VSEBNOST AROMATIČNIH IN POLIFENOLNIH SPOJIN MODRE FRANKINJE V POVEZAVI S SENZORIČNIM OCENJEVANJEM

Klemen Lisjak, Helena Baša Česnik, Dejan Bavčar, Andreja Vanzo

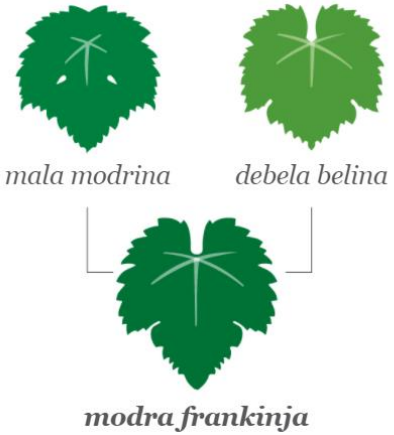
Kmetijski Inštitut Slovenije

Maribor 6. december 2017

MODRA FRANKINJA

- V Sloveniji posajena na 688 ha (RKG 2015), Štajerska Slovenija 149ha, Dolenjska 279ha, Bizeljsko-Sremič 169ha, Bela Krajina 75ha, Prekmurje 16ha
- 4. najbolj pomembna rdeča sorta v Sloveniji (po Refošku-1326ha, Žametovki-851ha, Merlotu-822ha)
- Sestavina 3 PTP vin, rdeči Bizeljčan PTP, Cviček PTP, Metliška Črnina PTP
- Sorta v visoko vsebnostjo resveratrola
- Avtohtona slovenska sorta:
  - **Vitis, 55, 135-143 (2016):** Erika Maul, Franco Röckel in Reinhard Töpfer (Inštitut Julius Kühn, Geilweilerhof, Nemčija)

The "missing link" 'Blaue Zimmettraube' reveals that 'Blauer Portugieser' and 'Blaufränkisch' originated in Lower Styria



https://www.dnevnik.si/1042755193/kulinarika/vino/znanstveno-odkritje-modra-frankinja-in-portugalka-sta-izvorno-iz-slovenije

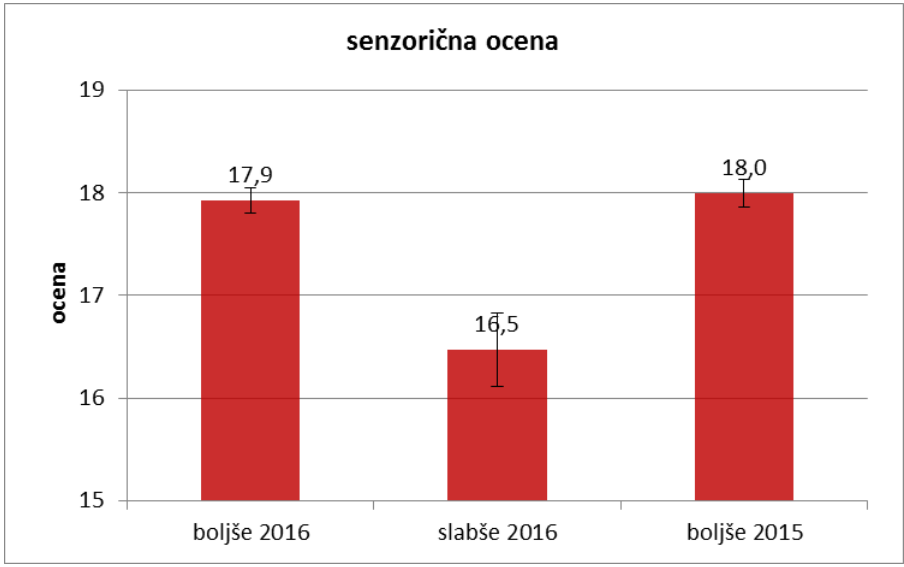
Namen raziskave je bil preučiti povezave med kemijskimi parametri (fenoli, spojinami arome, osnovni fizikalno-kemijskimi parametri) in senzorično oceno vin Modre Frankinje:

1) Kaj determinira najboljše Modre Frankinje? Kakšna je struktura/sestava taninov, vsebnost aromatičnih spojine slovenskih modrih frankinj …?

2) Ali lahko iz analize kemijskih parametrov (sekundarnih metabolitov) napovemo senzorično oceno?

METODE DELA – vzorci vin

- 25 vzorcev vin Modra Frankinja iz ocenjevanja v okviru 7. festivala Modrih Frankinj, Sevnica 8.junij 2017. Vsi analizirani vzorci so iz Slovenije.
- 7 degustatorjev, 4 SLO, 3 tuji; min/max ocena se izloči
- 18 vzorcev letnika 2016; 10 najboljših in 8 slabše ocenjenih
- 6 vzorcev letnika 2015; 6 najboljše ocenjenih

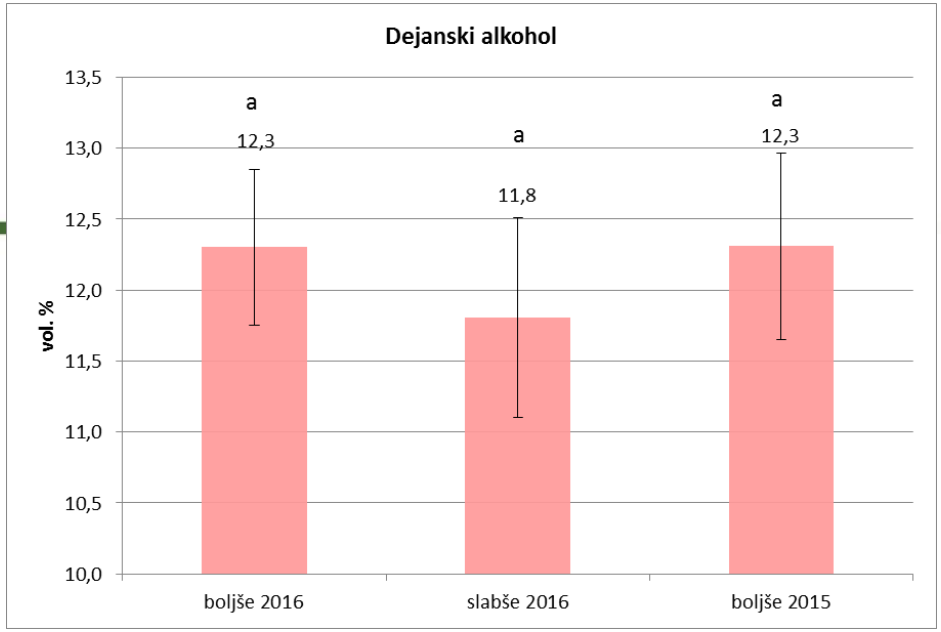


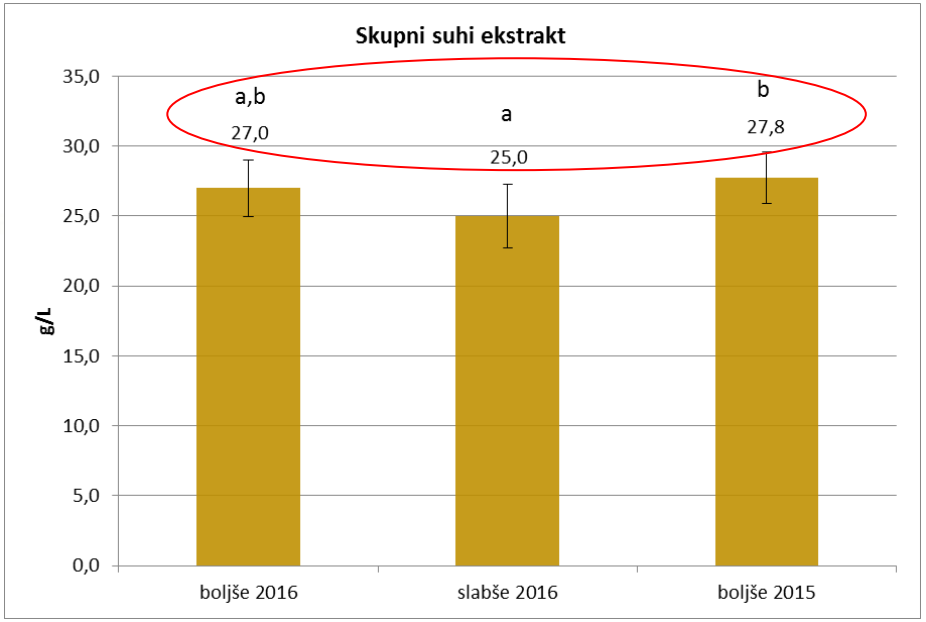
Analizne metode – osnovne fizikalno-kemijske analize

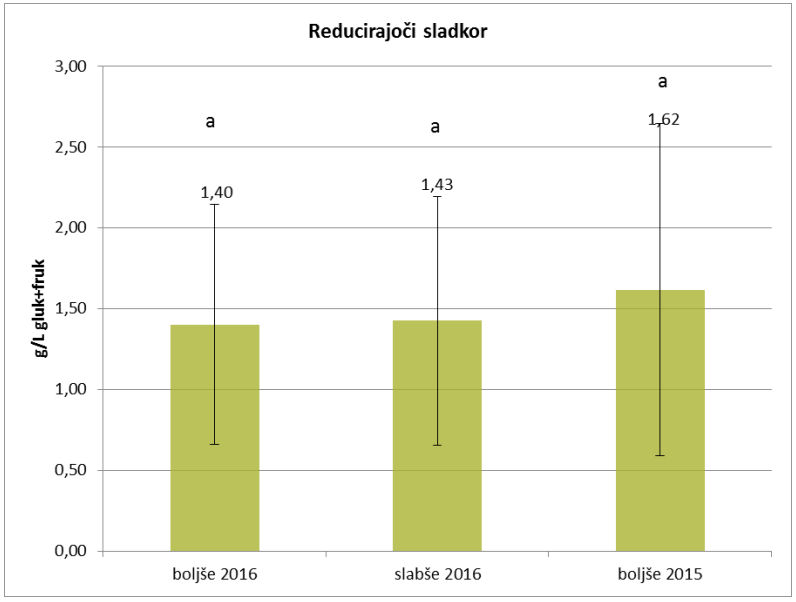
Standardne fizikalno-kemijske parametre grozdja smo določili z uradnimi metodami OIV (Compendium of international methods of wine and must analyses, Volume 1) in EU (Commision regulation EEC N. 2676/90).

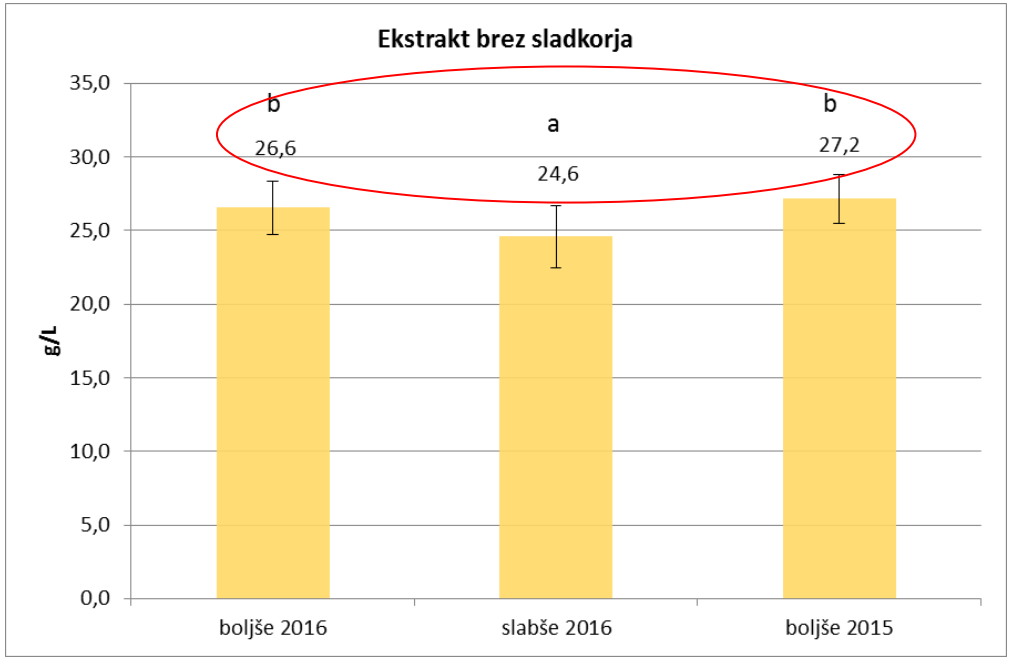
Standardne kemijske parametre vin smo določili z uradnimi metodami EU (Commision regulation EEC N. 2676/90, EC 335/2005), z izjemo parametrov: reducirajoči sladkor in hlapne kisline, ki so bili določeni z internimi metodami.

Tako analize standardnih kemijskih parametrov kot polifenolov in hlapnih spojin v vinih smo opravili 6 mesecev po ocenjevanju.

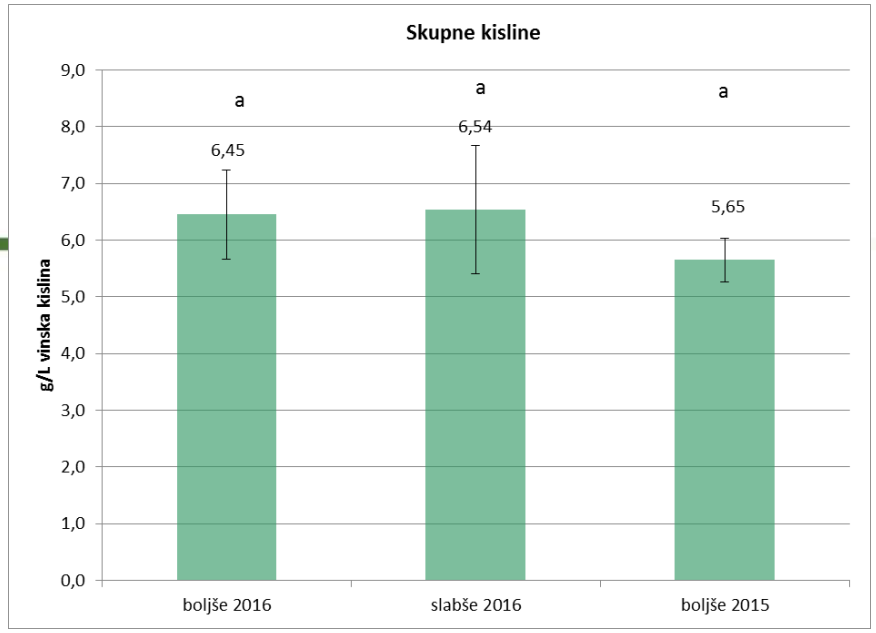


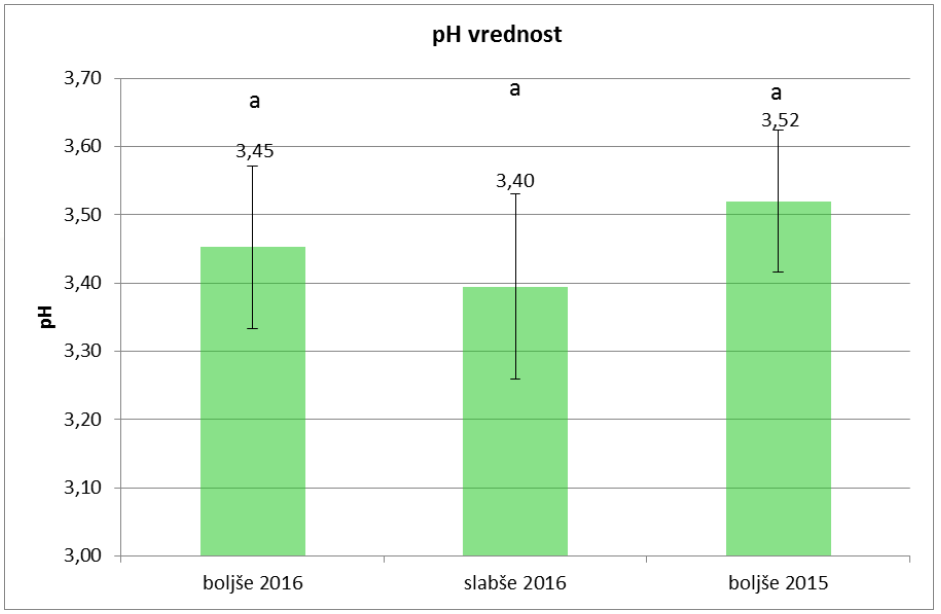


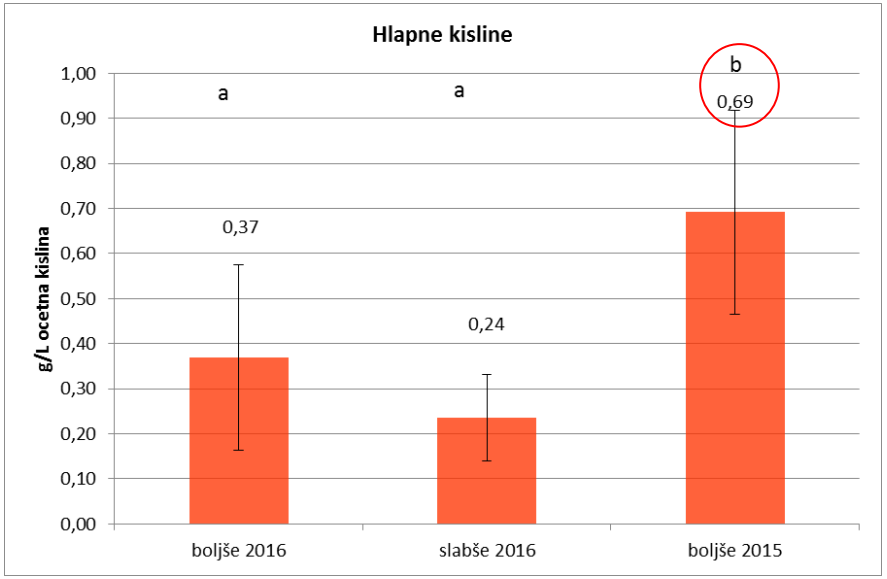




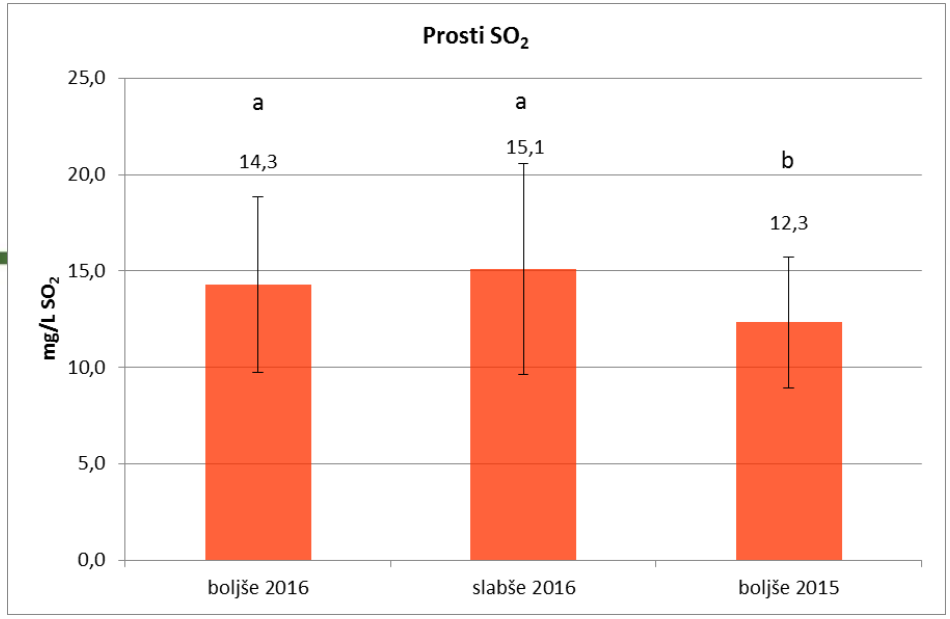
Kmetijski inštitut Slovenije

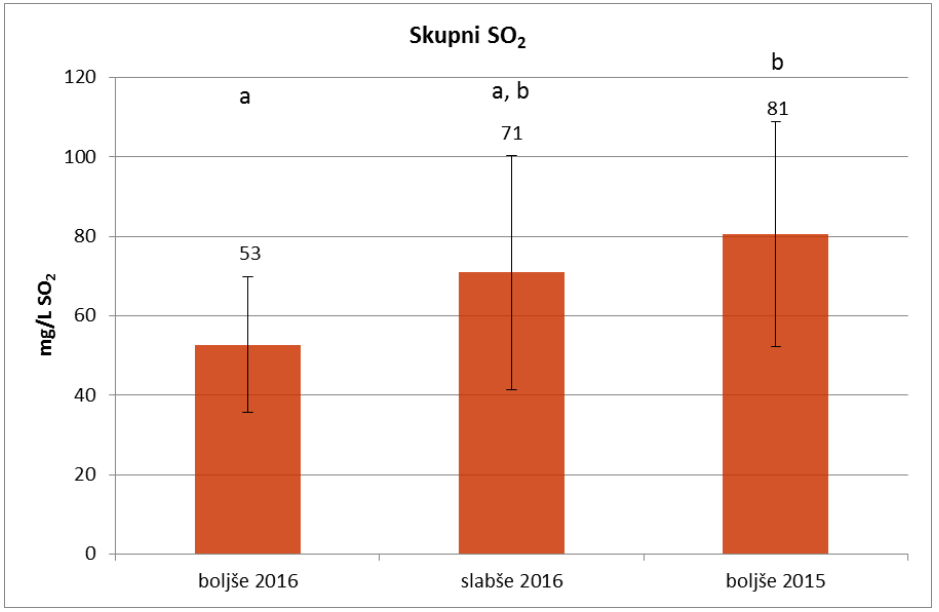


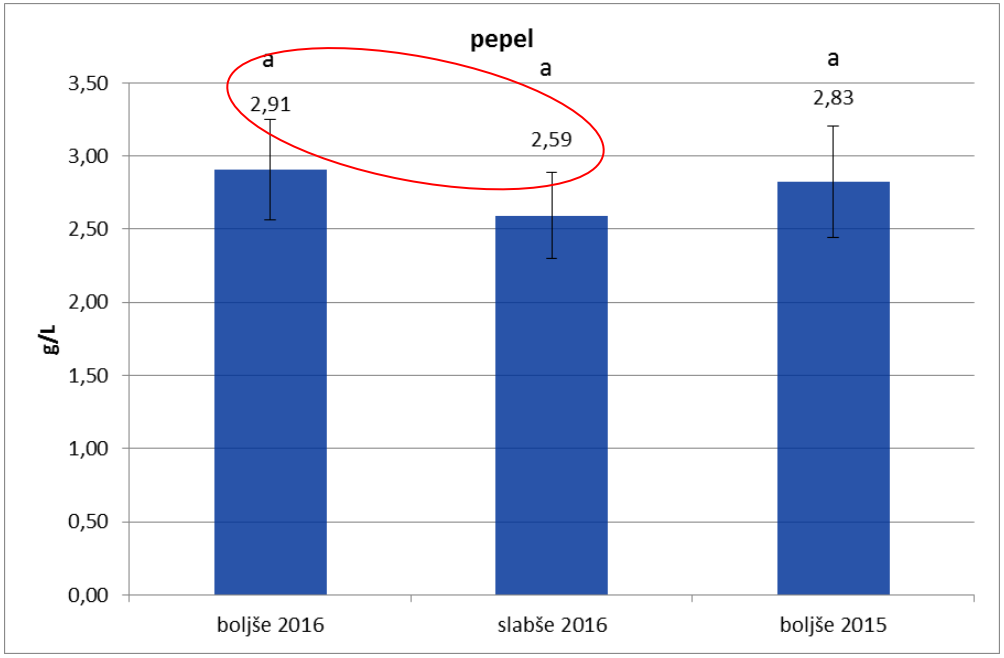




Kmetijski inštitut Slovenije



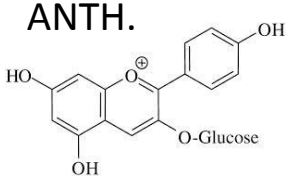




Kmetijski inštitut Slovenije

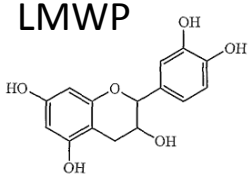
Polifenoli

ANTH.



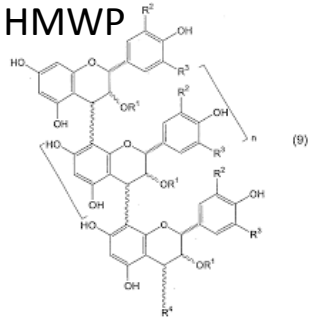
ANTOCIANI: rdeča barva vina, pozitivni učinki na vino = spektrofotomerične analize (Di stefano in sod., Rigo in sod.)

LMWP



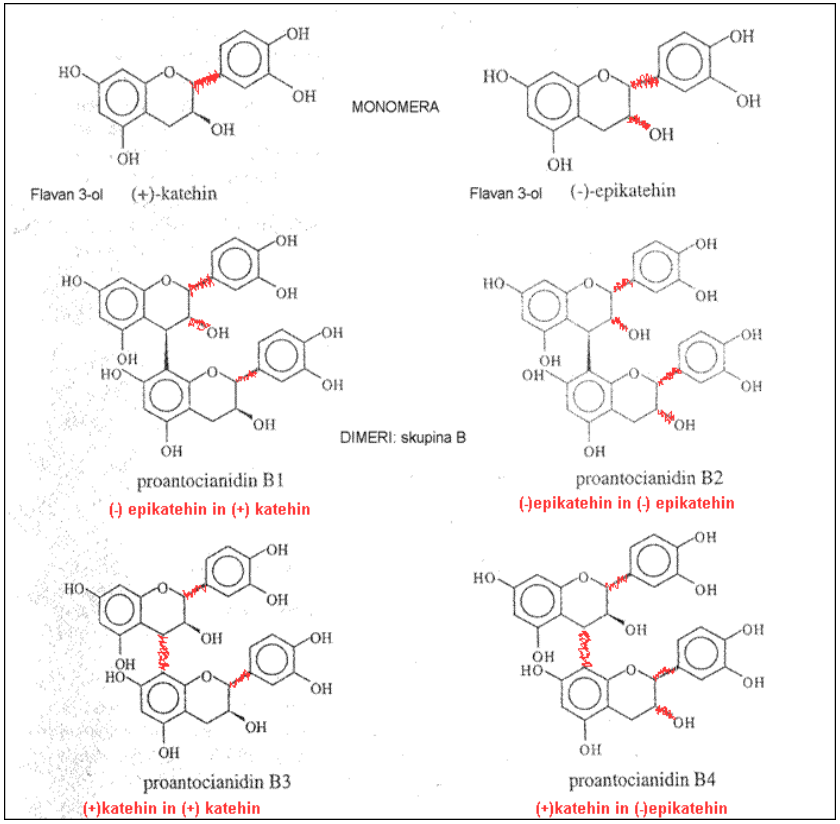
Low molecular weight proanthocyanidins
Nizkomolekularni tanini: grenkoba, vina, potencial staranja. (Vanilin index. Spektrofotometrično, Di stefano in sod., Rigo in sod.)

HMWP

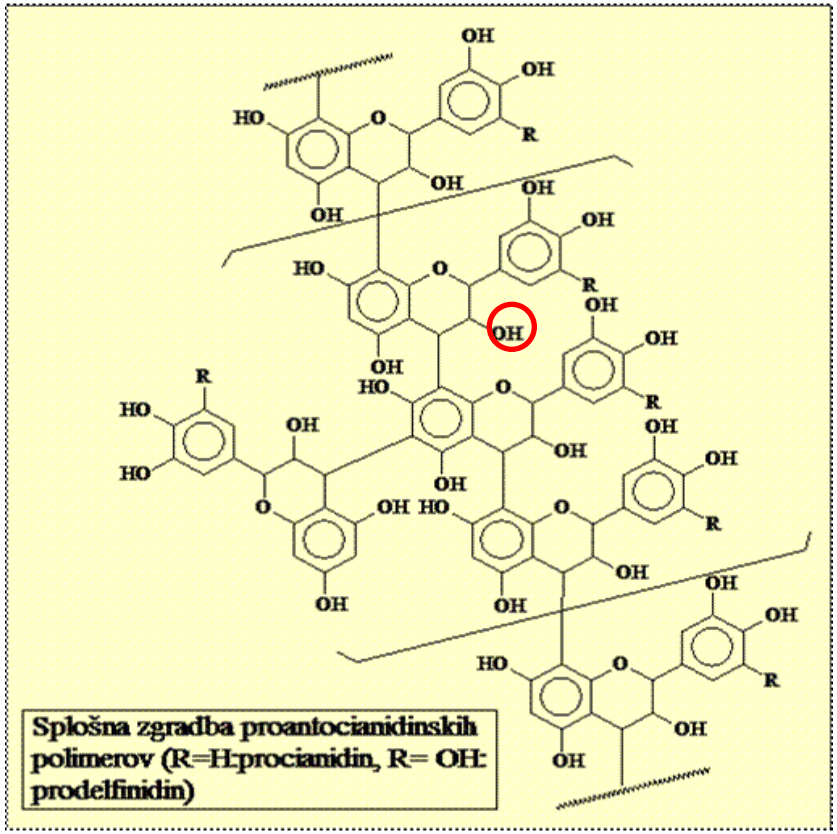


High molecular weight proanthocyanidins
Visokomolekularni tanini: trpkost (astringenca), telo vina, potencial staranja.
(Bate-Smith. Spektrofotometrično, Di stefano in sod., Rigo in sod.)

Nizko-molekularni tanini – povezujemo jih z grenkobo



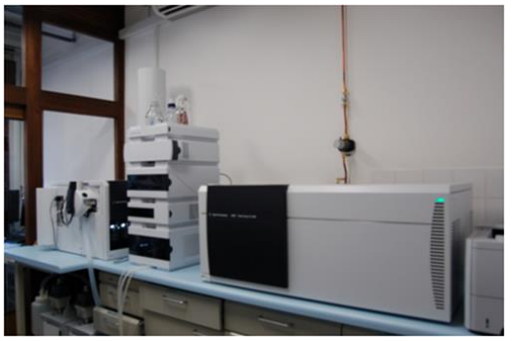
Visoko-molekularni tanini – vplivajo na trpkost



Strukture taninov: mDP, %G, %P

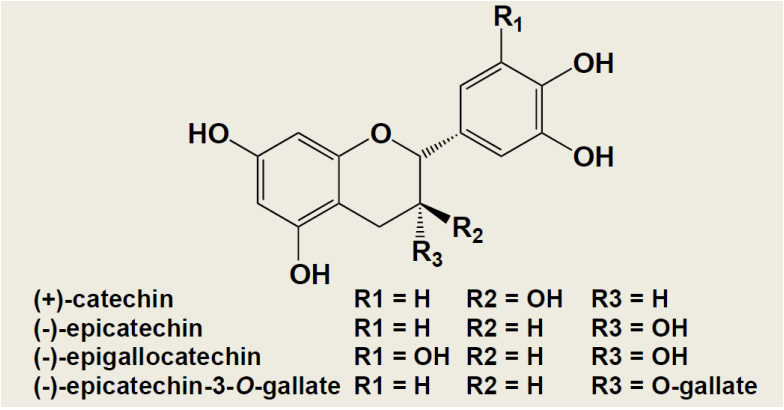
(LC-DAD-MS; floroglucinol, Chira in sod., 2011

Postavljena in validirana na KISu v letu 2017)

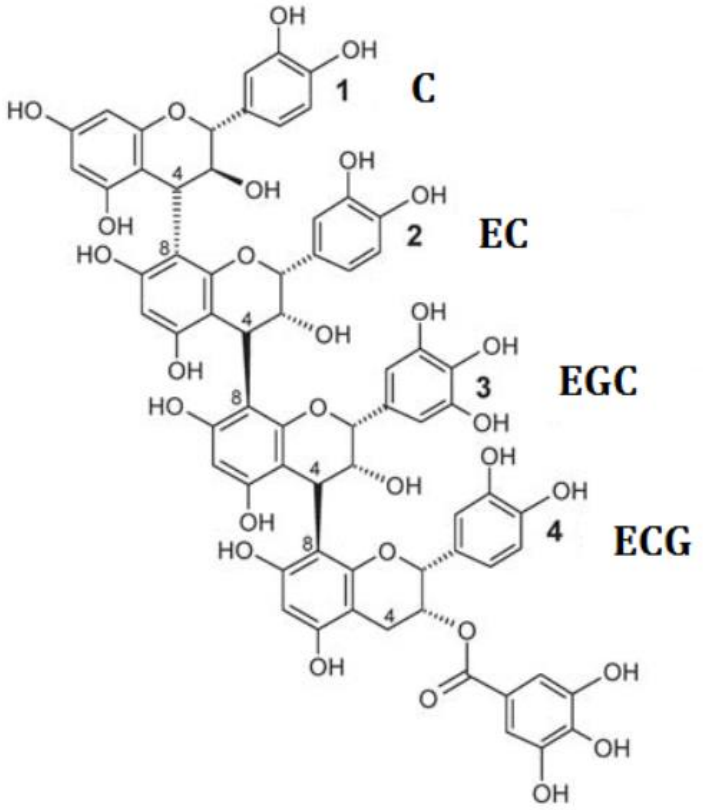


V grozdju in vinu so najbolj pomembni 4 monomeri, ki tvorijo polimerne proantocianidine (tanine)

- (+)-katehin (C)
- (-)-epikatehin (EC)
- (-)-epigalokatehin (samo v kožicah) (EGC = %P)
- (-)-epikatehin-3-*O*-galat (ECG = %G)



(+)-catechin	R1 = H	R2 = OH	R3 = H
(-)-epicatechin	R1 = H	R2 = H	R3 = OH
(-)-epigallocatechin	R1 = OH	R2 = H	R3 = OH
(-)-epicatechin-3-*O*-gallate	R1 = H	R2 = H	R3 = O-gallate



Hypothetical tannin tetramer (Adams 2006)

VINO

(fenolne spojine)

Vinifikacija

- -Vsebnost pečk, kožic, pecljev
- -Temperatura
- -Koncentracija alkohola
- -Dolžina maceracije
- -Aeracija
- -Način potapljanja klobuka
- -Sev kvasovk
- -Biološki razkis
- -Encimi
- -Čistilna sredstva
- -SO_2
- -pH

Grozdje

Sorta

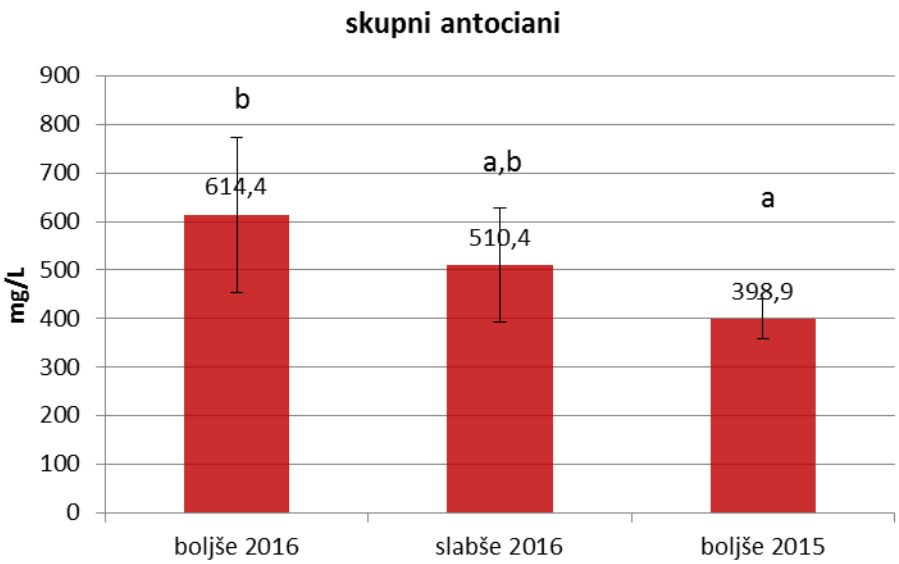
Mikroklimatski in pedološki dejavniki

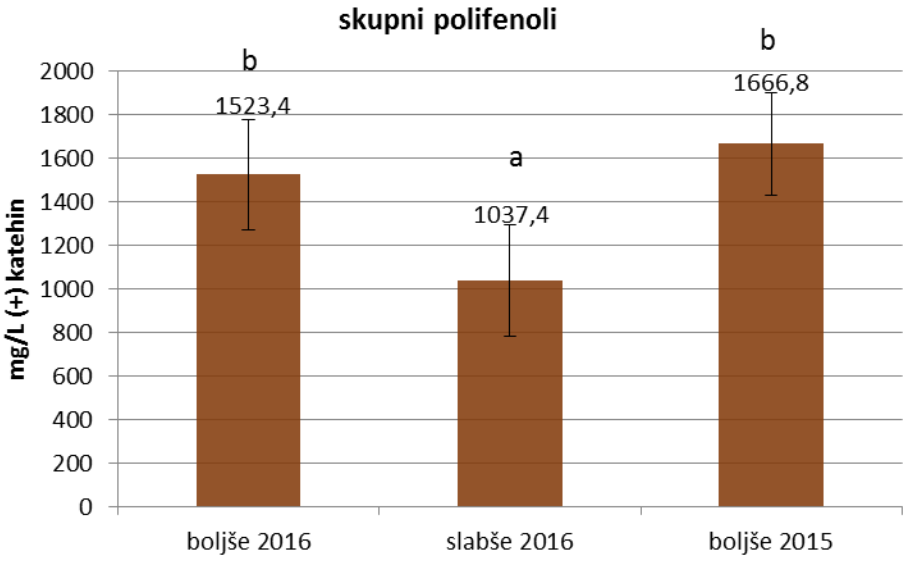
- -Tla
- -Osvetljenost
- -Temperatura

Vinogradniški dejavniki

- -Vzgojna oblika
- -Obremenjenost
- -Rastlinska hranila
- -Voda
- -Fenolna dozorelost

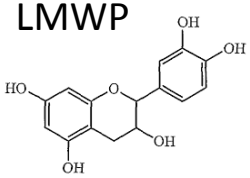
Rezultati: polifenolni profili



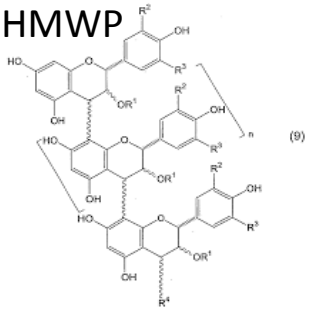


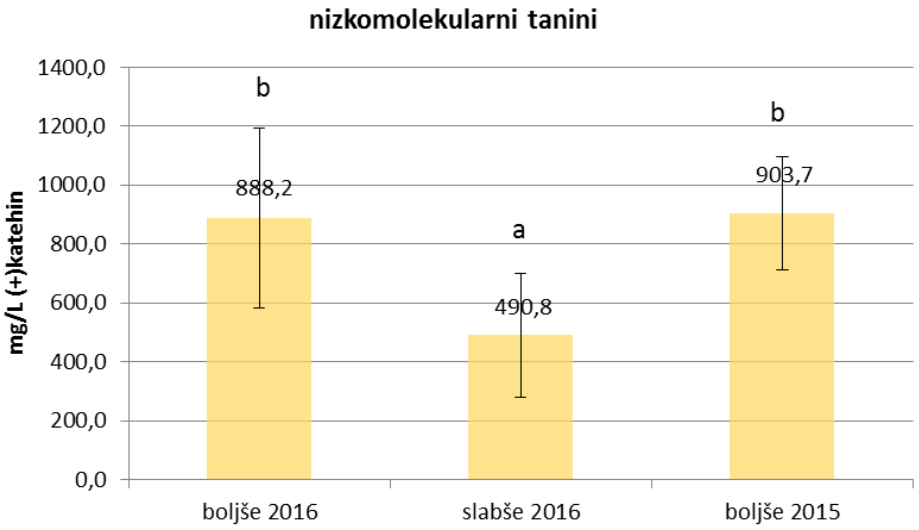
- Boljše ocenjene Frankinje imajo več antocianov. Letnik 2015 manjše vrednosti zaradi vezave antocianov s tanini.
- Bolšje ocenjene imajo +47% več skupnih polifenolov (l. 2016).

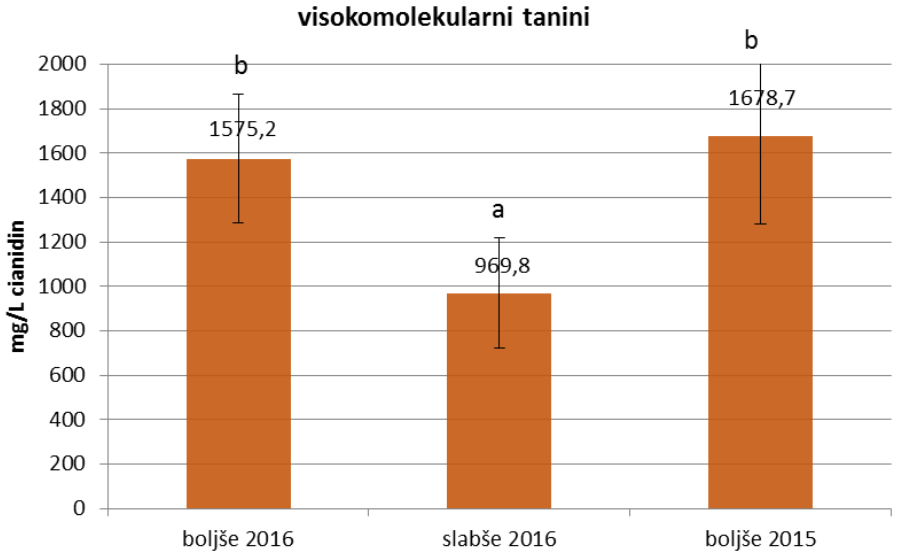
LMWP



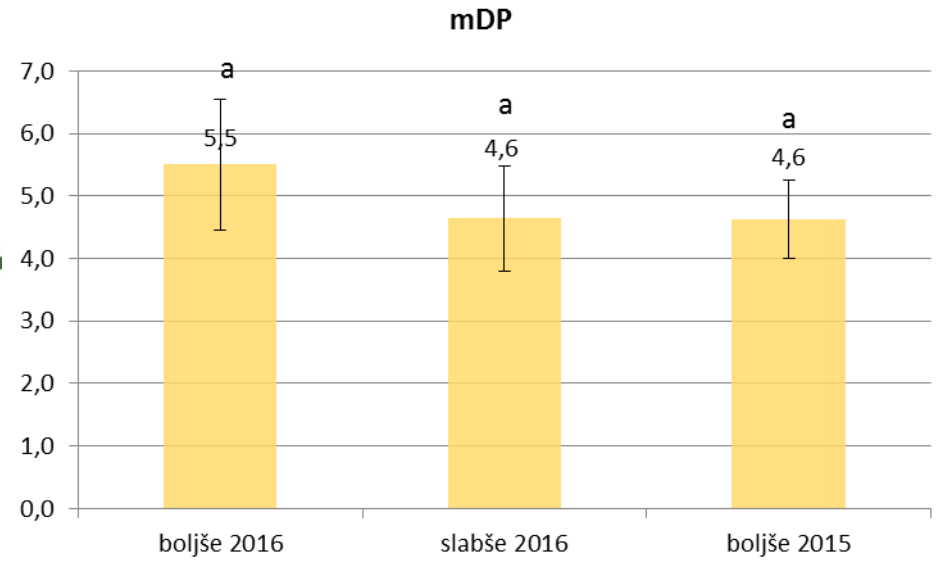
HMWP



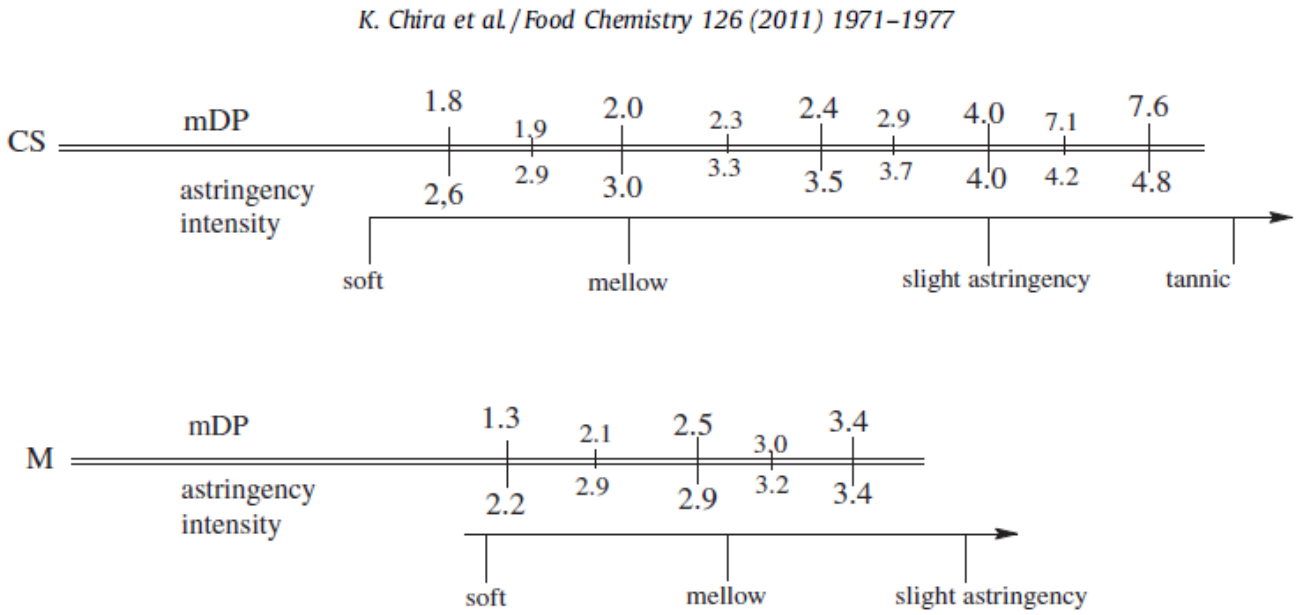




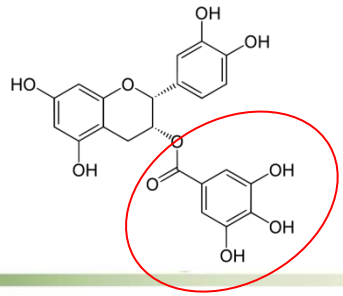
- Boljše ocenjene Frankinje imajo več taninov: LMWP (+81%), HMWP (+62%)
- Strukturne karakteristike?

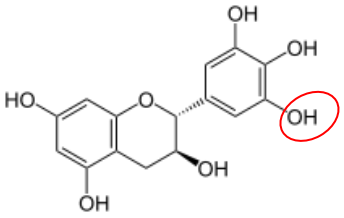


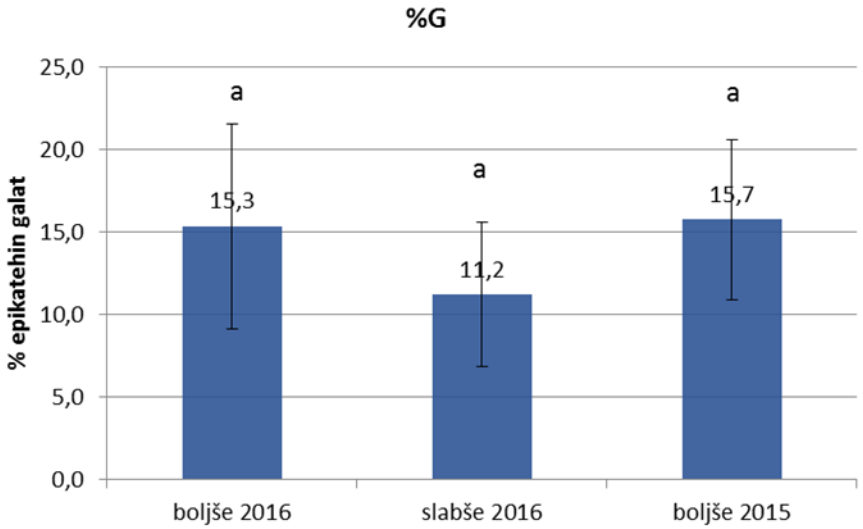
Boljše ocenjene Frankinje imajo ‚daljše tanine', vendar nismo potrdili statistično signifikantne razlike.

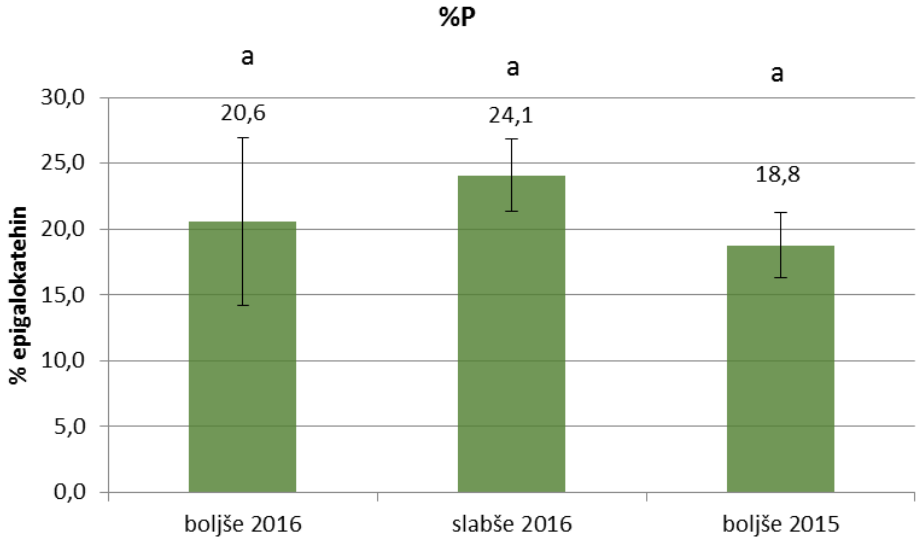


Korelacija med trpkostjo in mDP je R^2=0.71 za Cabernet Sauvignon in R^2=0.88 za Merlot (K. Chira 2011). Z leti zorenja vina mDP pada ($R^2 \geq 0.7$); npr. letnik 1978 (mDP=1.81), l.2002 (mDP=7.62) in 2005 (mDP =7.13).
mDP vpliva na trpkost (astringenco), ne pa na grenkobo vina.

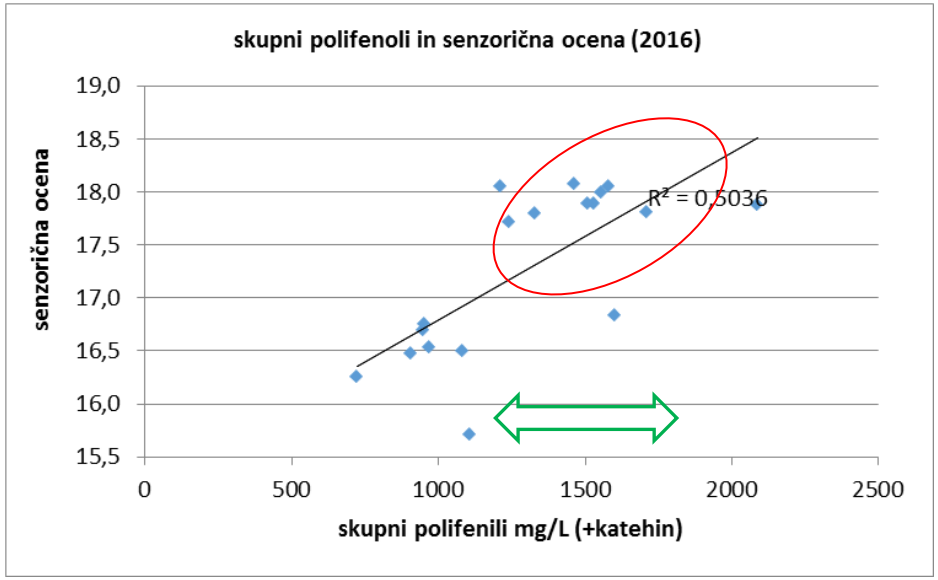


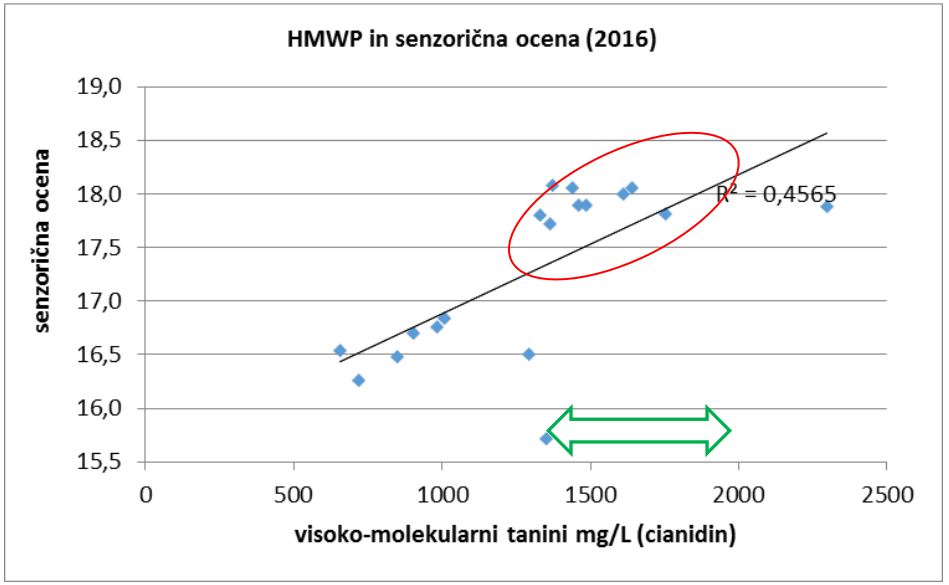


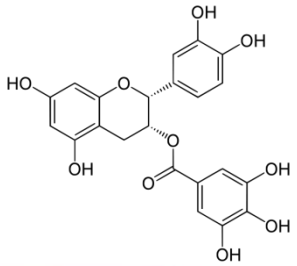


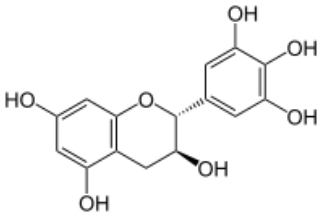


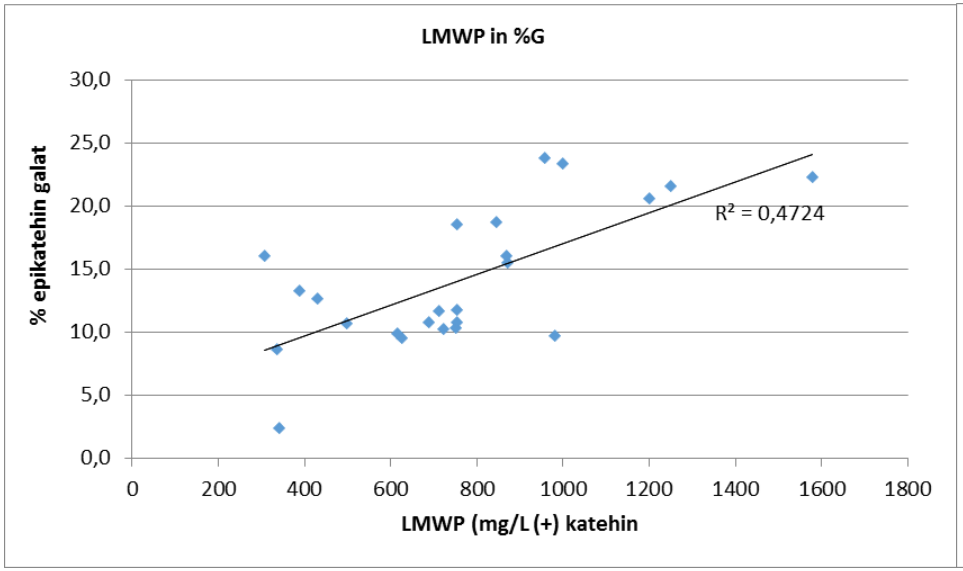
- Boljše ocenjene Frankinje imajo več epikatehin-galata in manjši delež epigalokatehina → večji delež taninov pešk → dalajše maceracije?!

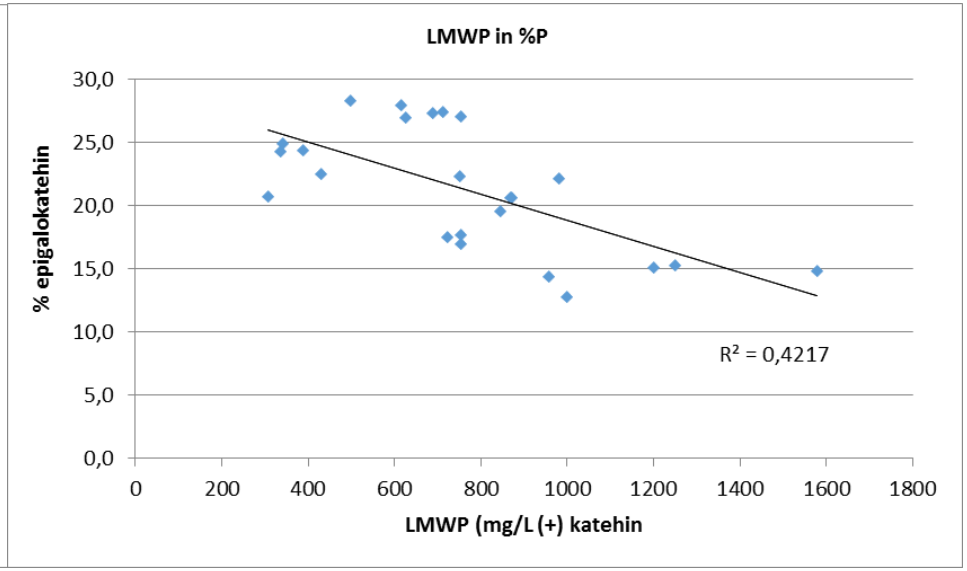

skupni polifenoli in senzorična ocena (2016)
senzorična ocena
19,0
18,5
18,0
17,5
17,0
16,5
16,0
15,5
0
500
1000
1500
2000
2500
skupni polifenili mg/L (+katehin)
R² = 0,5036


HMWP in senzorična ocena (2016)
senzorična ocena
19,0
18,5
18,0
17,5
17,0
16,5
16,0
15,5
0
500
1000
1500
2000
2500
visoko-molekularni tanini mg/L (cianidin)
R² = 0,4565

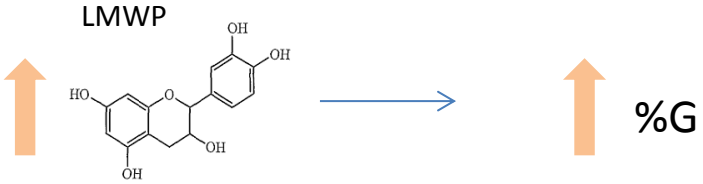








Večja ekstrakcija ‚kratkih' taninov (LMWP) pomeni večji delež %G (epikatehin galata iz pešk) ter manjši delež %P (epigalokatehina iz kožic).



Hlapne spojine (estri, višji alkoholi, terpeni…)

Hlapne spojine (estre, aldehide, ketone,…) smo določali s plinskim kromatografom GC-MS s predhodno ekstrakcijo z diklormetanom. Višje alkohole smo določali na GC-FID po predhodni destilaciji, terpene pa na HS-SPME-GC-MS (Bavčar et al., 2011; Bavčar in Baša-Česnik, 2011)

Estri, C6 spojine, aldehidi, ketoni, laktoni: diklormetan ekstrakcija + GC-MS: 16 spojin
Višji alkoholi: destilacija+GC-FID: 9 spojin
Terpeni: HS-SPME+GC/MS: 5 spojin

HLAPNE SPOJINE

	MF - Boljše 2016 n=10	MF - Slabše 2016 n=8	MF -Boljše 2015 n=6		Teran PTP n=82	Zaznavni prag (µg/L)
Senzorična ocena	**17,92** ± 0,12	**16,48** ± 0,35	**18,00** ± 0,13			
ALDEHYDES (µg/L)						
n-Hexaldehide (Capronaldehide)	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	
Benzaldehyde	**17,8** ± 13,9	**15,4** ± 14,1	**50,3** ± 80,2		10±17	350
Benzyl alcohol	**252,6** ± 46,6	**262,4** ± 54,7	**173,8** ± 49,7		195±164	200000
C6 COMPOUNDS (µg/L)						
1-Hexanol	**942,3** ± 433,9	**1254,2** ± 419,9	**705,1** ± 164,6		1292±531	8000
Cis-3-hexen-1-ol	**20,4** ± 8,0	**29,2** ± 9,4	**17,6** ± 11,7		65±47	400
ESTERS (µg/L)						
2-Phenyl-ethyl-acetate	**33,7** ± 18,6	**53,0** ± 34,7	**27,5** ± 18,1		49±22	250
Ethyl butanoate (Ethyl butyrate)	**33,9** ± 9,4	**40,2** ± 17,0	**40,0** ± 6,5		104±45	20
Ethyl decanoate (Ethyl caprate)	**20,8** ± 5,8	**27,2** ± 12,1	**17,6** ± 9,7		102±65	200
Ethyl dodecanoate (Ethyl laurate)	**2,7** ± 1,2	**3,9** ± 2,4	**3,0** ± 1,3		22±19	3500
Ethyl hexadecanoate (Ethyl palamitate)	**6,7** ± 14,1	**4,6** ± 6,4	**1,8** ± 1,3		70±131	1500
Ethyl hexanoate (Ethyl caproate)	**85,7** ± 20,7	**108,0** ± 42,9	**93,1** ± 29,4		179±46	14
Ethyl octanoate (Ethyl caprylate)	**82,7** ± 18,6	**101,5** ± 48,5	**67,9** ± 21,9		196±53	5
Hexyl acetate	n.d.	10,0 ± 5,5	16,6 ± 3,0		n.d.	1500
Isoamyl acetate	**179,1** ± 57,6	**197,9** ± 81,6	**204,2** ± 95,8		362±132	30
LACTONES (µg/L)						
γ-Butyrolactone	**8317,1** ± 6159,2	**5737,7** ± 1564,6	**11992,0** ± 5226,8		12920±3712	5000
KETONES (µg/L)						
β-Ionone	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	3.5

ESTRI

	LOQ (µg/L)	0,52	1,76	14,80	1,86	2,16	1,15	1,96	0,99	
vzorec	senzorična ocena	Etil butanoat (etil butirat) µg/L	Etil heksanoat (etil kaproat) µg/L	Etil oktanoat (etil kaprilat) µg/L	Etil dekanoat (etil kaprat) µg/L	Etil dodekanoat (etil laurat) µg/L	Etil heksadekanoat (etil palmitat) µg/L	Izoamil acetat µg/L	2-fenil-etil-acetat µg/L	sum µg/L
boljše 2016	17,92	**34** a	**86** a	**83** a	**21** a	**3** a	**7** a	**179** a	**34** a	**445**
slabše 2016	16,48	**40** a	**108** a	**101** a	**27** a	**4** a	**5** a	**198** a	**53** a	**536**
boljše 2015	18,00	**40** a	**93** a	**68** a	**18** a	**3** a	**2** a	**204** a	**28** a	**455**

Ni signifikantnih razlik v vsebnosti (etilnih) estrov.

Nad pragom zaznave: etil butanoat, etil heksanoat, etil oktanoat, izoamilacetat

C6 SPOJINE

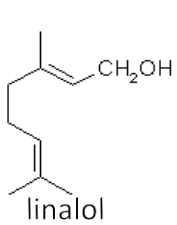
	LOQ (µg/L)	2,2	11,7
vzorec	senzorična ocena	1-heksanol (µg/L)	cis-3-heksen-1-ol (µg/L)
boljše 2016	17,92	**942** a,b	**20** a,b
slabše 2016	16,48	**1254** b	**29** b
boljše 2015	18,00	**705** a	**18** a

C6 spojine: višja vsebnost v slabše ocenjenih vinih ⟶ manj dozorelo grozdje

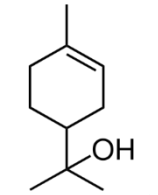
TERPENI

	LOQ (µg/L)	2	2	2	10	4	
vzorec	senzorična ocena	Linalool (µg/L)	alfa-terpineol (µg/L)	Citronellol (µg/L)	Nerol (µg/L)	Geraniol (µg/L)	Sum (µg/L)
boljše 2016	17,92	**41,9** a	**100,8** a	**22,4** a	-	**29,1** a	194,2
slabše 2016	16,48	**36,9** a	**108,9** a	**16,9** a	-	**29,3** a	191,2
boljše 2015	18,00	**46,2** a	**86,8** a	**18,2** a	-	**28,0** a	179,2
Prag zaznave (µg/L)		100	460	100	400	132	

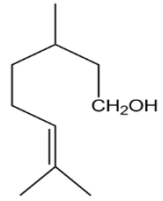
- Ni signifikantnih razlik v vsebnosti terpenov
- Vrednosti pod pragom zaznave ⟶ sinergijski efekt terpenov ?!



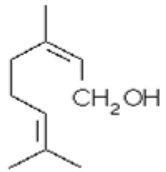
linalol



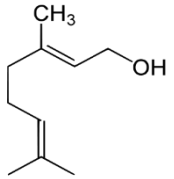
α-terpineol



citronelol



nerol



geraniol

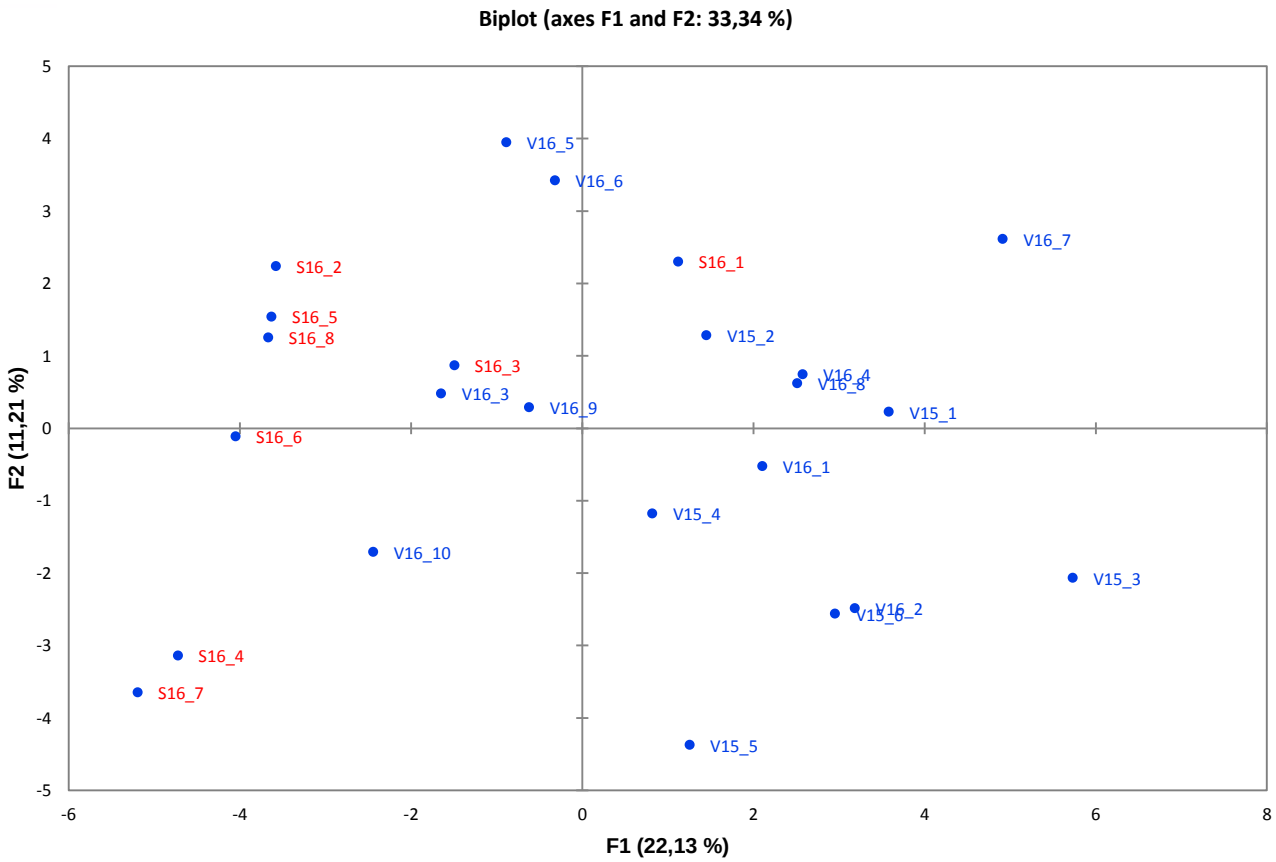
Kmetijski inštitut Slovenije

VIŠJI ALKOHOLI

vzorec	senzorična ocena	metanol mg/L	1-propanol mg/L	2-metilpropanol mg/L	1-butanol mg/L	2-metil butanol mg/L	3-metil butanol mg/L	2-fenil etanol mg/L	sum mg/L
boljše 2016	17,92	**175** a,b	**27** a	72 a	1,0 a	84 a	280 a	**53** a,b	693
slabše 2016	16,48	**151** a	**35** b	80 a	1,1 a	91 a	290 a	**63** b	712
boljše 2015	18,00	**222** b	**22** a	87 a	1,0 a	84 a	276 a	**46** a	736

Vsebnost metanola večja v boljše ocenjenih Modrih Frankinja ⟶ daljša maceracija, uporaba encimov, višja temperatura ?! …max dovoljena vsebnost metanola je 300 mg/L

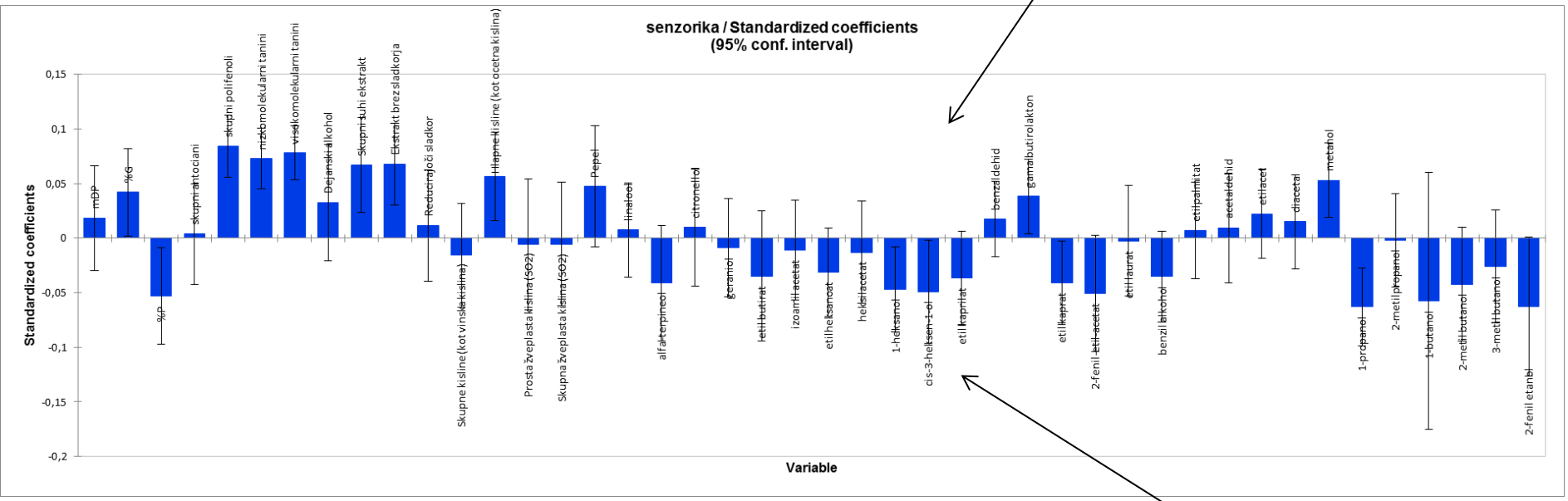
PCA ANALIZA



PCA analiza loči boljše (V) ocenjena vina od slabše (S) ocenjenih

PLS ANALIZA

Pozitivna korelacija s senzorično oceno



Negativna korelacija s senzorično oceno

Z boljšo senzorično oceno pozitivno korelirajo: skupni polifenoli, nizko-, visoko-molekularni tanini, skupni ekstrakt, ekstrakt brez sladkorja, hlapne kisline, gama-butirolakton, metanol. Negativno korelirajo: %P, 1-heksanol, cis-3-hekasnol, 1-propanol, 2-feniletanol

ZAKLJUČKI

- Analiza fizikalno-kemijskih parametrov (osnovni, sekundarni metaboliti) ter senzorična ocena z uporabo statističnih orodij je pokazala glavne parametre/spojine Modrih Frankinj, ki so jih ocenjevalci najboljše ocenili.

-Boljše ocenjene Modre Frankinje so izkazovale:

-Fizikalno kemijski parametri: več ekstrakta (skupni, brez sladkorja, več pepela, več hlapnih kislin, dejanski alkohol (pri zadnjih treh ni statističnih razlik).

-Polifenolni profili: več skupnih antocianov in skupnih polifenolov, več nizko- in visoko-molekularnih taninov, z večjo povprečno stopnjo polimerizacije ter večjim deležem galoilacije (%G).

-Hlapne spojine: več gamabutirolaktona, manj C6 spojin, več metanola.

ZAKLJUČKI

- Z raziskavo smo ovrednotili polifenolni in aromatski profil slovenskih Modrih Frankinj ter razložili glavne spojine, ki so pomembni za visoko-kakovostna vina.
- Glavna skupina sekundarnih metabolitov, ki pomembna vpliva na kakovost so tanini. Dolžina maceracije (delež taninov iz pešk ter njihova kakovost) sta zelo pomemben dejavnik. Kratke maceracije za Modre Frankinje niso najbolj primerne.
-Vinogradniške tehnologije (lega, dozorelost grozdja, doprinos, bujnost) so tisti parametri, ki jim bomo morali posvetiti več časa, saj je poznano, da so ključni pri pridelavi visokokakovostnih strukturnih vin – izziv za konzorcije, da oblikujejo pravila za določen stil vina.
-Modre Frankinje niso zelo bogate z estri, zato bo potrebno preučiti ostale hlapne spojine ter sinergistično delovanje (npr. terpeni). Le z boljšim vedenjem bomo optimizirali sadno-sortno aromo vina.

ZAHVALA

- Organizatorjem 7. festivala Modrih Frankinj iz Sevnice
- Pridelovalcem vin za vzorce
- Sodelavcem Kmetijskega Inštituta Slovenije (Sabina Verbuč) za pomoč pri analizah
- Uroš Žigon (Frutarom), za pomoč pri statistični obdelavi
- Programska skupina ARRS ‚Trajnostno kmetijstvo‘ za finančno podporo za izvedbo analiz

HVALA ZA POZORNOST