

Primarne arome grožđa bijelih kultivara dobivenih međuvrsnim križanjem

Sažetak

Uz veliki broj kultivara vinove loze (*Vitis vinifera L.*), danas se sve veća pažnja posvećuje mogućnosti uzgoja kultivara međuvrsnih hibrida s otpornošću na gljivične bolesti i abiotske stresove. Kultivari međuvrsnih hibrida nastali su križanjem kultivara vinove loze (*Vitis vinifera L.*) i nekih drugih vrsta roda *Vitis*. Uz međuvrsne hibride često se veže i prisutnost nekih nepoželjnih aroma (najčešće se navode tzv. foxy ili strawberry-like arome) podrijetlom od aromatskih spojeva identificiranih u najstarijim generacijama međuvrsnih hibrida. Zato se pri evaluaciji ovih sorata njihovom aromatskom profilu pridaje velika važnost. Istraživanje je provedeno na 11 kultivara. Analizirani kultivari pripadaju međuvrsnim križancima nastalim u oplemenjivačkim programima u Mađarskoj, Njemačkoj i Srbiji: „Bačka“, „Bianca“, „Johanniter“, „Kozmopolita“, „Lisa“, „Merzling“, „Orion“, „Phoenix“, „Sirius“, „Solaris“ i „Staufer“. U ovom istraživanju provedena je analiza sastava aromatskih spojeva lociranih u kožici grožđa. Putem vezanog sustava plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS) određen je aromatski profil kultivara.

Ključne riječi: međuvrsni hibridi grožđa, aromatski spojevi, primarne arome grožđa

Uvod

Aromatski sadržaj grožđa, koji prije svega ovisi o kultivaru, ima veliki utjecaj na aromatski profil vina, posebice na kvalitetu i senzorne karakteristike. Pojava određenih aroma u grožđu i vinu prije svega ovisi o prisutnosti i količini hlapljivog aromatskog spoja. Neke su arome rezultat sinergističkog dijelovanja više vrsta aromatskih spojeva koji se mogu nalaziti u grožđu ili vinu. U grožđu roda *Vitis L.*, prije svega sortama *Vitis vinifera L.*, identificirano je više skupina hlapljivih aromatskih spojeva koji imaju značajan utjecaj na aromu grožđa i vina kada su prisutni iznad mirisnog praga detekcije. Ovi aromatski spojevi pripadaju: terpenima, C13-norizoprenoidima, C6-spojevima, metoksipirazinima, sumpornim spojevima s tiolnom skupinom, te hlapljivi spojevi koji su odgovorni za pojavu karakterističnih aroma kultivara američkih vrsta roda *Vitis L.*, te kultivara međuvrsnih hibrida. U svijetu je pronađeno najmanje 60 vrsta roda *Vitis L.*, od kojih je gospodarski najznačajnija vrsta *Vitis vinifera L.* čije se sorte nalaze na većini vinogradarskih površina u svijetu (Sun i sur., 2011.). Jedan od glavnih nedostataka kultivara *Vitis vinifera L.* čini visoka osjetljivost na bolesti, najprije na gljivične bolesti od kojih su najznačajnije plamenjača i pepelnica, te niske zimske temperature. Pošto otpornost nije bila prisutna kod kultivara vinove loze, gene za otpornost trebalo je potražiti u nekim drugim vrstama koje pripadaju rodu *Vitis* (Karoglan-Kontić, 2014.).

Tako su križanjem kultivara vinove loze (*Vitis vinifera L.*) i drugih vrsta roda *Vitis*, uključujući neke američke vrste (*Vitis labrusca L.*, *Vitis riparia Michx.*, *Vitis rupestris Scheele.*.) i neke druge vrste, kao što je npr., *Vitis amurensis Rupr.*, istočnoazijska vrsta vinove loze, nastali međuvrsni hibridi. Oplemenjivački programi diljem svijeta stvaraju kultivare koje odlikuje visoka otpornost na najčešće gljivične bolesti vinove loze (npr., plamenjača, pepelnica) i niske zimske tempera-

¹

Luna Maslov Bandić, Filip Pešin, Jasminka Karoglan Kontić
Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (lmaslov@agr.hr)

ture uz zadržavanje visokog enološkog potencijala, zbog čega imaju veliki gospodarski značaj u proizvodnji vinove loze i njenih proizvoda. Također, mogu se uzgajati u hladnjim područjima gdje nije moguć uzgoj komercijalnih kultivara vinove loze, zbog čega je moguće očekivati proširivanje areala uzgoja vinove loze u budućnosti. Uzgoj međuvrsnih hibrida zahtjeva smanjenju upotrebu sredstava za zaštitu od bolesti i štetnika, mehanizacije i ljudskog rada što ga čini ekonomski isplativijim od uzgoja komercijalnih sorata vinove loze.

Međuvrsne hibride odlikuju specifični kemijski sastav grožđa, a samim time i vina pri čemu se javljaju određeni problemi s kojima se susreću uzgajivači. Na primjer, kultivari međuvrsnih hibrida imaju viši sadržaj antocijana i specifične antocijanske profile koji uzrokuju intezivniju boju vina za koju su karakteristični plavi tonovi (Slegers i sur., 2015).

Jedan od glavnih problema koji se veže za međuvrsne hibride jest njihov osobit aromatski profil, posebice prepoznatljivi „foxy“ miris. Istraživanja su pokazala da su za „foxy“ miris najviše odgovorni metil-antranilat, furaneol (2,5-dimetil-4-hidroksi-3(2H)-furanon) i 2-aminoacetofenon koji su pronađeni u kultivarima vrste *Vitis labrusca* L., te mogu biti prisutni u kultivarima međuvrsnih hibrida (Slegers i sur., 2015). Može se javiti prisutnost ovih spojeva u kultivarima međuvrsnih hibrida koji mogu imati negativan utjecaj na aromatski profil vina. Cilj ovog rada bio je utvrditi aromatski potencijal i profil primarnih aroma u bijelim međuvrsnim križancima.

Materijali i metode

Grožđe je ubrano 2015. godine na znanstveno-nastavnom pokušalištu Jazbina Agronomskog fakulteta u Zagrebu, Zagrebačko vinogorje, regija Kontinentalna Hrvatska. Za istraživanje su odabrani sljedeći kultivari: Baćka, Johanniter, Kozmopolita, Lisa, Merzling, Orion, Phoenix, Solaris, Sirius, Staufer. Reprezentativni uzorci bobica (oko 3 kg) sakupljeni su nasumično i zamrznuti na -20 °C do početka analize.

Postupak ekstrakcije aromatskih spojeva iz grožđa

Kožica grožđa se ručno odvojila te se homogenizirala u homogenizatoru. Odvagalo se 4 g iz dobivenog homogenata te se pomiješalo sa 100 mL β -glikozidaze (Endozym β -split) pravljrenom u citratnom puferu pri pH= 5.0. Smjesa grožđa i enzymskog pripravka β -glikozidaze stavljena je na inkubaciju 12 sati pri 40 °C. Nakon inkubacije, smjesa se centrifugirala 20 minuta pri 3600 okretaja u minutu. Hidrolizati su potom filtrirani te podvrgnuti ekstrakciji na čvrstoj fazi (engl. Solid-Phase-Extraction, SPE). Aromatski spojevi iz dobivene otopine ekstrahirani su na čvrstoj fazi pomoću sorbensa kopolimer etilvinilbenzen-divinilbenzena (LichrolutEN, Merck, Njemačka). Postupak ekstrakcije oslobođenih aromatskih spojeva iz grožđa obuhvaćao je: kondicioniranje kolonice ispiranjem s 3 mL diklormetana i 3 mL metanola, nanošenje uzorka te ispiranje eluata s 2 mL diklormetana. Eluat se potom upario do suha u struji dušika i ponovo otopi u 750 μ L te injektrao u plinskokromatografski sustav.

Analiza aromatskih spojeva iz grožđa

Kvalitativna i kvantitativna analiza aromatskih spojeva provodena je plinskom kromatografijom HP6890 (Agilent) uz spektrometar masa kao detektor (5973N, Agilent Technologies, Palo Alto, USA). Aromatski spojevi separirali su se na kapilarnoj koloni od taljenog silicijevog dioksida uz polietilen-glikol (ZB-WAX, Phenomenex) kao nepokretnu fazu uz temperaturni građijent. Temperaturni program kolone bio je: programirano zagrijavanje kolone od početnih 40 °C (sa zadržavanjem 5 minuta na 40 °C) do 240 °C brzinom od 2 °C min⁻¹, te izotermno na 240 °C sljedećih 20 minuta. Temperatura injektora bila je 200 °C. Plin nosilac bio je helij pri 1 mL min⁻¹. Volumen uštrcanog uzorka bio je 2 μ L.

Rezultati i rasprava

Ukupno je analizirano 11 kultivara. Detektirano je 16 različitih aromatskih spojeva koji su zastupljeni u različitim masenim koncentracijama u grožđu. U Tablici 1. prikazani su rezultati. Aromatski spojevi čija je prisutnost ispitivana u kultivarima u ovom istraživanju pripadaju primarnim aromama. Primarne arome potječu iz grožđa, a nastale su putem rada različitih metaboličkih puteva tijekom dozrijevanja u bobici grožđa. Aromatski sastav grožđa prije svega ovisi o kultivaru, čiji se spojevi ekstrahiraju tijekom predfermentativnih zahvata prerade grožđa i mošta u vino. Primarne arome mogu imati miris voćnih nota kao npr. limun, naranča, jabuka, jagoda, također mogu biti cvjetnih nota kao npr. ljubičica, bagrem, lipa, ili biljne i začinske note kao npr. zeleni papar, pokošeno sijeno, bor (Sun i sur., 2011). Glavne skupine aromatskih spojeva nađenih u grožđu pripadaju monoterpenima, C₁₃-norizoprenoidima, metokspirazinima, C₆-spojevima, fenilpropanoidima i hlapljivim sumpornim spojevima. Skupine aromatskih spojeva koji pripadaju primarnim aromama vina mogu biti slobodni ili vezani u obliku glikozida. Glikozidi se sastoje od aglikona koji je vezan na jedan ili više šećernih dijelova, tj., glikona (Hjelmeland i Ebeler, 2015.). Do danas, svi glikozidi aromatskih spojeva su pokazali da uključuju izravnu povezanost hlapljivog aromatskog spoja na dio β-D-glukoze (Hjelmeland i Ebeler, 2015.).

Tablica 1. Maseni udjeli (µg/kg) pojedinačnih aromatskih spojeva u grožđu međuvrsnih hibrida

Table 1. Mass concentrations (µg/kg) of aroma compounds from interspecific hybrid grape cultivars

µg/kg	Bačka	Bianca	Johanniter	Kozmopolita	Lisa	Merzling
E-heksan-2-al	n.d.	48,14	158,10	352,20	231,57	141,42
E-ružin oksid	n.d.	n.d.	n.d.	2,68	5,33	n.d.
2-heksen-1-ol	2,11	5,50	1,36	n.d.	n.d.	2,82
Heksan-1ol	1,85	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1-okten-3-ol	0,89	14,13	37,24	13,88	20,05	22,09
furan-linalol-oksid	0,65	99,28	n.d.	269,88	134,55	246,28
linalol	39,54	319,20	n.d.	4059,73	2940,89	24,94
geranijska kiselina	1,04	243,53	n.d.	272,73	202,89	4,94
α-terpineol	15,59	33,26	16,60	119,67	134,60	34,78
citroneol	202,26	n.d.	14,90	n.d.	17,10	3,76
nerol	190,16	n.d.	23,04	n.d.	13,56	3,06
β-damaskenon	2560,14	1640,20	1074,27	1554,69	2781,02	704,41
α-ionon	2,89	n.d.	26,94	11,39	18,67	8,23
geraniol	n.d.	2,99	95,35	10,70	n.d.	268,37
β-ionon	0,61	37,48	13,18	31,48	19,47	18,80
γ-nonalakton	4,67	48,48	70,90	46,69	44,87	35,96

n.d.-nije detektirano/not detected

Monoterpeni

Prisutnost citronelola pronađena je u 7 kultivara, a to su: Bačka, Johanniter, Lisa, Merzling, Orion, Phoenix i Staufer. Najviše koncentracije pronađene su u kultivarima Staufer (597,61 µg/kg) i Bačka (202,26 µg/kg) (Slika 1.). Koncentracije E-ružinog oksida su detektirane u 2 sorte, a to su Kozmopolita i Lisa, ali u nedovoljnim koncentracijama da bi utjecale na aromatski potencijal grožđa.

Tablica 1. Nastavak
Table 1. Continued

µg/kg	Orion	Phoenix	Sirius	Solaris	Staufer
E-heksan-2-al	275,25	195,34	111,56	169,70	75,02
E-ružin oksid	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2-heksen-1-ol	2,37	n.d.	6,24	16,81	7,99
Heksan-1-ol	n.d.	n.d.	n.d.	4,62	4,86
1-okten-3-ol	29,82	n.d.	15,18	60,60	18,10
furan-linalol-oksid	n.d.	78,12	59,70	5,52	2,59
linalol	n.d.	203,73	29,94	6,61	23,27
geranijska kiselina	n.d.	69,16	5,16	9,81	n.d.
α-terpineol	12,92	18,01	47,52	8,79	7,05
citroneol	156,80	15,10	n.d.	n.d.	597,61
nerol	163,31	13,76	n.d.	n.d.	n.d.
β-damaskenon	n.d.	1423,54	1072,80	89,27	47,47
α-ionon	n.d.	19,84	9,24	13,80	172,49
geraniol	130,95	6,19	12,06	84,66	2,82
β-ionon	n.d.	41,01	22,56	11,04	23,27
γ-nonalakton	12,90	20,88	39,54	5,41	50,79

n.d.-nije detektirano/ not detected

Prisutnost furan-linalol-oksida potvrđena je u 9 istraživanih kultivara, ali u nedovoljnim koncentracijama da bi postajao utjecaj na aromatski profil. Također, prisutnost genariola je pronađena u 9 kultivara. Najveći maseni udjeli izmjereni su u kultivarima Merzling (268,37 µg/kg) i Orion (130,95 µg/kg), dok su najniži maseni udjeli izmjereni u kultivaru Staufer (2,82 µg/kg) (Slika 1. i 2.). Geranijska kiselina određena je u 8 kultivara, a to su: Bačka, Bianca, Kozmopolita, Lisa, Merzling, Phoenix, Sirius i Solaris. Najviši maseni udjeli izmjereni su u kultivaru Kozmopolita sa 272,73 µg/kg, te je slijedi Bianca (243,53 µg/kg) (Slika 1.) dok je u ostalim kultivarima u kojima je određena geranijska kiselina imala zanemarive koncentracije. Spoj linalool uočen je kod 9 kultivara, iako su najveći maseni udjeli izmjereni u kultivarima Kozmopolita (4059,73 µg/kg) i Lisa (2940,89 µg/kg) (Slika 1.). Kod ostalih kultivara gdje je potvrđena prisutnost linalola,

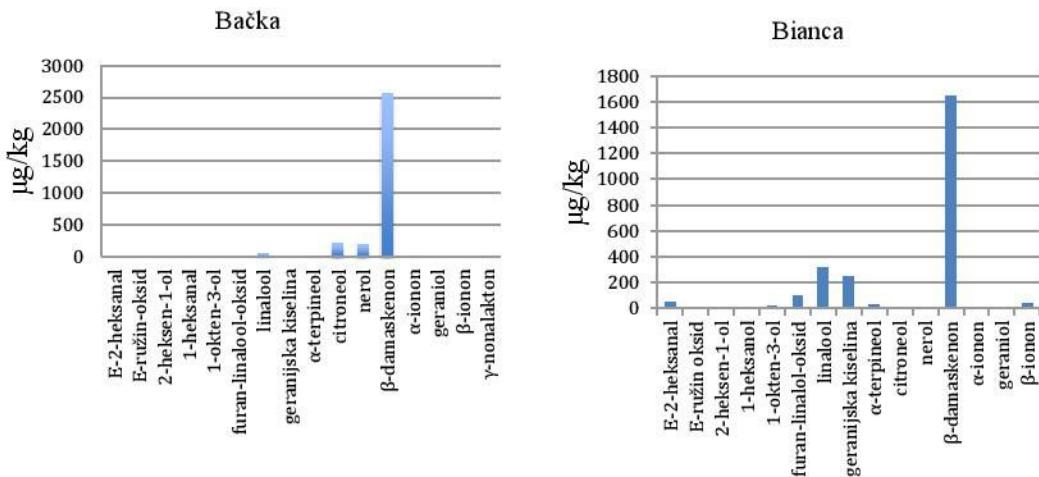
nisu izmjerene koncentracije koje bi mogle imati utjecaj na aromatski potencijal. Spoj nerol određen je kod 6 kultivara. Prisutnost α -terpineola potvrđena je kod svih istraživanih kultivara. Dobiveni rezultati su u skladu s drugim istraživanjima. Istraživanja su pokazala da su monoterpeni u muškatnim sortama i stolnom grožđu puno više zastupljeni u kožici (od 3 do 8 mg/kg), a u ostalim sortama i međuvrsnim hibridima kreću se otprilike < 1 mg/L (Yang i sur., 2009). Uspoređujući dobivene rezultate s crnim križancima poput Frontenac, Marquette, Marechal Foch, Sabrevois i st. Croix, istraživane bijele sorte u ovom radu sadrže puno više monoterpena (Slegers i sur., 2015).

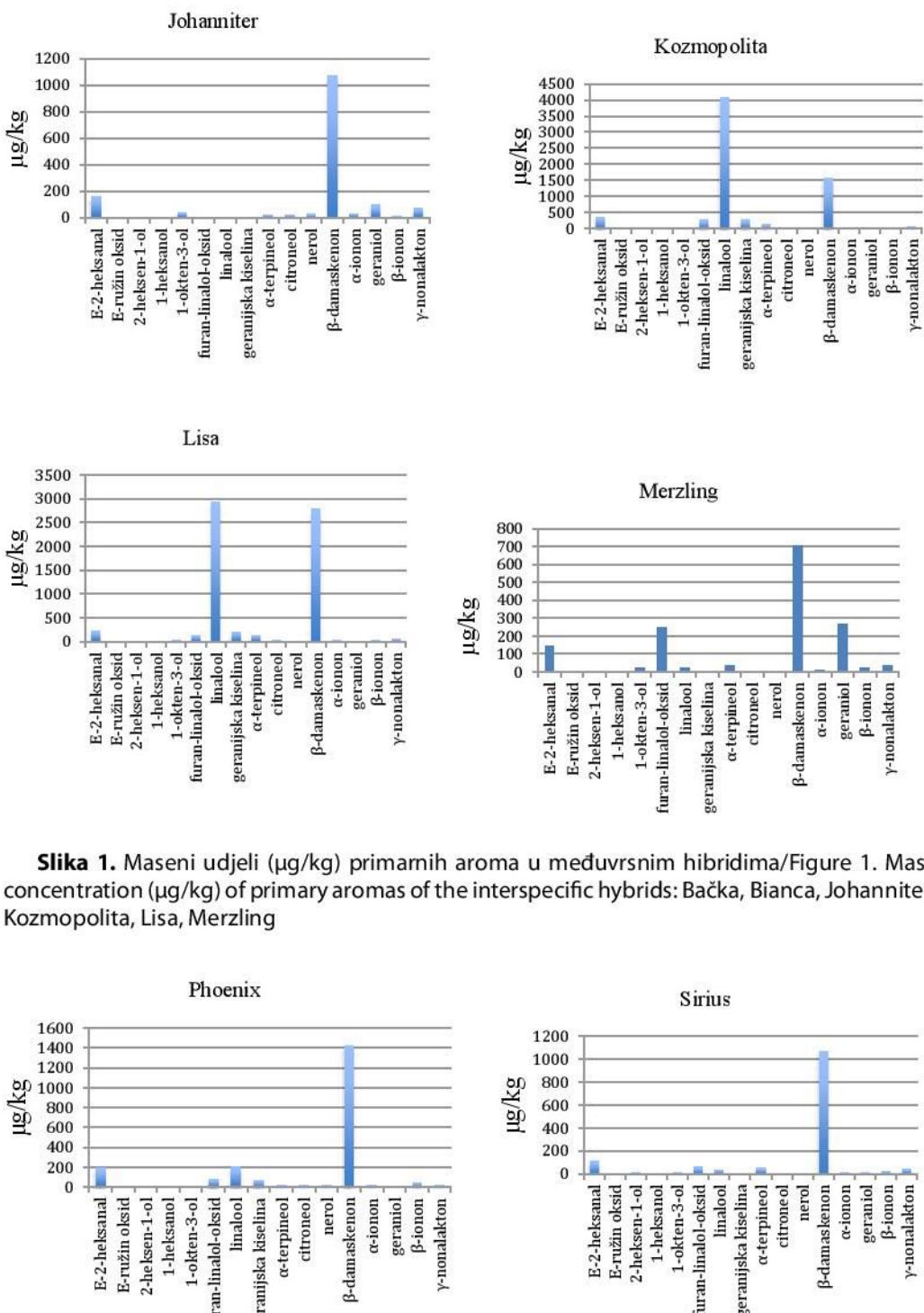
C-13 norizoprenoidi

Najviši udjel α -ionona određen je u kultivaru Staufer s 172,49 µg/kg (Slika 2.), dok je najniži maseni udio određen u kultivaru Bačka s 2,89 µg/kg. Spoj α -ionon nije određen u dva kultivara (Bianca, Orion). Spoj β -ionon pronađen je u 10 istraživanih sorata. Najviši maseni udjeli određeni su u kultivarima: Phoenix (41,01 µg/kg), Bianca (37,48 µg/kg) (Slika 6.2.) i Kozmopolita (31,48 µg/kg) (Slika 1. i 2.). Najniži maseni udjeli određeni su u kultivaru Bačka (0,61 µg/kg). Spoj β -damaskenona koji ima važan utjecaj na miris vina, pronađen je u 10 istraživanih kultivara. Najviši maseni udjeli određeni su u kultivarima: Lisa (2781,02 µg/kg), Bačka (2560,14 µg/kg) i Bianca (1640,20 µg/kg), što su značajno viši udjeli nego u drugim međuvrsnim hibridima (Slegers i sur., 2015). Također, postoje određene sličnosti aromatskih profila sorata koje dijele jednog roditelja, npr., kultivari Sirius i Phoenix koji imaju visoke koncentracije β -damaskenona.

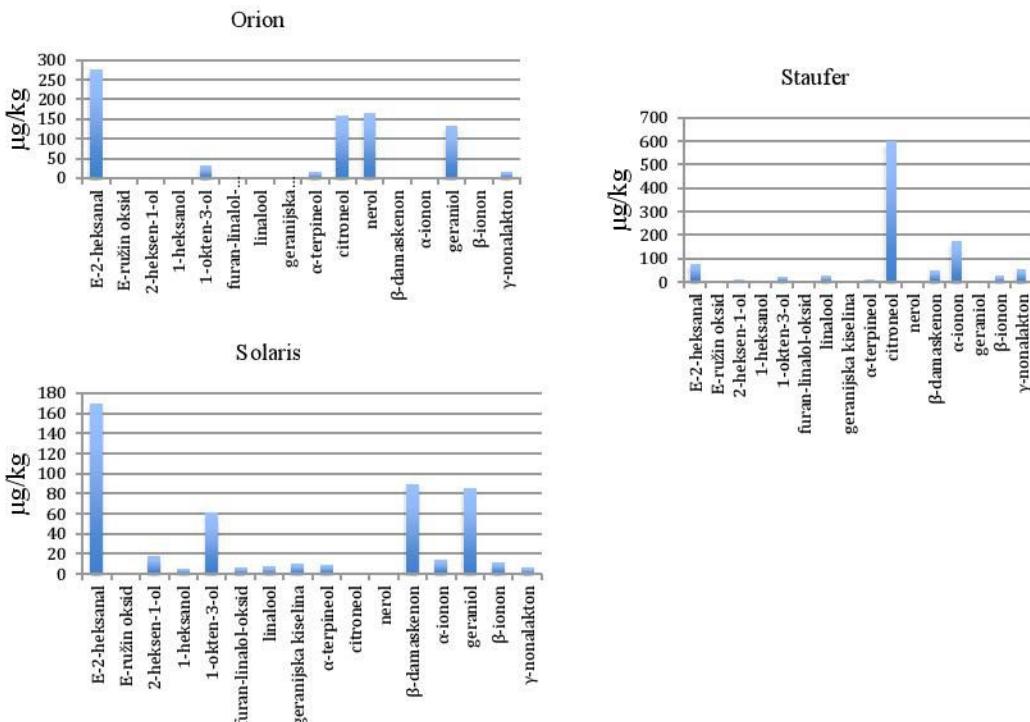
C-6 spojevi

C-6 spojevi su poznati da doprinose mirisu voća i povrća i glavni su nosioci sortnih aroma kod neutralnih vrsta grožđa. Spoj 1-heksanol određen je kod 3 istraživana kultivara. Najviši udjeli određeni su u kultivaru Staufer (4,86 µg/kg). Stoga, heksan-1-ol nije imao značajan utjecaj na aromatskih profil ispitivanih kultivara. Spoj 2-heksen-1-ol određena je kod 10 istraživanih kultivara, ali nije utvrđen značajan utjecaj na aromatski profil istraživanih kultivara. Najviši maseni udio određen je u kultivaru Solaris s 16,81 µg/kg, a najmanji u kultivaru Johanniter s 1,36 µg/kg. Prisutnost E-heksan-2-ala potvrđena je kod 12 istraživanih kultivara. Najviši maseni udjeli izmjereni su u sortama Kozmopolita (352,20 µg/kg) (Slika 6.4.) i Orion (275,25 µg/kg) (Slika 1. i 2.). Najniži maseni udjel određen je u kultivaru Bianca (48,14 µg/kg).





Slika 1. Maseni udjeli ($\mu\text{g}/\text{kg}$) primarnih aroma u međuvrsnim hibridima/Figure 1. Mass concentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$) of primary aromas of the interspecific hybrids: Bačka, Bianca, Johanniter, Kozmopolita, Lisa, Merzling



Slika 2. Maseni udjeli ($\mu\text{g}/\text{kg}$) primarnih aroma u međuvrsnim hibridima/Figure 2. Mass concentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$) of primary aromas of the interspecific hybrids: Phoenix, Sirius, Solaris, Orion, Staufer

Spoj γ -nonalakton određen je u svim ispitivanim kultivarima. Najviši maseni udjeli bili su u kultivaru Johanniter s $70,90 \mu\text{g}/\text{kg}$ (Slika 1.). Spoj 1-okten-3-ol određen je u 11 kultivara. Najviši maseni udjeli izmjereni su u kultivarima Solaris ($60,60 \mu\text{g}/\text{kg}$), dok je najniža izmjerena u kultivaru Bačka ($0,89 \mu\text{g}/\text{kg}$).

Maseni udjeli analiziranih aromatskih spojeva varirali su ovisno o kultivaru, te su utvrđene značajne razlike odnosno profil aromatskog potencijala u ispitivanim u kultivarima što je i vidljivo iz Slika 1 i Slika 2.

Zaključak

Ukupno je analizirano 11 različitih kultivara. Pronađeno je 16 različitih aromatskih spojeva koji su zastupljeni u različitim masenim koncentracijama u grožđu. Aromatski profil razlikovao se ovisno o kultivaru. Također, nije utvrđena prisutnost aromatskih spojeva odgovornih za „foxy“ aromu poput metil-antrilata i 2-aminoacetofenona, niti je utvrđena prisutnost furaneola, odgovornog za „strawberry-like“ aromu. Iz prethodno navedenog možemo zaključiti kako kultivari međuvrsnih hibrida imaju aromatski profil koji po sastavu i koncentraciji aromatskih spojeva može proizvesti vino koje neće zaostajati u kvaliteti „bukea“ (franc. bouquet) komercijalnih kultivara vinove loze.

Literatura

- Hjelmeland, A.K., Ebeler, S.E. (2015). Glycosidically Bound Volatile Aroma Compounds in Grapes and Wine: A Review. *American Journal of Viticulture and Enology*, 66 (1), 1-11.
- Karoglan-Kontić, J. (2014). Sorte vinove loze otporne na gljivične bolesti. *Gospodarski list* 17, 39-49.
- Robinson, A. L., Boss, P. K., Solomon, P. S., Trengove, R. D., Heyman, H., Ebeler, S. (2014). Origins of Grape and Wine Aroma. Part 1. Chemical Components and Viticultural Impacts. *American Journal of Viticulture and Enology*, 65(1), 1-24.
- Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., Lewinsohn, E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The Plant Journal*, 54 (1), 712-732.
- Sun, Q., Gates, M.J., Lavin, E.H., Acree, T.E., Sacks, G.L. (2011). Comparison of odor-active compounds in grapes and wines from *Vitis vinifera* and non-foxy American grape species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 10657-10664.
- Slegers, A., Angers, P., Ouellet, E., Truchon, T., Pedneault, K. (2015). Volatile compounds from grape skin, juice and wine from five interspecific hybrid grape cultivars grown in Quebec (Canada) for wine production. *Molecules*, 20, 10980-11016.
- Yang, C., Wang, Y., Liang, Z., Fan, P., Benhong, W., Yang, L., Shaohua, L. (2009). Volatile berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC-MS. *Food Chemistry*, 114, 1106-1114.

Original scientific paper

Primary aroma compounds of white cultivars from interspecific hybrids

Abstract

Along with a large number of vine cultivars (*Vitis vinifera* L.), today's attention is paid to the possibilities of cultivating interspecific hybrids cultivars with resistance to fungal diseases and abiotic stresses. Intermediate hybrids cultivars were created by crossing the vine cultivars (*Vitis vinifera* L.) and some other species of *Vitis*. Interspecific hybrids often involve the presence of some undesirable aromas (most commonly referred to as foxy or strawberry-like flavorings) originating from the aromatic compounds identified in the earliest generation of interspecific hybrids. Therefore, when evaluating these cultivars, their aromatic profile are of great importance. The study was conducted on 11 cultivars. The analyzed cultivars belong to the crossbreeds created in breeding programs in Hungary, Germany and Serbia: "Bačka", "Bianca", "Johanniter", "Kozmopolita", "Lisa", "Merzling", "Orion", "Phoenix", "Sirius", "Solaris" and "Staufer". In this study, an analysis of the composition of aromatic compounds found in grape skins was carried out. The aromatic profiles of cultivars were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Keywords: interspecific hybrids of grape, aroma compounds, primary aroma compounds of grape



RASADNIK PRUD
kvaliteta i povjerenje

Put Narone 124, 20350 Metković
Tel: +385 20 690 631; 690 632 · Fax: +385 20 690 633
www.rasadnik-prud.hr