

Željko Andabaka¹, Ana Ivankić², Darko Preiner¹, Domagoj Stupić¹,
Zvezdana Marković¹, Antonija Tomić¹, Ivana Tomaz¹, Petar Kusić³,
Iva Šikuten¹

Izvorni znanstveni rad

Utjecaj temperature maceracije na polifenolni sastav vina sorte 'Plavac mali crni' (*Vitis vinifera* L.)

Sažetak

'Plavac mali crni' gospodarski je najvažnija crna sorta vinove loze na području RH. Tehnologija prerade grožđa ima značajan utjecaj na polifenolni sastav mošta, odnosno budućeg vina. Klasični način prerade podrazumijeva istovremeno protjecanje maceracije i alkoholne fermentacije. Temperatura maceracije izravno utječe na sadržaj i sastav polifenolnih spojeva u moštu, odnosno vinu, što posljedično ima utjecaj na samu kvalitetu i tip vina koji želimo proizvesti. Niže temperature u pravilu smanjuju ekstrakciju polifenolnih spojeva. Rezultati istraživanja pokazali su da temperatura maceracije masulja pri 30 °C omogućava bolju ekstrakciju ukupnih antocijana i flavan-3-ola, dok niža temperatura maceracije ima pozitivan učinak na sadržaj fenolnih kiselina i flavonol-glikozida. Na sadržaj stilbena temperatura maceracije nije imala utjecaj.

Ključne riječi: polifenoli, maceracija, temperatura, 'Plavac mali crni'

Uvod

'Plavac mali crni' je najvažnija autohtona sorta u Republici Hrvatskoj koja se uzgaja na gotovo 1200 ha. Najznačajniji položaji se nalaze na uskim primorskim pojasevima poput Dingača i Postupa na Pelješcu, Ivana Dolca na Hvaru i sl. 13. svibnja 1964. godine, vino Dingač poljoprivredne zadruge Dingač - Potomje, zaštićen je certifikatom Međunarodnog ureda za zaštitu industrijskog, književnog i umjetničkog vlasništva u Ženevi. Tako je Plavac mali s položaja Dingač postalo prvo Hrvatsko međunarodno zaštićeno vino. Drugo zaštićeno vino Republike Hrvatske također je Plavac mali uzgojen na položaju Postup po kojem je i dobio ime 1967. godine. Vino može sadržavati preko 1000 različitih kemijskih komponenti. To ga čini vrlo složenom otopinom, koja se sastoji od 85 - 90% vode, 10 - 14% alkohola i 1 - 5% fenola. Fenolni spojevi predstavljaju veliku i kompleksnu skupinu spojeva jer značajno utječu

1 izv. prof. dr. sc. **Željko Andabaka**, prof. dr. sc. **Darko Preiner**, doc. dr. sc. **Domagoj Stupić**, izv. prof. dr. sc. **Zvezdana Marković**, dr. sc. **Antonija Tomić**, dr. sc. **Ivana Tomaz**, dr. sc. **Iva Šikuten**, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

2 **Ana Ivankić**, mag. ing. agr., Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska, studentica

3 **Petar Kusić**, Jako vino d.o.o., Bračka cesta 13, 21420 Bol

Autor za korespondenciju: isikuten@agr.hr

na kakvoću vina (Kesić i sur., 2015). S kemijskog gledišta fenoli su organski spojevi čija je hidroksilna skupina (-OH) vezana na C atom aromatske jezgre. Sorta je jedan od najvažnijih čimbenika koja utječe na fenolni sastav grožđa i vina, uz snažan utjecaj zemljopisnog položaja, mikroklima, vinogradarske prakse, fenolne zrelosti grožđa te postupaka i parametara tijekom vinifikacije i dozrijevanja (Jackson, 2020). Fenolne spojeve dijelimo u dvije glavne skupine, flavonoide i neflavonoide. Flavonoidi su najraširenija i najvažnija skupina prirodno složenih fenola. Kemijska struktura flavonoida sastavljena je od 2 aromatska prstena povezana piranskim prstenom. Promjenama broja i položaja hidroksilne (-OH) i metoksi (-OH₃C) skupine na osnovnoj strukturi nastaju ostali različiti polifenolni spojevi. Locirani su u sjemenkama, kožici i peteljkovini, dok ih u soku grožđa ima u malim koncentracijama. Mogu se javiti u slobodnom ili vezanom obliku, a vežu se sa šećerima tvoreći glikozide. U crnim vinima zastupljeni su 85% od ukupnih fenola. Njihova podjela je na: flavan -3-ole, flavonole, antocijane. Neflavonoidi su fenolni spojevi jednostavnije građe od flavonoida, u svojoj građi sadrže samo jedan fenolni prsten. Fenolne kiseline i njihovi derivati te stilbeni čine dvije osnovne podskupine neflavonoida koji su zastupljeni u grožđu i vinu. Tanini, odnosno proantocijanidini, su grupa spojeva koja nastaje vezanjem većeg broja molekula katehina u polilance. Njihova podjela je na kondenzirane ili hidrolizirajuće tanine. Kondenzirani tanini su oligomeri ili polimeri flavanola i sintetiziraju se u kožici i u sjemenkama bobice, dok hidrolizirajući tanini potječu uglavnom iz drveta, i to su galna kiselina ili esteri elaginske kiseline i glukoze (Cheynier i sur., 2006). Tijekom odvijanja fermentacije fenolni spojevi procesom difuzije oslobađaju se u vino. Maceracija je proces tijekom kojeg spojevi iz kožice i sjemenke bobe prelaze procesom difuzije iz čvrstih dijelova grožđa u mošt, odnosno vino. Intenzitet ekstrakcije polifenola ovisi o uvjetima maceracije, vrsti i lokalitetu polifenola u grožđu, koncentraciji alkohola etanola i sumporovog dioksida. Etanol koji nastaje kao produkt tijekom alkoholne fermentacije uzrokuje kvalitativne i kvantitativne promjene u kemijskom sastavu vina (Moreno i Peinado, 2012). Prema njezinom trajanju i trenutku provođenja maceracija se dijeli u tri faze: predfermentativna maceracija, fermentativna maceracija i post-fermentativna maceracija. Termovinifikacija je predfermentativni postupak zagrijavanja cijelog ili zgnječenog grožđa kako bi se postigla brza ekstrakcija fenolnih spojeva iz kožice grožđa, posebno spojeva boje, antocijana.

Materijali i metode

Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj temperature tijekom maceracije na polifenolni sastav sorte 'Plavac mali crni'. Pokus je bio postavljen s dvije pokusne varijante u tri ponavljanja koje su se razlikovale po temperaturi maceracije masulja. Maceracija jedne pokusne varijante odvijala se na 25 °C (T 25), a druge na 30 °C (T 30). Jedna pokusna varijanata iznosila je 5000 L masulja.

Analiza polifenolnih spojeva u vinu provela se tako da je uzorak vina filtriran primjenom membranskog filtra. Analiza je provedena na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti (HPLC). Za razdvajanje pojedinih polifenola korištena je kolona Luna Phenyl-Hexyl (4,6 × 250 mm; 5 µm veličina čestica), kao pokretne faze korištene su vodena otopina fosforne kiseline (otapalo A) te vodena otopina fosforne kiseline i acetonitrila (otapalo B) dok je detekcija provesti uporabom fluorescencijskog detektora (FLD) te detektora s nizom fotodioda (DAD).

Značajnost razlika između pokusnih varijanata utvrđena je primjenom jednosmjerne analize varijance (engl. One-Way ANOVA). Usporedba srednjih vrijednosti provedena je pomoću Duncan Multiple Range testa. Za statističku obradu podataka upotrijebljen je SAS v 9.3 statistički softvera (2012, SAS Institute Inc., Cary, NC, SAD).

Rezultati i rasprava

Analizom pojedinačnih antocijana utvrđene su signifikantne razlike u vrijednostima pojedinih antocijana kod ispitivanih uzoraka. Signifikantno višu vrijednost imali su svi ispitivani pojedinačni antocijani uzoraka maceriranih na 30 °C. Dosadašnja istraživanja potvrđuju ove rezultate jer se smatra da je ekstrakcija antocijana iz kože bobice jača uz prisustvo povišene temperature (Aron i Kennedy, 2007). Unutar kategorije antocijana najuočljivija je razlika kod malvidin-3-glukozida, čija srednja vrijednost dostiže 33,87 mg L⁻¹ pri maceraciji masulja na 30 °C.

Tablica 1. Usporedba srednjih vrijednosti pojedinačnih antocijana (mg L⁻¹)

Table 1. Comparasion of mean values of individual anthocyanins (mg L⁻¹)

Uzorak / Sample	Delfini- din-3-glu- kozid / Delphini- din-3-glu- coside	Petuni- din-3-gluko- zid / Petu- nidin-3-glu- coside	Peoni- din-3-glu- kozid / Peoni- din-3-glu- coside	Malvi- din-3-gluko- zid / Malvi- din-3-glu- coside-3-glu- kozid/ Malvidin-3-glu- coside	Cijani- din-3-O-acetil- glukozid/Cyani- din-3-O-acetyl- glucoside	Malvi- din-3-O-acetil- glukozid/Malvi- din-3-O-acetyl- glucoside	Malvi- din-3-O-ku- maril- glukozid / Malvi- din-3-O-co- umarylglu- coside
T30	2,996 a	2,001 a	1,016 a	33,868 a	0,772 a	1,078 a	2,120 a
T25	0,570 b	0,731 b	0,384 b	15,763 b	0,404 b	0,425 b	1,291 b

**Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti (n= 3), a različita slova u redu (a,b,c) upućuju na značajnu različitost pri p < 0,05/ The results represent the mean values (n = 3), and the different letters in the row (a, b, c) indicate a significant difference at p <0.05.*

U tablici 2. prikazane su prosječne vrijednosti pojedinačnih flavonol-glikozida. Teme-
ljem rezultata vidljivo je kako se vrijednosti signifikantno razlikuju kod rutina i kverce-
tin-3-O-glukozida. Najviši sadržaj rutina ustanovljen je kod uzoraka čija je temperatura
maceracije bila 25 °C . Kod miricetin-3-O-glukozida i kemferol-3-O-glukozida nisu zapaže-
ne signifikantne razlike. Najniži sadržaj je kvercetin-3-O-glukozida utvrđen je kod uzoraka
maceriranih pri 30 °C.

Tablica 2. Usporedba srednjih vrijednosti pojedinačnih flavonol-glikozida (mg L⁻¹)**Table 2.** Comparasion of mean values of individual flavol-glycosides (mg L⁻¹) 14,897 a

Uzorak / Sample	Miricetin-3-O-glukozid / Myricetin-3-O-glu- coside-3-O-glukozid/ Myricetin-3-O-glu- coside	Rutin / Rutin	Kvercetin-3-O-glukozid / Quercetin-3-O-glu- coside	Kemferol-3-O-glu- kozid/Kaempfe- rol-3-O-glucoside
T30	2,353 a	6,645 b	1,348 b	3,737 a
T25	5,043 a	14,897 a	4,318 a	3,727 a

**Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti (n= 3), a različita slova u redu (a,b,c) upućuju na značajnu različitost pri p < 0,05/ The results represent the mean values (n = 3), and the different letters in the row (a, b, c) indicate a significant difference at p <0.05.*

Tablica 3. Usporedba srednjih vrijednosti pojedinačnih fenolnih kiselina i stilbena (mg L⁻¹)/**Table 3.** Comparasion of mean values of individual phenolic acids and stilbens (mg L⁻¹)

Uzo- rak / Sam- ple	Kafta- rinska kise- lina / Caf- taric acid	Kuta- rinska kise- lina / Couta- ric acid	Kafe- inska kise- lina / Caffeic acid	Ferta- rinska kise- lina / Fertaric acid	Kuma- rinska kise- lina / Cou- maric acid	Feru- linska kise- lina / Ferulic acid	Sina- pinska kise- lina/ Syna- pic acid	Galna kise- lina / Gallic acid	Pro- kate- hinska kise- lina / Proto- cate- chuic acid	Sirin- ginska kise- lina / Siringic acid	Resvera- trol-3-O-glu- kozid / Resvera- trol-3-O-glu- coside
T30	21,412 b	5,256 a	14,664 b	3,343 a	0,876 a	8,438 a	1,882 a	4,126 b	1,291 a	16,436 a	1,799 a
T25	27,809 a	4,105 a	17,649 a	3,084 a	0,534 b	8,459 a	1,638 a	5,448 a	1,477 a	12,938 a	1,539 a

**Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti (n= 3), a različita slova u redu (a,b,c) upućuju na značajnu različitost pri p < 0,05/ The results represent the mean values (n = 3), and the different letters in the row (a, b, c) indicate a significant difference at p <0.05.*

U rezultatima iz tablice 3. možemo vidjeti da kutarinska, fertarinska, ferulinska i sinapinska kiselina nisu pokazale signifikantne razlike. Prema ostalim statističkim podacima u skupini hidroksicimetnih kiselina signifikantnu razliku pokazala je kaftarinska kiselina. Čija je najveća vrijednost 27,81 mg L⁻¹ kod uzoraka maceriranih pri 25 °C. Kumarinska kiselina također je pokazala signifikantnu razliku, njezina statistički najniža vrijednost bila je kod T25 uzoraka. Temeljem obrade podataka, vrijednosti resveratrol-3-O-glukozid nisu pokazale signifikantnu razliku kod uspoređivanih uzoraka. Njegova vrijednost bila je viša kod uzoraka maceriranih na 30 °C. U uzorcima od hindroksibenzojevih kiselina utvrđene su galna, prokatehinska i siriginska kiselina. Signifikantna razlika jedino je utvrđena kod galne kiseline, a veći sadržaj imao je uzorak maceriran pri 25 °C.

Tablica 4. Tablica 3. Usporedba srednjih vrijednosti pojedinačnih flavan-3-ola (mg L-1)
Table 4. Comparison of mean values of individual flavan-3-ols (mg L-1)

Uzorak/ Sample	Epikatehin-gallat/ Epicatechin-gallat	Galokatehin/ Gallocatechin	Epigalokatehin/ Epigallocatechin	Procijanidin B1/ Procyanidin B1	Procijanidin B3/ Procyanidin B3	Katehin/Catechin	Procijanidin B2/ Procyanidin B2	Procijanidin B4/ Procyanidin B4	Epikatehin/ Epicatechin
T30	0,420 a	1,768 a	2,638 a	54,974 a	40,580 a	20,288 a	5,873 a	12,663 a	13,586 a
T25	0,337 b	1,669 a	1,850 b	51,792 a	26,653 b	14,223 b	3,913 b	7,226 b	7,925 b

*Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti ($n = 3$), a različita slova u redu (a,b,c) upućuju na značajnu različitost pri $p < 0,05$ / The results represent the mean values ($n = 3$), and the different letters in the row (a, b, c) indicate a significant difference at $p < 0.05$.

Analizom sadržaja flavan-3-ola (tablica 4) ustanovljene su signifikantne razlike kod svih spojeva, osim kod galokatehina i procijanidina B1. Uzorak maceriran pri 30 °C imao je najvišu koncentraciju kod procijanidina B1 i B3. Dobivene statističke vrijednosti pokazuju da viša temperatura rezultira većom ekstrakcijom kondenziranih tanina što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima (Cheynier, 2005).

Zaključak

Rezultati su pokazali kako je temperatura maceracije masulja pri 30 °C pridonijela boljoj ekstrakciji ukupnih antocijana i flavan-3-ola. Kod svih ispitivanih pojedinačnih antocijana ustanovljene su signifikantne razlike, a najveću vrijednost postigao je malvidin-3-O-glukozid. Kod flavan-3-ola procijanidin B3, katehin, epikatehin i galokatehin također su utvrđene signifikantne više razlike kod viših temperatura maceracije. Rezultati istraživanja pojedinačnih i ukupnih flavonol-glikozida pokazuju signifikantne razlike kod rutina i kvercetin-3-O-glukozida gdje je niža temperatura maceracije pozitivno djelovala na koncentraciju ovih spojeva. Viša temperatura maceracije negativno je djelovala na sadržaj kaftarinske, kafeinske i galne kiseline. Na sadržaj jedino utvrđenog stilbena, resveratrol-3-O-glikozida, temperatura maceracije nije imala značajan utjecaj.

Literatura

- Aron, P.M. i Kennedy, J.A. (2007).** Compositional investigation of phenolic polymers isolated from *Vitis vinifera* L. Cv. Pinot noir during fermentation. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5670-5680. DOI: 10.1021/jf070481
- Cheynier, V. (2005).** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1, 223-229. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.223S>
- Cheynier, V., Duenas - Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.M., Sarni-Manchado, P., Fulcrand, H. (2006).** Structure and Properties of wine Pigments and Tannins. *Am. J. Enol. Vitic.*, 57, 298-305. DOI: 10.5344/ajev.2006.57.3.298
- Jackson, R. (2020).** *Wine Science Principles and Applications*, fifth edition. Cambridge: Academic Press (Elsevier).
- Kesić, A., Smajlović, B., Hodžić, Z., Ibrišimović - Mehmedinovic, N. (2015).** Utjecaj geografskog porijekla na antioksidacijsku aktivnost domaćih vina. *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, 4(2), 93-97.
- Moreno J. i Peinado R. (2012).** *Enological chemistry*. London: Academic Press (Elsevier).
- Statistical Analysis System (2012) SAS Users Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC.*

The influence of maceration temperature on the polyphenolic composition of the wine variety 'Plavac mali crni' (Vitis vinifera L.)

Abstract

'Plavac mali crni' is the economically most important red grape variety in the territory of the Republic of Croatia. Grape processing technology has a significant influence on the polyphenol composition of grape must or future wine. The classic method of processing implies the simultaneous flow of maceration and alcoholic fermentation. The maceration temperature directly affects the content and composition of polyphenol compounds in must or wine, which consequently has an impact on the quality and type of wine we want to produce. Lower temperatures generally reduce the extraction of polyphenol compounds. The results of the study showed that the maceration temperature at 30 °C enables better extraction of total anthocyanans and flavan-3-ols, while the lower maceration temperature has a positive effect on the phenolic acid and flavonol-glycoside content. Stilbenes were unaffected by the temperature of maceration.

Key words: polyphenols, maceration, temperature, Plavac mali crni