

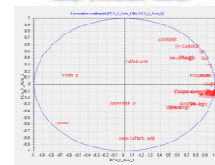
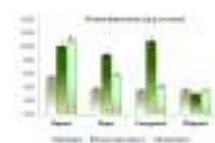
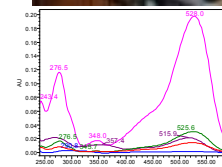
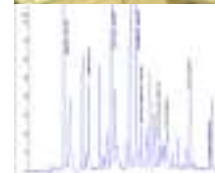
Тохем ЕНО Семинар  
26.04.2017, Демир Капија

# Фенолна карактеризација на црвени вина во различни фази на производството

**ВИОЛЕТА ИВАНОВА-ПЕТРОПУЛОС**

*Земјоделски факултет, Универзитет "Гоце Делчев",  
Штип, Македонија*

[violeta.ivanova@ugd.edu.mk](mailto:violeta.ivanova@ugd.edu.mk)



# Вино



“мешавина од хемија, биологија и психологија“

Од хемиска гледна точка, виното е **слошена матрица** на голем број соединенија: **јаглехидрати, алкохоли, алдехиди, естри, киселини, протеини, витамини, полифеноли: танини, антоцијани, флавоноли**, кои што значително влијаат на бојата и вкусот на виното.

ЕДНИ ОД НАЈЗНАЧАЈНИТЕ КОМПОНЕТИ во виното се **ПОЛИФЕНОЛИТЕ**

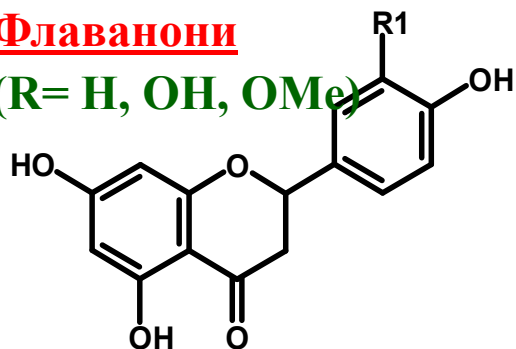


# ФЛАВОНОИДИ

- Слободни и полимеризирани со други флавоноли, јаглехидрати, нефлавоноиди.
- Естерифицирани со шеќери, органски киселини или алкохоли.
- **Флавоноидите се поделени на следните групи:**

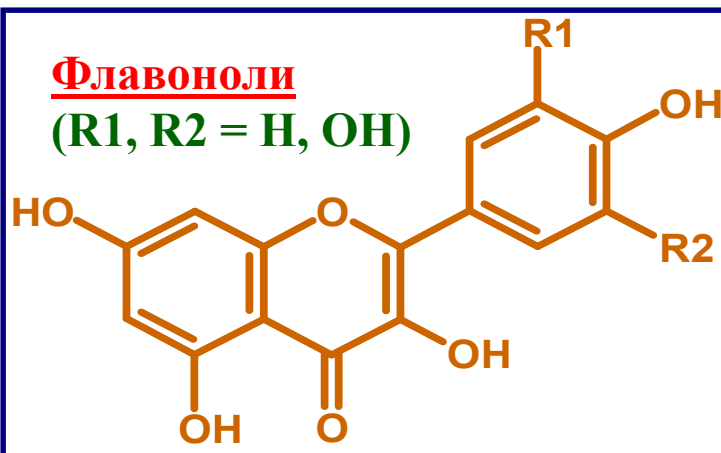
## Флаванони

(R = H, OH, OMe)



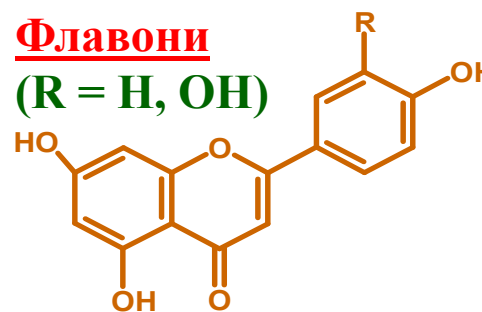
## Флавоноли

(R1, R2 = H, OH)



## Флаволи

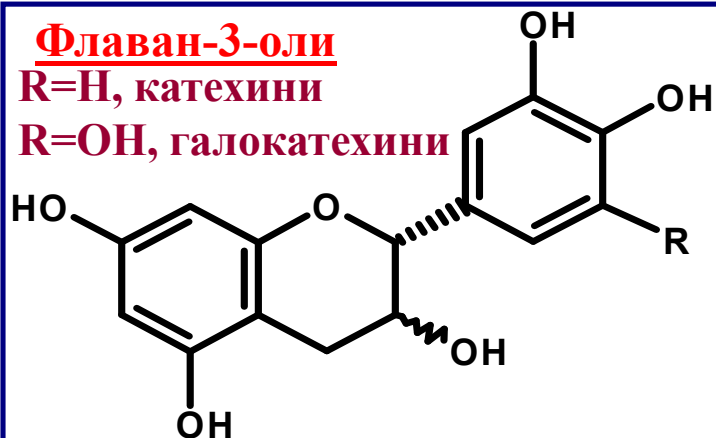
(R = H, OH)



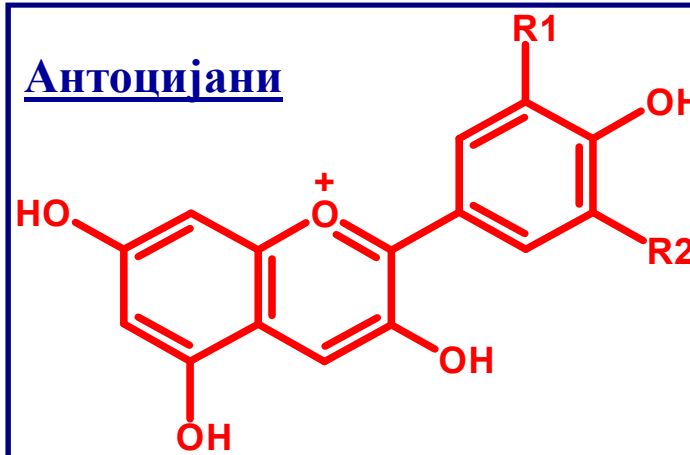
## Флаван-3-оли

R = H, катехини

R = OH, галокатехини

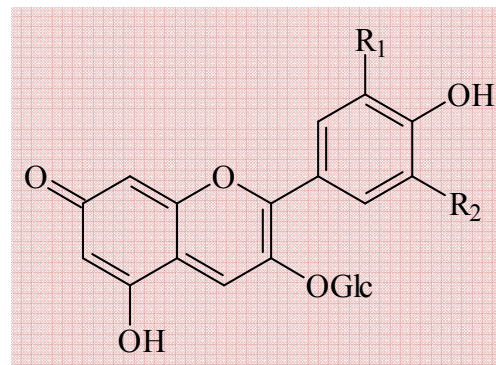


## Антоцијани





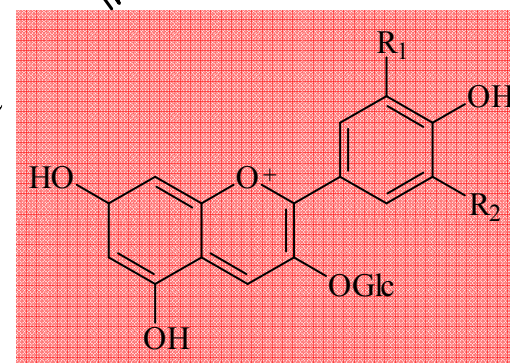
## Трансформации на антоцијани



Киноидна анхидробаза (А)

Во неутрална или базна средина

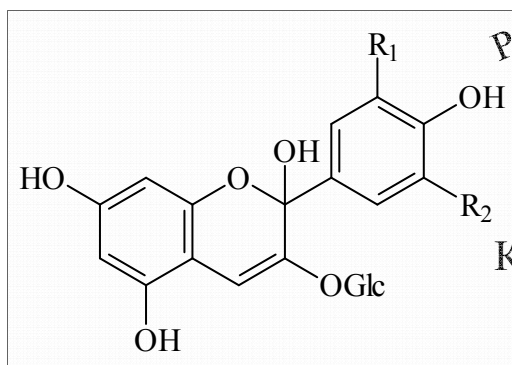
депротонација ( $-H^+$ )



Флавулиум катјон ( $AH^+$ )

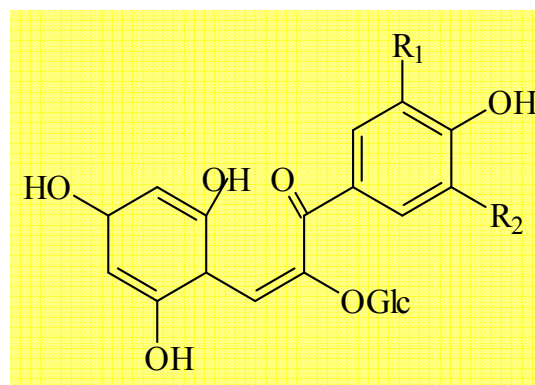
Во силно кисела средина

Карбинол база (В)



Реакција на хидратација ( $+H_2O/-H^+$ )

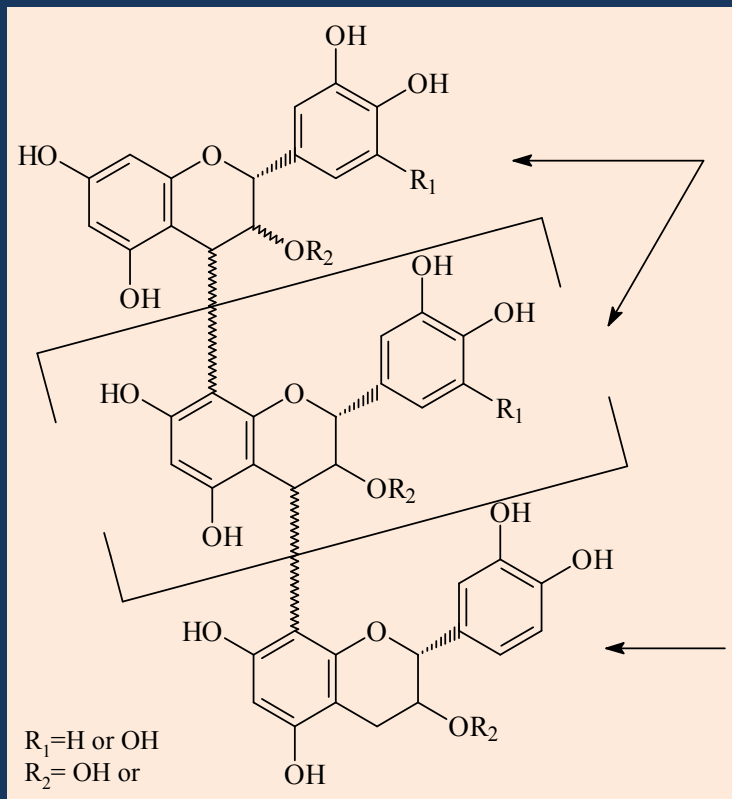
Таутомерна реакција



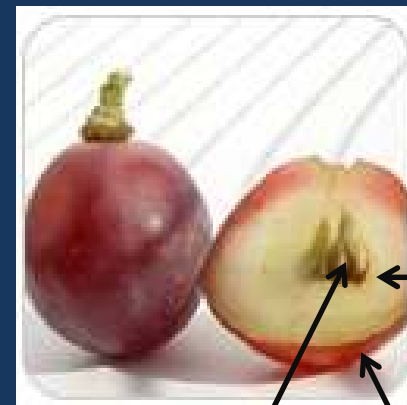
Халкон (С)



# Основна структура на кондензирани танини



Определување на танини:  
Киселинско-катализирана  
деполимеризација во  
присуство на силен  
нуклеофилен реагенс  
(флороглуцинол)



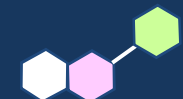
семки

пулпа

лушпа

- Состав на процијанидини
- Среден степен на полимеризација (mDP)
- Концентрација на ослободените мономерни единици

mDP луспи од грозје ~ 30, mDP во семки од грозје ~ 10  
(Souquet et al., 2000)



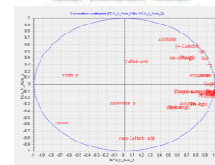
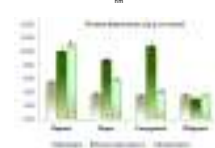
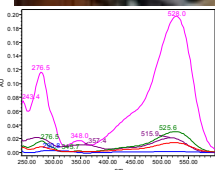
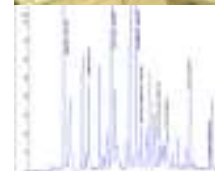
# АНАЛИТИЧКИ ТЕХНИКИ ЗА АНАЛИЗА НА ПОЛИФЕНОЛИ

## Спектрофотометрија

- ❖ Погодни за рутински анализи; брзи и едноставни методи
- ❖ Методи за определување на вкупни полифеноли (TP), вкупни антоцијани (TA), вкупни флавоноиди (TF), вкупни флаван-3-оли (TF<sub>3-ols</sub>).

## Високо-ефикасна течна хроматографија (HPLC)

- ❖ Разделување на полифенолите со примена на C18 колона
- ❖ Детекција со различни детектори: DAD, FLD, MS
- ❖ Бинарен систем за елуирање: поларен воден растворувач (оцетна киселина, фосфорна киселина или мравска киселина) и помалку поларен органски растворувач (метанол или ацетонитрил)
- ❖ **HPLC-MS** моќна и многу пософистицирана техника за карактеризација на полифеноли
- ❖ Проучување на структурата на полифенолите
- ❖ Детекција на нови соединенија





# АНАЛИЗА НА ВИНА



## 1. ВРАНЕЦ, КАБЕРНЕ СОВИЊОН, МЕРЛО

- - различни години на берба (2006, 2007, 2008)



## 2. ВРАНЕЦ, КАБЕРНЕ СОВИЊОН

- Мацерација од 3, 6 и 9 дена
- Алкохолна ферментација со два комерцијални квасци: Vinalco и Lavuline
- SO<sub>2</sub>: 30 и 60 mg/L



## 3. ВРАНЕЦ, КАБЕРНЕ СОВИЊОН, СИРА

- Различно географско потекло
- Квасци за ферментација: Clos, RC212, D254, BDX, Vinalco
- SO<sub>2</sub>: 65 mg/L

# ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ



**HPLC систем:** Agilent 1100 Series, DAD (G1315B) и а LC/MSD Trap VL (G2445C VL) electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS<sup>n</sup>).

## Анализа на антоцијани и други пигменти:



**Подготовка на примерок:** Разредување на виното, 1:4 со HCl 0,1N

**Мобилна фаза:** **A** - вода/ацетонитрил/мравска киселина (87:3:10, v/v/v), **B** - вода/ацетонитрил/мравска киселина (40:50:10, v/v/v)

Брзина на проток: 0,63 mL/min  
DAD: 520 nm

Градиент за фаза Б:

t/min	Б (%)
0	6
15	30
30	50
35	60
38	60
46	6



Ivanova-Petropulos et al. (2015) *J. Food Comp. Anal.* 41, 1-14.

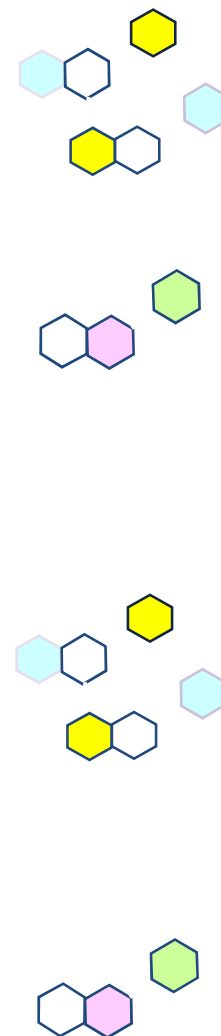


# ВЛИЈАНИЕ НА ТЕХНОЛОШКИТЕ ПОСТАПКИ

Концентрација на поединечни антоцијани во вина Вранец и Мерло произведени со различни винификации

Пигменти во ВРАНЕЦ		В30-Мак			В30-Фр		
		3 дена	6 дена	10 дена	3 дена	6 дена	10 дена
3- моноглюкозиди	Дп	0.1	4.38	1.7	0.2	4.4	2.5
	Ци	0.02	0.37	0.17	0.04	0.38	0.25
	Пт	0.27	6.58	2.68	0.25	7.51	3.57
	Пн	0.33	4.98	2.36	0.35	5.75	2.89
	Мв	2.87	47.93	25.82	2.68	55.17	29.24
	<b>Σ</b>	<b>3.59</b>	<b>64.24</b>	<b>32.73</b>	<b>3.52</b>	<b>73.21</b>	<b>38.45</b>

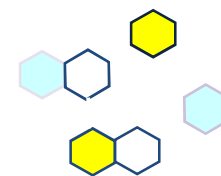
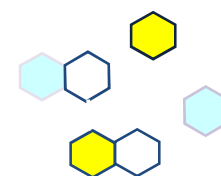
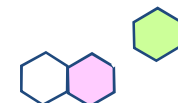
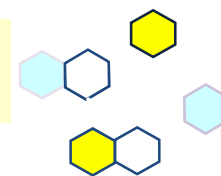
Пигменти во МЕРЛО		М30-Мак			М30-Фр		
		3 дена	6 дена	10 дена	3 дена	6 дена	10 дена
3- моноглюкозид и	Дп	0.08	1.06	1.9	0	0.58	2.1
	Ци	0.03	0.05	0.11	0	0.03	0.16
	Пт	0.35	1.6	2.8	0	0.82	2.89
	Пн	0.34	1.48	1.67	0.14	1.2	3.46
	Мв	7.58	22.7	32.6	0.3	14.01	33.08
	<b>Σ</b>	<b>8.38</b>	<b>26.89</b>	<b>39.08</b>	<b>0.44</b>	<b>16.64</b>	<b>41.69</b>



# ВЛИЈАНИЕ НА ТЕХНОЛОШКИТЕ ПОСТАПКИ

Концентрација на проантоцијанидини во вина Вранец и Мерло произведени со различни винификации

Танини во ВРАНЕЦ	В30-Мак			В30-Фр		
	3 дена	6 дена	10 дена	3 дена	6 дена	10 дена
mDP	2.49	4.45	4.45	3.42	4.52	4.61
Вкупни танини (mg/L)	58.2	248	317	93.9	318	389
Танини во МЕРЛО	М30-Мас			М30-Фр		
	3 дена	6 дена	10 дена	3 дена	6 дена	10 дена
mDP	2.19	2.45	3.60	1.52	3.12	3.29
Вкупни танини (mg/L)	62.8	206	369	52.3	152	298



# ВЛИЈАНИЕ НА ГЕОГРАФСКОТО ПОТЕКЛО НА СОДРЖИНАТА НА АНТОЦИЈАНИ

Вина*	Dp-Glc	Cy-Glc	Pt-Glc	Pn-Glc	Mv-Glc	Total Glc
V-L1	2.1	27.2	0.9	143.0	344	388
V-L2	19.8	1.1	43.3	24.3	347	435
V-L3	63.2	5.0	99.1	40.2	335	543
V-L4	16.5	n.d.	41.5	19.5	355	433
V-Vi1	38.8	8.1	82.3	73.0	544	746
V-Vi2	99.6	20.1	154	134	887	1296
V-Vi3	76.6	7.5	114	68.1	524	790
V-Vi4	35.7	1.0	63.1	33.6	378	512
V-Vi5	59.7	5.5	89.4	50.6	411	617
V-Vi6	28.9	4.8	47.4	27.9	235	345
S-S	18.9	n.d.	41.3	12.8	541	614
CS-S	31.6	0.1	28.8	10.3	258	329
M-S	50.8	2.7	51.4	23.1	251	379
S-G	14.9	n.d.	32.7	16.9	408	472
CS-G	13.6	n.d.	17.1	4.7	472	507
M-G	15.7	n.d.	27.7	17.5	397	458
S-N	14.7	n.d.	29.6	15.2	316	375
CS-N	26.6	n.d.	32.4	11.9	497	568
M-N	26.4	0.7	41.8	24.4	408	501
S-K	15.1	n.d.	34.7	13.4	489	552
CS-K	27.8	n.d.	26.9	9.5	229	294
M-K	34.7	1.3	35.1	16.0	173	260

\*Abbreviation of wines: V-Vranec, S- Syrah, CS-Cabernet Sauvignon, M-Merlot.

Abbreviation of wine regions: S-Skopje, G-Gradsko, N-Negotino, K-Kavadarci.

Abbreviation of yeasts: Vi-Vinalco yeast, *Saccharomyces servisie*; L-Lallemand yeasts.

Dp-delphinidin, Cy-cyanidin, Pt-petunidin, Pn-peonidin, Mv-malvidin, Glc-glucoside, AsGlc-acetylglucoside, coumGlc-coumaroylglucoside.

# ЗАКЛУЧОЦИ



Вината се карактеризираат со висока содржина на:

- Антоцијани,
- Витисински пираноантоцијани
- Хидроксифенилни пираноантоцијани
- Фенолни киселини
- Стилбени

Сита вината покажаа ВИСОКА АНТИОКСИДАНТНАТА АКТИВНОСТ во ЛИНЕАРНА КОРЕЛАЦИЈА со содржината на сите фенолни групи.



✓ Во текот на мацерацијата:

- Антоцијаните достигнуваат највисока содржина после 6 дена кај ВРАНЕЦ, односно после 10 дена кај МЕРЛО
- Танини има најмногу во вината мацерирани 10 дена, како и највисок степен на mDP

✓ Влијание на квасецот:

- Локалните квасци го подобруваат полифенолниот состав на вината – повисоки содржина на феноли, антоцијани, боја, фенолни киселини и антиоксидантна активност кај вината Вранец.





**Со вино и надеж сè е  
можно!**

**Ви благодарам на вниманието!**