sauvignona. Solarizacija je najizraženije djelovala kod Merlota, utječući na značajno povećanu razinu 3-O-glukozida delphinidina i petunidina, te acetiliranih i kumariliranih formi malvidina i peonidina.

Ključne riječi: solarizacija, mlada crna vina, antocijani

Effect of the Grapevine Solarization Technique on the Anthocyanin Content in Young Red Wines

Abstract

The main purpose of grapevine solarization technique is reflection of sunlight into the grapes, and therefore changes in light spectrum and temperature can be noticed. Effect of solarization on the anthocyanin content in young red wines made with Pinot noir, Merlot and Cabernet sauvignon grapes was investigated in 2005. A HPLC procedure was used for the analysis of anthocyanins. Solarization technique caused higher anthocyanins content in Merlot and Pinot noir wines, but also led to a lesser anthocyanins content in Cabernet Sauvignon wines. The strongest solarization effect was observed on Merlot, which can be seen through higher content of 3-O-glucosides of delphinidine and petunidin, and acetylated and coumarylated forms of malvidine and peonidin.

Key words: solarization, young red wines, anthocyanins

Uvod

U cilju unaprijeđenja kakvoće grožđa i vina stalno se iskušavaju nove tehnike i tehnološki postupci. Jedna od novijih tehnika je i primjena specijalne reflektirajuće folije (VITEXSOL) koja u vinogradu mijenja režim i intenzitet osvjetljenja zone grožđa, čime se utječe na proces dozrijevanja, kako u smislu kretanja šećera i ukupnih kiselina, još i više u pogledu sinteze antocijanskih i aromatskih spojeva u grožđu. Osnovni princip djelovanja folije leži u činjenici da se na ovaj način u zonu grožđa reflektira minimum 20% više sunčeva svjetla i energije nego što je to uobičajeno (Sauvage i sur., 1998), te na taj način značajno unaprijeđuje

ukupnost fizioloških procesa loze (Robin i sur., 1996ab, Smart i sur. 1988). Sastoji se od aluminijskih listića koji mogu biti utkani vezivom različitih boja, o čemu će ovisiti spektar reflektiranog svjetla. Petogodišnjim istraživanjem na kultivaru Syrah pokazalo se da se primjenom folije temperatura zone grožđa prosječno uvećava za 1,5-2,0 °C, da se sadržaj šećera prosječno poveća 7-21 g/l, te da je obojenost vina u svim godinama bila značajno bolja u odnosu na kontrolu (Robin i sur., 1996c), što je potvrđeno i senzornim ocjenjivanjem. Ova tehnika se jednako primjenjuje i u proizvodnji stolnog grožđa, a značajno je napomenuti i pozitivno djelovanje na smanjenje pojave i intenziteta zaraze sivom plijesni (Sauvage i sur., 1998).

Antocijani su odgovorni za boju crnog grožđa i vina, i nisu prisutni u bijelom grožđu. Nalaze se prije svega u kožici bobice grozda, (iako su u manjoj količini prisutni i u mesu), a počinju se pojavljivati početkom šare grožđa te im sadržaj dalje raste do određenog stupnja zrelosti. Koncentracija antocijana u grožđu varira ovisno o kultivaru, stupnju zrelosti, klimatskim uvjetima, agroekološkom području, prinosu itd. Antocijani iz kožice bobice su uglavnom 3-O-glukozidi delfinidina, cijanidina, petunidina, peonidina i najvažnijeg malvidina, te u manjoj mjeri esteri octene i kumarilne i kava kiseline. Tijekom prerade grožđa ekstrahiraju se u vino i određuju u većoj ili manjoj mjeri njegovou boju. Obim ekstrakcije ovisi o temperaturi i trajanju fermentacije, te koncentraciji sumpornog dioksida i alkohola (Revilla i sur., 2001). Poznato je da doprinose i antioksidativnoj i vazodilacijskoj aktivnosti crnih vina (Burns i sur. 2000). Ujedno, antocijani su prepoznati kao kemijski spojevi pomoću kojih je moguće razlikovati pojedine sorte vinove loze i odrediti geografsko podrijetlo vina (de Villires i sur., 2004., Gambelli i Santaroni, 2004)

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi da li i na koji način zahvat solarizacije utječe na sadržaj antocijana u mladim vinima sorata Pinot crni, Cabernet sauvignon i Merlot, Zagrebačkog vinogorja, podregije Prigorje-Bilogora.

Materijali i metode

Pokus je postavljen 2005. godine na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu u Jazbini, po slučajnom bloknom rasporedu u 12 ponavljanja. Reflektirajuća folija crvenog plastičnog tkanja postavljena je na tlo, neposredno uz trsove sa obje strane reda u trenutku šare grožđa. Kao kontrolna varijanta poslužio je dio vinograda koji nije tretiran folijom, dakle bez solarizacije. U trenutku berbe pobrana masa grožđa obje varijanti podijeljena je na dva dijela kako bismo i vinifikaciju proveli u dva ponavljanja. Nakon muljanja i runjanja masulj je sulfitiran sa 100 ml/hl 5%-tne otopine K-metabisulfitu, te je nakon 24 sata pokrenuta fermentacija sojem kvasca *S. cerevisiae* BDX. Nakon 4 dana pristupilo se prešanju masulja ($p=2,5$ bar), a dobiveni mošt ostavljen je na doviranju u inox bačvama dok se razina neprevrelog šećera ne spusti ispod 4g/l (suho vino). Po završetku fermentacije vino je sulfitirano i uzeti su uzorci za analizu antocijana.

U ovom radu analizirani su pojedinačni antocijani tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti.

Za pripremu pokretnih faza korišteni su: acetonitril (CH_3CN) (*Mallinckordt Baker*, Deventer, Nizozemska), fosforna kiselina (H_3PO_4) i kalij-dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) kromatografske čistoće (*Merck*, Darmstadt, Njemačka). Standard malvidin-3-glukozida kupljen je od tvrtke *Extrasynthese* (Genay Cedex, Francuska).

Za određivanje pojedinačnih antocijana u vinu korišten je tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti proizvođača *Agilent* 1100 (*Agilent*, Palo Alto, SAD) s automatskim injektorom, vakuumskim otplinjačem, binarnom crpkom i DAD-om. Podaci su obrađivani i pohranjeni programskim paketom *Agilent Chemstation* (*Agilent*). Razdvajanje sastavnica provedeno je na koloni *Agilent Zorbax StableBond C18*, dimenzije (4,6 × 150) mm, čestice promjera 3,5 μm.

Kao pokretna faza korištene su smjese otapala:

- Ψ (fosfatni pufer ($c = 10$ mM ; pH = 1,6 podešen s fosfornom kiselinom), acetonitril) = 95:5
- Ψ (fosfatni pufer ($c = 10$ mM ; pH = 1,6 podešen s fosfornom kiselinom), acetonitril) = 50 : 50

Volumen injektirane otopine uzorka i standarda bio je 20 μL. Prethodna priprema uzorka za analizu se sastojala samo od filtriranja kroz membranski filter s porama veličine 0,45- μm.

Uravnoteženje kolone na početne uvjete trajalo je 5 minuta. Temperatura kolone bila je 50 °C, a protok pokretne faze 1 mL min⁻¹. Kromatogrami su snimljeni na valnoj duljini 518 nm. Identifikacija malvidin-3-glukozida u vinu provedena je usporedbom njegovog vremena zadržavanja i UV/Vis spektra s vremenom zadržavanja i spektrom standardne supstancije. Identifikacija ostalih osam pojedinačnih antocijana provedena je mjerenjem UV/Vis spektara i uspoređujući s podacima iz literature.

Koncentracija malvidin-3-glukozida određena je pomoću baždarnе krivulje načinjene metodom vanjskog standarda. Raspon koncentracija se kretao od 5 mg/L do 200 mg/L u sedam koncentracijskih razina. Koncentracije ostalih osam antocijana određene su prema malvidin-3-glukozidu.

Rezultati i rasprava

Iz prikaza u tablici vidljivo je da je prosječno ukupni sadržaj antocijana najveći u vinu Cabernet sauvignona, zatim u Merlotu, te Pinotu crnom što je u skladu i sa drugim istraživanjima (Cliff i sur., 2007, Gonzales-Neves i sur., 2004). Pojedinačno gledajući, malvidin-3-glukozid je najzastupljeniji antocijanin u svim vinima.

Učinak tehnike solarizacije kod kultivara Merlot bio je evidentan. Vina solarizacije sadržavala su statistički značajno više delfinidin i petunidin-3-glukozida, te acetiliranih i kumariliranih formi peonidina i malvidina. Sadržaj ukupnih antocijana također je bio statistički značajno na strani solarizacije.

Kod Cabernet sauvignona spomenuti efekt je izostao, čak štoviše sadržaj malvidin-3-glukozida kao najzastupljenijeg antocijanskog spoja u svim pokusnim vinima, bio je statistički značajno niži u vinu od solariziranog grožđa. Sadržaj ukupnih antocijana bio je viši u kontrolnim vinima, i to statistički značajno. Pod utjecajem solarizacije povećao se samo sadržaj kumariliranih peonidina i malvidina, ali ne i statistički značajno.

Među vinima Pinota crnog nisu zabilježene statistički značajne razlike, osim u sadržaju ukupnih antocijana kojih je značajno više izmjereno u vinu solariziranog grožđa. Nisu pronađene acetilirane niti kumarilirane forme antocijana što je u skladu i sa drugim istraživanjima (Burns i sur., 2000).

Rezimirajući utjecaj solarizacije uočavamo da kontrolna vina C. sauvignona imaju viši sadržaj ukupnih antocijana u odnosu na solarizirana (616 prema 565 mg/l). Yokotsuka i sur. (1999) također ističu da je sadržaj antocijana u kožici bobice pokusnih kultivara gotovo u pravilu bio viši u relativno hladnijoj 1993. godini nego u toplijoj 1992, a poznato je da sinteza antocijana može biti i usporena pod utjecajem visokih temperatura (Kliwer i sur., 1970). Ovo nam može poslužiti kao moguće objašnjenje postignutih rezultata. No, obzirom na značajno viši sadržaj antocijana u solariziranim varijantama vina Pinot crni i Merlot možemo sa sigurnošću tvrditi da je promjena uvjeta u mikroklimatu zone grožđa, gledano prije svega kroz povećanje temperature i promjenu spektra Sunčevog zračenja pogodovala procesima njihove sinteze u grožđu. Stoga smatramo da se tehnika solarizacije putem postavljanja reflektirajuće folije u vinograd pokazala opravdanim zahvatom, što ćemo pokušati potvrditi daljnjim istraživanjima na ovoj problematici.

Tablica 1. Sadržaj antocijana u vinima Pinot crni, Merlot i Cabernet sauvignon, Jazbina, 2005.g. (K-kontrola, S-solarizacija)

Kultivar	Tretman	Del-3-G	Cia-3-G	Pet-3-G	Peo-3-G	Mal-3-G	Peo-3-A	Mal-3-A	Peo-3-K	Mal-3-K	Ukupno
Pinot crni	K	1	n.d.	2,5	23,5	118,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	144,5
	S	1,5	n.d.	4	30	126,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	162,0**
Merlot	K	15	2	18,5	15,5	226	12,5	69	6,5	25	390,0
	S	24,5**	2,5	30,5**	24	254	16,5*	86**	9*	32,5**	497,0**
C. sauvignon	K	31	2	30	29	320	19	153	6	26	616,0
	S	31	2	29	25	291**	17	135	7	28	565,0**

Zaključak

Dobiveni rezultati potvrdili su opravdanost zahvata solarizacije vinove loze, gledano prije svega kroz značajno povećanu razinu ukupnih antocijana u vinu sorte Pinot crni i Merlot. Sukladno mnogim drugim autorima, pokazalo se da modificiranje mikoklimatskih uvjeta zone grožđa može značajno utjecati na fiziološke procese dozrijevanja grožđa. Ipak, neočekivani učinak solarizacije na antocijanski kompleks vina Cabernet sauvignona nalažu daljnji nastavak istraživanja na ovoj problematici. Postignuti rezultati svakako će poslužiti kao baza podataka za daljnje profiliranje sorata vinove loze sa ovog agroekološkog područja.

Literatura

Berente B., De la Calle Garcia D., Reichenbacher M., Danzer K. (2000). Method development for the determination of anthocyanins in red wines by high-performance liquid chromatography and classification of German red wines by means of multivariate statistical methods, J. Chromatogr. A 871: 95-103.

- Berente B., Reichenbacher M., Danzer K. (2001). Improvement of the HPLC analysis of anthocyanins in red wines by use of recently developed columns, *Fresenius J. Anal. Chem.* 371: 68-72.
- Brossaud F., Cheynier V., Asselin C., Moutounet M. (1999). Flavonoid compositional differences of grapes among site test plantings of Cabernet Franc. *American Journal of Enology and Viticulture*. 50 (3): 277-284
- Burns J., Gardner P.T., O'Neil J., Crawford S., Morecroft I., McPhail D.B., Lister C., Matthews D., MacLean M.R., Lean M.E.J., Duthie G.G., Crozier A. (2000). Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolic content of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 220-230
- Burns J., Mullen W., Landrault N., Teissedre P.-L., Lean M.E., Crozier A. (2002). Variations in the profile and content of anthocyanins in wines made from Cabernet sauvignon and hybrid grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 4096-4102
- Cliff M., King M.C., Schlosse J. (2007). Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. *Food Research International*. 40: 92-100
- de Villers A., Vanhoenacker G., Majek P., Sandra P. (2004). Determination of anthocyanins in wine by direct injection liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and classification of wines using discriminant analysis. *Journal of Chromatography A*. 1054: 195-204
- Gambelli L. & Santaroni G.P. (2004). Polyphenols content in some Italian red wines of different geographical origins. *Journal of Food Composition and Analysis*. 17: 613-618
- Gonzales-Neves G., Charamelo D., Balado J., Barreiro L., Bochicchio R., Gatto G., Gil G., Tessore A., Carbonneau A., Moutounet M. (2004). Phenolic potential of Tannat, Cabernet sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Analytica Chimica Acta*. 513: 191-196
- Kliewer W.M. (1970). Effect of day temperature and light intensity on coloration of *Vitis vinifera* L. grapes. *Journal of American Society of Horticultural Sciences*. 95: 693-697
- Mazza G., & Miniati E. (1993). In: *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. pp 149-199. CRC Press, Boca Raton
- Mazza G., Fukumoto L., Delaquis P., Girard B., Ewert B. (1999). Anthocyanins, Phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47:4009-4017
- Revilla E., Garcia-Beneytez E., Cabello F., Martin-Ortega G., Ryan J.-M. (2001). Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. *Journal of Chromatography*. 915: 53-60
- Robin J.P., Sauvage F.X., Boulet J.C., Sauard B., Flanzly C. (1996a). Reinforcement of the radiative and thermic stress of the grape vine in field conditions using a reflective soil cover. Repercussions on the must and on the wine quality. IVth International Symposium on Cool Climate Viticulture and Enology, Rochester, NY, USA
- Robin J.P., Sauvage F.X., Boulet J.C., Sauard B., Flanzly C. (1996b). Importance des propriétés optiques de la surface du sol sur le microclimat de la vigne. Repercussions de l'usage d'un revêtement de sol réfléchissant sur la composition des mouts et sur la qualité du vin. Colloque International sur le Terroirs Viticoles, ed. INRA, Angers, 487-492
- Robin J.P., Lopez F., Roujou de Boubée D., Igounet O., Sauvage F.X., Pradal M., Verriers C. (1996c). La coloration des baies du raisin Syrah au cours de leur maturation. Relation entre les descripteurs de la couleur, dynamique in situ et influence des facteurs de l'environnement. *Journal of International Science de Vigne et du Vin*, 1-13
- Sauvage F.X., Abbal P., Pradal M., Robin J.P. (1998). La solarization de la vigne en production de raisin de table. Impact qualitatif et influence de l'orientation des grappes. *Fruits*, 53: 421-435
- Smart R.E., Smith S.M., Winchester R.V. (1988). Light quality and quantity effects on fruit ripening for Cabernet sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture*. 39: 250-258
- Yokotsuka K., Nagao A., Nakazawa K., Sato M. (1999). Changes in anthocyanins in berry skins of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes grown in two soils modified with limestone or oyster shell versus a native soil over two years. *American Journal of Enology and Viticulture*. 50: 1-12

sa2008_0906