

**Właściwości fizykochemiczne winogron
oraz win produkowanych
w południowo-wschodniej Polsce**

Ireneusz Kapusta

**Właściwości fizykochemiczne winogron
oraz win produkowanych
w południowo-wschodniej Polsce**



WYDAWNICTWO
UNIwersytetu Rzeszowskiego
RZESZÓW 2016

Recenzowała
prof. dr hab. ANNA STOCHMAL

Opracowanie redakcyjne i korekta
WŁADYSŁAW WÓJTOWICZ

Opracowanie techniczne
EWA KUC

Łamanie
ANDRZEJ LEWANDOWSKI

Projekt okładki
WOJCIECH PĄCZEK

*Praca wykonana ze środków Narodowego Centrum Nauki
przyznanych na podstawie DEC-2011/01/B/NZ9/02611*

© Copyright by
Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego
Rzeszów 2016

ISBN 978-83-7996-356-0

1339

WYDAWNICTWO UNIwersYTETU RZESZOWSKIEGO
35-959 Rzeszów, ul. prof. S. Pigoń 6, tel. 17 872 13 69, tel./fax 17 872 14 26
e-mail: wydaw@ur.edu.pl; <http://wydawnictwo.ur.edu.pl>
wydanie II; format B5; ark. wyd. 10,50; ark. druk. 11,75; zlec. red. 129/2016
Druk i oprawa: Drukarnia Uniwersytetu Rzeszowskiego

Spis treści

1. Wstęp	7
1.1. Historia winiarstwa w Polsce	7
1.2. Rozwój winiarstwa na Podkarpaciu	9
1.3. Prozdrowotne właściwości winogron oraz wina	11
1.3.1. Właściwości przeciwutleniające	12
1.3.2. Wpływ na gospodarkę lipidową	13
1.3.3. Właściwości immunomodulacyjne i przeciwzapalne	14
1.3.4. Zapobieganie schorzeniom układu sercowo-naczyniowego	15
1.3.5. Właściwości antynowotworowe	16
1.3.6. Działanie antybakteryjne i antywirusowe	18
1.3.7. Pozostałe właściwości	18
1.4. Charakterystyka polifenoli	20
1.4.1. Znaczenie polifenoli w profilaktyce chorób cywilizacyjnych	24
2. Geneza i cel pracy	26
3. Materiał i metody	28
3.1. Materiał badawczy	28
3.2. Przygotowanie owoców do analizy na zawartość związków polifenolowych	31
3.3. Analiza profilu związków polifenolowych	31
3.3.1. Analiza jakościowa	32
3.3.2. Analiza ilościowa	32
3.4. Analiza parametrów enologicznych	33
3.5. Pomiar zawartości siarki w winach	34
3.6. Pomiar aktywności przeciwutleniającej	34
3.7. Oznaczanie parametrów barwy	35
3.8. Analiza statystyczna	35
4. Omówienie wyników i dyskusja	36
4.1. Identyfikacja związków polifenolowych w winogronach	36
4.1.1. Antocyjany	36
4.1.2. Flawonole	43
4.1.3. Flawan-3-ole	46
4.1.4. Fenolokwasy	47
4.1.5. Stilbeny	48
4.2. Analiza profilu związków polifenolowych w winogronach	50
4.2.1. Profil związków antocyjanowych	50
4.2.2. Profil flawonoli	58
4.2.3. Profil flawan-3-oli	70
4.2.4. Profil fenolokwasów	79
4.2.5. Profil stilbenów	85
4.2.6. Porównanie całkowitej zawartości związków polifenolowych w owocach winogron ..	90

4.3. Właściwości fizykochemiczne win	96
4.3.1. Występowanie i zawartość związków polifenolowych w winie	96
4.3.1.1. Antocyjany	96
4.3.1.2. Flawonole	103
4.3.1.3. Flawan-3-ole	112
4.3.1.4. Fenolokwasy	120
4.3.1.5. Stilbeny	126
4.3.1.6. Porównanie całkowitej zawartości związków polifenolowych w winach	132
4.3.2. Parametry enologiczne analizowanych win	138
4.3.3. Ocena barwy win	149
4.4. Właściwości antyoksydacyjne owoców oraz win	152
4.4.1. Porównanie aktywności przeciwutleniającej w wybranych owocach winogron	152
4.4.2. Porównanie aktywności przeciwutleniającej wybranych win	156
5. Wnioski	159
Bibliografia	162
Spis tabel i rysunków	179
List of tabels and figures	183
Summary	186

1. Wstęp

Wino, często nazywane „napojem bogów”, to napój alkoholowy uzyskiwany w wyniku fermentacji alkoholowej miazgi lub soku z winogron. Istnieją setki odmian, smaków i rodzajów wina. Jego smak oraz bukiet zapachowy zależą od rodzaju szczepów winogron, sposobu ich uprawy, klimatu i ziemi, na której się je uprawia. Najpowszechniej stosowanym owocem do produkcji wina są winogrona. Historia wina jest tak znana, jak historia ludzkości. Użytkowanie winorośli przez człowieka prawie od samego początku było związane z wyrobem wina. W dorzeczu Eufratu i Tygrysu oraz na ziemiach dzisiejszego Iranu i Afganistanu winorośl uprawiano blisko 5000 lat p.n.e. Około 1500 lat później w ówczesnej Babilonii i Asyrii znano już sposób przerobu winogron na wino. Spożycie wina pełniło istotną rolę w życiu człowieka. Winorośl zaczęto uprawiać na terenach Azji Mniejszej, a przede wszystkim na Kaukazie i w Chinach, w Egipcie, potem w Grecji. Uprawa winorośli rozprzestrzeniła się za panowania Rzymian na całe Imperium Rzymskie, zwłaszcza na Dalmację, a następnie dalej na Afrykę Północną, Francję, Hiszpanię i Portugalię. W czasach faraonów za najlepszą z winorośli uznawano odmianę, która nazywała się Kankomet. Odmiana ta była uprawiana także w winnicach Ramzesa III (1198–1167 p.n.e.). Uprawę winnic i produkcję wina w średniowiecznej Europie zapoczątkował zakon benedyktynów. Wyrabiane przez benedyktynów wino było przeznaczone na sprzedaż w takich rejonach, jak Bordeaux, Burgundia i w wielu innych miejscach. Następnie tę tradycję przejęli cystersi. Wino było używane w obrzędach religijnych, stanowiło też element codziennej diety, jak również było wykorzystywane jako środek dezynfekujący oraz leczniczy. W tamtych czasach odkryto bowiem kosmetyczne, dietetyczne i zdrowotne właściwości winogron. Już wówczas były popularne zabiegi z użyciem winorośli, szczególnie liści winogron, soku z winogron czy też samego wina.

1.1. Historia winiarstwa w Polsce

Historia winiarstwa w Polsce, wbrew pozorom, sięga odległych czasów. Winna latorośl w stanie dzikim porastała teren Polski już w miocenie (ok. 5 mln lat p.n.e), o czym świadczą odnalezione nasiona winorośli w kopalni soli w Wieliczce. Do Polski winorośl dotarła wraz z chrześcijaństwem, a za prekursorów

winiarstwa uważa się powszechnie benedyktynów i cystersów. W przyklasztornych gospodarstwach uprawiali oni winorośl i wyrabiali wino głównie na potrzeby liturgiczne. Stan ówczesnych dróg był zły i transport zbyt kosztowny, aby wino mszalne sprowadzać z zagranicy. Według niektórych historyków rozpowszechnienie winnic w Wielkopolsce było zasługą kolonistów niemieckich. Wykopaliska archeologiczne świadczą, że już na przełomie IX i X wieku winorośl uprawiano na terenach Małopolski, z tego bowiem czasu pochodzą pozostałości winnicy odkryte na zboczach Wawelu (Bosak 2004). Według Władysława Korcza najstarszym dokumentem potwierdzającym uprawę winorośli w Polsce jest bulla gnieźnieńska papieża Innocentego II z 1136 roku o uposażeniu arcybiskupstwa gnieźnieńskiego, w której mowa jest o winnicach w okolicy grodu plockiego i włocławskiego. Do Małopolski winorośl dotarła z południa Europy, przypuszczalnie z Państwa Wielkomorawskiego (Myśliwiec 2009). O ile w wieku XIII winiarstwo nie miało w Polsce większego znaczenia gospodarczego, a wino było luksusowym napojem możnych, o tyle wiek XIV przyniósł zasadniczą zmianę. Był to okres największego rozpowszechnienia upraw winorośli w Polsce. Winnice zakładane były także przez mieszczan, a kroniki wymieniają liczne miejscowości, w których wyrabiano wino. Najwięcej upraw winorośli znajdowało się na Śląsku, w Zielonej Górze, Poznaniu, Toruniu, Płocku, Sandomierzu, Lublinie, Krakowie, w okolicach Przemyśla i Krosna. Istnienie upraw winorośli znalazło potwierdzenie w nazewnictwie wielu polskich miejscowości, na przykład: Winnagóra, Winnica, Winiary, Winogrody. Powierzchnia upraw zwiększyła się i znacznie wzrosła konsumpcja wina, które było powszechnie spożywane – na równi z piwem i miodem. Popularność wina krajowego utrzymała się także w XV wieku, pomimo coraz większego spożycia win powszechnie przywożonych z Francji, Włoch, Niemiec i Węgier. Regres w polskim winiarstwie rozpoczął się w XVI wieku. Powodem mniejszego zainteresowania zakładaniem nowych winnic i dalszą eksploatacją już istniejących był coraz powszechniejszy i tańszy import wina z krajów, w których uprawa winorośli była łatwiejsza. Zmierzch uprawy winorośli na ziemiach polskich wiązał się z licznymi wojnami i najazdami, jakie nawiedziły Polskę w XVII stuleciu. Ogólny upadek gospodarczy i znaczne zubożenie miast, które były głównym odbiorcą produkcji winiarskiej, przyczyniły się do upadku większości ośrodków uprawy winorośli. Do końca XVIII wieku przetrwały winnice toruńskie oraz rozległe uprawy klasztorne w okolicach Tyńca. W swojej publikacji Myśliwiec (2009) podkreśla również, iż w tym okresie nastąpiło wyraźne ochłodzenie klimatu, co utrudniało ponowną odbudowę winnic. Wtedy również nastąpił wzrost popularności gorzałek, do tej pory utożsamianych z niższymi warstwami społecznymi. Inwazja filoksery zniszczyła przed 1900 rokiem większość winnic na terenie Wielkopolski. Na poznańskich Winogradach wybudowano wówczas

pruską cytadelę. Z tej klęski udało się jednak podźwignąć część winnic, m.in. tych z okolic Zielonej Góry, które nawet poszerzyły swoją produkcję o wina musujące, wytwarzane na bazie metody szampańskiej. W latach 30. XX wieku winiarze z ziem polskich powoli podnosili z upadku uprawę winorośli. Najchętniej produkowali wino z takich znanych odmian winorośli, jak Pinot noir czy Riesling. W 1929 r. na Podolu pod winnicami było zaledwie 10 ha, ale w 1932 już 62 ha, w 1935 – 111 ha, a w roku 1936 – 131,5 ha. Przewidywano, że w ciągu 10 lat będzie można obsadzić winoroślą ok. 1500 ha. Największa winnica w międzywojennej Polsce, ordynacji Wysuczka na Podolu, liczyła w 1939 r. 34 ha i 35% winogron przeznaczala na 3 rodzaje win: stołowe, vermouth i wytrawne ze szczepów wyłącznie burgundzkich. Tendencja do zakładania winnic w latach 30. w Polsce wyraźnie się umacniała. Niestety, te tendencje wzrostowe zniweczył wybuch II wojny światowej. Wojna znacząco odmieniła polskie winiarstwo, choć ogół areалу winnic w zasadzie się nie zmienił. Z naszych granic odłączono dynamicznie rozwijające się Podole, przyłączono natomiast zanikające już od XIX wieku winnice zielonogórskie wraz z „ziemiami odzyskanymi”. Powojenne zniszczenia oraz wpływ rządów komunistycznych, w czasie których winnice przejmowane były przez państwowe gospodarstwa rolne, przyczyniły się niemal do zaniku winnic. Winnice uprawiane w warunkach komunistycznej, zbiurokratyzowanej gospodarki zaczęły przynosić straty. Badania przeprowadzone w latach 1957–1960 pokazały całkowitą nieopłacalność uprawy winorośli na wino w państwowych plantacjach i wpłynęły na decyzję władz o likwidacji winnic. Od tej pory skupiono się wyłącznie na produkcji win owocowych. W 1962 r. zlikwidowano jedyny w Polsce specjalistyczny Zakład Winorośli skierniewickiego instytutu. Jedyne w Polsce liceum sadowniczo-winiarskie w Zielonej Górze zlikwidowano wcześniej, w 1952 r.

Współczesna historia winiarstwa zaczęła się w latach 80. XX wieku, a za symboliczną datę uznać można założenie przez Romana Myśliwca winnicy Goleśz w Jaśle w 1982 roku. Powstała wówczas pierwsza od wielu lat w Polsce większa plantacja odmian przerobowych, przeznaczonych do wyrobu wina gronowego i od tamtej chwili można mówić o ciągłości współczesnych tradycji winiarskich.

1.2. Rozwój winiarstwa na Podkarpaciu

Winiarstwo na ziemiach podkarpackich miało swoje początki już w XI i XII wieku. Uprawę winorośli w tym okresie propagował głównie Kościół, co wynikało z zapotrzebowania na wino mszalne. Najważniejszym ośrodkiem winiarstwa na ziemiach podkarpackich w XII wieku stał się Przemyśl. Tutejsi książęta

zenieli się z córkami bizantyjskich cesarzy. Otaczali się greckimi obyczajami i dworzanami. Dlatego też zaczęto sprowadzać na dwór z Bizancjum i Krymu licznych specjalistów w zakresie winiarstwa, którzy podnieśli poziom uprawy winorośli w tych regionach. W XIII wieku rozległe już winnice w Przemyślu posiadali także biskupi obrządku greckiego oraz klasztory franciszkanów i dominikanów. Benedyktyni z podkrakowskiego Tyńca obsadzali natomiast okolice Jasła, a dokładnie tereny wokół zamku Goleśz i Kołaczyc w dolinie Wisłoki. W XIV wieku wino produkowane na polskich ziemiach stało się ważnym artykułem handlowym, a uprawą zajęli się głównie mieszczanie. W tym też czasie niemieccy osadnicy rozwinęli uprawę winiarstwa w okolicach Krosna oddalonego od Jasła o około 25 km. Władysław Jagiełło nadał mieszkańcom Przemyśla i jego okolic „zupelną i nieograniczoną wolność od opłat z winnic na lat szesnascie”, co przyczyniło się do dalszego rozwoju winiarstwa w tych rejonach. Jednak w XVII wieku nastąpił zmierzch winiarstwa. Jedną z przyczyn był masowy napływ win węgierskich do Polski w połowie XVI wieku. Wyparły one z rynku produkty miejscowych winiarzy. Innym istotnym wydarzeniem był „potop szwedzki” w 1655 roku, a dwa lata później jeszcze groźniejszy najazd Węgrów pod dowództwem księcia Jerzego Rakoczego. W owym czasie ziemie Podkarpacia straciły 1/3 mieszkańców, zbiedniały wsie i miasteczka, zamki stały się ruiną, a przy okazji również winnic zabrakło w podkarpackim krajobrazie. Napływ win węgierskich spowodował upadek uprawy winorośli w całej południowej Polsce.

Podkarpacie to dziś najważniejszy region winiarski. Zwłaszcza w latach 2001–2003, kiedy to z pomocą Romana Myśliwca założono kilkanaście winnic, jak np.: Winnica Płochockich, Winnica Jasiel czy Winnica Zacisze, nastąpił szybki rozwój winiarstwa. Obecnie winnice te są zaliczane do polskiej czołówki. Wiosną 2004 r. natomiast rozpoczęła się realizacja trzyletniego projektu pilotażowego „Podkarpackie Winnice”, przygotowanego merytorycznie przez Polski Instytut Winorośli i Wina, a realizowanego przez Związek Gmin Dorzecza Wisłoki przy finansowym wsparciu marszałka województwa. Była to pierwsza regionalna inicjatywa, wspierająca rozwój winiarstwa we współczesnej Polsce. W 2006 r. powstało Stowarzyszenie Winiarzy Podkarpacia skupiające większość właścicieli winnic w regionie. Podkarpacie jest zatem pierwszym regionem w Polsce, gdzie można mówić o lokalnej tradycji winiarskiej.

Region podkarpacki jest bardzo zróżnicowany pod względem krajobrazu, klimatu oraz gleby, stąd też warunki do uprawy winorośli są różnorodne. Obecnie, pomimo niewielkiego arealu winnic, region ten cały czas się rozwija. Wiele z tych osób, które rozpoczynały uprawę winorośli od paru rzędków, zdecydowało się rozszerzyć swoje plantacje do rozmiaru umożliwiającego komercyjną produkcję wina. Według różnych szacunków na obszarze Podkarpacia istnieje

ok. 150 winnic o łącznym areale ok. 100 ha. W większości są to małe przydomowe plantacje, rzadko przekraczające powierzchnię 0,5 ha. Niemniej jednak z roku na rok zakładane są nowe winnice oraz powiększa się już istniejące. Coraz więcej winiarzy stara się również o certyfikację i legalizację sprzedaży własnego wina. Obecnie województwo podkarpackie stało się jednym z najatrakcyjniejszych (jeśli nie najatrakcyjniejszym) regionem pod względem możliwości rozwoju turystyki winiarskiej, tzw. enoturystyki. Istniejące tutaj winnice stanowią specyficzny produkt turystyczny – „Podkarpacki Szlak Winnic”. Aktualnie wraz ze wzrostem zainteresowania oraz konsumpcji wina coraz częściej mówi się o prozdrowotnych właściwościach wina oraz korzystnym wpływie na zdrowie człowieka w przypadku umiarkowanego jego spożycia. Dzięki postępowi technicznemu oraz rozwojowi medycyny w kosmetyce, kosmetologii, a także w samej medycynie powstał nowy nurt zwany winoterapią. Właściwości lecznicze winogron zostały docenione i coraz częściej są wykorzystywane tak w kosmetyce, jak i kosmetologii, ale również w medycynie. Rozwój winoterapii w tym regionie jest zatem szansą dla niego, gdyż na obszarze regionu podkarpackiego znajdują się tereny, które mogą być podstawą rozwoju winnic, a co istotne, region ten pełni wiodącą rolę we współczesnym odrodzeniu polskiego winiarstwa (Krupa i Dul 2009).

1.3. Prozdrowotne właściwości winogron oraz wina

Winogrona to owoce, których właściwości były znane już 5 tys. lat p.n.e. Wówczas znalazły zastosowanie m.in. jako środek na dolegliwości układu pokarmowego, skaleczenia i rany. Właściwości winogron doceniła także współczesna medycyna niekonwencjonalna – powstał nawet jej specjalny dział, który nosi nazwę ampeloterapia, czyli leczenie winogronami, sokiem winogronowym, a nawet winem. Winogrona są doskonałym źródłem witamin i składników mineralnych. Zawierają witaminę C i prowitaminę A, witaminy z grupy B, potas, fosfor oraz wapń, magnez, cynk, miedź, żelazo. Ponadto należą do nielicznych owoców zawierających jod – niezbędny dla funkcjonowania tarczycy. Są także zasadowotwórcze, co pomaga w pozbyciu się nagromadzonych w organizmie kwasów (Ruf 2003).

Intensywne badania składu, przemian i właściwości prozdrowotnych winogron i wina datują się od lat 70. XX w. Obserwacje sugerowały, że we Francji, pomimo dużego spożycia tłuszczów zwierzęcych, braku aktywności fizycznej czy zanieczyszczenia środowiska, wskaźnik umieralności na choroby układu krążenia jest wyjątkowo niski. Zjawisko to nazwano „paradoksem francuskim” i kojarzono z dużym spożyciem w tym kraju wina, w szczególności wina czer-

wonego. Zainteresowanie „paradoksem francuskim” przyczyniło się do rozwoju badań przede wszystkim nad składem wina i winogron, a szczególnie związków zaliczanych do polifenoli, które są drugorzędowymi metabolitami rozpowszechnionymi w świecie roślin, natomiast niesyntetyzowanymi w organizmach zwierzęcych. Winogrona, szczególnie czerwone, są bogatym źródłem polifenoli, których działanie prozdrowotne jest znane w medycynie. Istnieje ogromna ilość dowodów wskazujących na korzystne działanie na organizm człowieka nie tylko samych owoców, ale również soku z winogron i ekstraktu z nasion. Przeciwdziałają miażdżycy, zmniejszają ryzyko wystąpienia zawału serca i udaru mózgu, działają również pozytywnie na układ trawienny, hormonalny i nerwowy. Występujące w nich przeciwutleniacze spowalniają procesy starzenia się organizmu i chronią przed rozwojem nowotworów. Pomimo iż wino wykazuje nieco odmienny charakter chemiczny, przypisywane są mu podobne właściwości. Niektórzy autorzy twierdzą, iż wino przynosi większy efekt terapeutyczny poprzez zawarty w nim alkohol, który sam w sobie może mieć korzystny wpływ, ale również przyczynia się do większej biodostępności polifenoli w trakcie fermentacji (Halpern 2008). Ciemne winogrona oraz czerwone wino mają większy potencjał prozdrowotny w porównaniu do białych. Wynika to przede wszystkim z wyższej zawartości związków polifenolowych w czerwonych owocach, jak również z odmiennej technologii produkcji. Czerwone wina mają dłuższy kontakt ze skórką oraz nasionami, w trakcie którego więcej tych związków przechodzi do wina. Polifenole występujące w winogronach i winie stanowią bardzo złożoną mieszaninę składającą się z kilku grup związków: flawonoidów (antocyjany, flawonole, flawan-3-ole), fenolokwasów oraz stilbenów. Flawan-3-ole, które tworzą między sobą kompleksy procyjanidynowe (tzw. taniny kondensujące), są pochodnymi, które występują najliczniej. Ich udział może wynosić nawet 50% całkowitej zawartości polifenoli w winie. Inne związki wykazujące udokumentowane właściwości prozdrowotne to kwercetyna czy resweratrol, ale również melatonina i luteina. Wszystkie te związki działają jako potencjalne antyoksydanty, redukują poziom cholesterolu we krwi, modulują transdukcję sygnału w komórce czy też redukują agregację płytek krwi. Chemiczne interakcje pomiędzy nimi, jak również interakcje pomiędzy setkami (a nawet tysiącami) innych związków odpowiedzialne są za plejotropowy efekt terapeutyczny (Guilford i Pezzuto 2011).

1.3.1. Właściwości przeciwutleniające

Właściwości antyoksydacyjne owoców winogron, soku winogronowego, ekstraktu z nasion, jak również samego wina zostały wykazane w układach *in vitro*, kulturach komórkowych oraz *in vivo* i przypisywane one są głównie wy-

stępującym polifenolom (Young i in. 2000; Durak i in. 2002; Park i in. 2009; Castilla i in. 2006). W licznych badaniach wykazano wysoką korelację pomiędzy zawartością polifenoli a aktywnością przeciwutleniającą (Vigna i in. 2003; Ko i in. 2005). Czynnikiem dodatkowo wpływającym na aktywność przeciwutleniającą wina jest obecność alkoholu, który wykazuje właściwości prooksydacyjne. W licznych badaniach przeprowadzonych na winach bezalkoholowych aktywność przeciwutleniająca była mniejsza (van Golde i in. 1999).

Mechanizm działania antyoksydacyjnego jest wielokierunkowy i może obejmować: usuwanie wolnych rodników i reaktywnych form tlenu, kompleksowanie jonów żelaza i miedzi, hamowanie aktywności enzymów (np. oksydazy ksantynowej) uczestniczących w powstawaniu reaktywnych form tlenu, blokowanie enzymatycznej i nieenzymatycznej peroksydacji lipidów. W badaniach *in vitro* wykazano, że resweratrol jest silnym przeciwutleniaczem, efektywnie usuwającym wolne rodniki i hamującym utlenienie lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) (Aviram i Fuhrman 2002). Procyjanidyny z kolei są szczególnie aktywne w zapobieganiu utlenianiu lipidów w trakcie przechodzenia przez układ trawieny, co wskazuje, że spożycie czerwonego wina w trakcie posiłku zapewnia lepszą ochronę (Ursini i Sevanian 2002). Według ostatnich doniesień literatury flawonoidy mogą także wykazywać właściwości protutleniające, indukując ekspresję i aktywność genów kodujących detoksykacyjne enzymy II fazy. Enzymy II fazy chronią komórki przed działaniem zarówno reaktywnych metabolitów, związków nowotworowych, leków przeciwnowotworowych, pestycydów, herbicydów, jak i reaktywnych form tlenu. Przykładami takich enzymów są: S-transferazy glutationowe (GST) oraz reduktaza NADPH (Serafini i in. 2010). Efekt podwyższonej aktywności antyoksydacyjnej jest uzależniony od ilości spożywanego wina. Jak wynika z licznych badań przeprowadzonych wśród ludzi, spożywanie jednej dawki wina dawało tylko przejściowy efekt, trwający nie dłużej niż trzy godziny. Podniesienie dawki do 200 ml dziennie powodowało utrzymywanie się tego efektu w ciągu całego dnia przez cały czas trwania eksperymentu (3 tygodnie) (Guilford i Pezzuto 2011).

1.3.2. Wpływ na gospodarkę lipidową

Regularne, umiarkowane spożywanie wina wpływa pozytywnie na utrzymanie homeostazy lipidowej w organizmie. Wino podnosi poziom lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL), co ma wpływ na pozbywanie się nadmiaru cholesterolu. Dodatkowo wino obniża poziom frakcji LDL, który zwiększa ryzyko wystąpienia arteriosklerozy, otyłości oraz cukrzycy typu II (Njajou i in. 2009). Spożywanie wina w trakcie posiłku działa najefektywniej, usuwa bowiem cholesterol, zanim ułokuje się on w niepożądanym miejscu w ciele. Z licznych badań

przeprowadzonych wśród ludzi wynika, iż modulowanie gospodarki lipidowej uzależnione jest od dawki spożywanego wina. W przypadku spożywania jednej dawki odniesiono mniejszy efekt niż w trakcie spożywania 200 ml czerwonego wina. We wszystkich badaniach wskazywano, że na podniesienie poziomu frakcji HDL mógł mieć wpływ zawarty w winie alkohol. Jednak podobne eksperymenty z zastosowaniem winogron, soku i ekstraktu z pestek przynosiły zbieżone rezultaty, sugerując, iż za obserwowany efekt w głównej mierze odpowiedzialne są polifenole (Preuss i in. 2000, Castilla i in. 2006). Według innych autorów, spożywając wino lub ekstrakt z pestek, można skutecznie walczyć z nadwagą i otyłością przez zmniejszanie apetytu (Iriti i Faoro 2009). Z badań przeprowadzonych wśród kobiet wynika, iż dostarczanie 10% energii pochodzącej z białego wina lub soku z winogron powodowało redukcję tkanki tłuszczowej, ciśnienia krwi, poziomu glukozy i insuliny we krwi, oraz triglicerydów i cholesterolu (Flechtner-Mors i in. 2004). W głównej mierze jest to zasługa resweratrolu, który nasila proces rozpadu tkanki tłuszczowej oraz poprawia insulinowrażliwość komórek, w wyniku czego możliwa jest regulacja poziomu glukozy i insuliny, co pośrednio wpływa korzystnie na obniżenie wagi i ilość tkanki tłuszczowej w organizmie (Aquirre i in. 2014).

1.3.3. Właściwości immunomodulacyjne i przeciwzapalne

Proces zapalny może zostać wywołany zarówno przez czynniki zewnętrzne, jak i wewnętrzne, chemiczne, fizyczne i biologiczne. Przewlekłe stany zapalne prowadzą do wystąpienia chorób neurodegeneracyjnych, zwyrodnieniowych i autoimmunologicznych. Pewne nadzieje łączy się z przeciwzapalnym działaniem polifenoli zawartych w winie (Magrone i in. 2008). Zmiany biomarkerów stanu zapalnego sugerują, że czerwone wino zapewnia ochronę przed różnego typu immunologicznymi zaburzeniami poprzez stymulowanie nabytej i wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, jak również zmniejszanie stanu zapalnego. Przykładem takich zmian są tłumienie uwalniania cytokin zapalnych (takich jak jądrowy czynnik kappaB, interleukina 8) i indukcja cytokin przeciwzapalnych (interleukiny 1 α , 6, 10, 12, interferonu γ) (Estruch i in. 2004). Do innych markerów stanu zapalnego hamowanych przez składniki wina należą: białko C-reaktywne (CRP), monocyty i cząsteczki adhezyjne śródbłonna (ICAM-1, CAM-1, E-selektyna, LFA-1, Mac-1, VLA-4, MCP-1) (Imhof i in. 2004). Wśród składników o największym potencjale przeciwzapalnym wymienia się resweratrol oraz kwercetynę. Mechanizm ich działania wydaje się złożony; ani antagonistą receptora estrogenowego, ani antagonistą glukokortykoidów nie zmniejsza efektu ich działania (Castilla i in. 2006). Resweratrol i kwercetyna mają prawdopodobnie niesteroidowe działanie przeciwzapalne. Większy efekt przeciwzapalny wykazu-

je wino czerwone niż białe, co sugeruje, iż dużą rolę odgrywają tu antocyjany. Spośród antocyjanów największy potencjał przeciwzapalny ma 3-*O*-glukozyd malwidyny. Co więcej, wykazano, że jest on bioaktywny bez toksycznego działania na obwodowe komórki krwi (Bowen-Forbes i in. 2010). Badania przeprowadzone *in vitro* na makrofagach dowiodły, że glukozyd malwidyny obniża transkrypcję genów kodujących takie mediatory prozapalne, jak TNF α , interleukina 1 czy interleukina 6. Ponadto hamuje produkcję tlenku azotu wytwarzanego z aktywowanych zapaleniem makrofagów (Jeong i in. 2010). Badania przeprowadzone *in vivo* na szczurach z przewlekłym zapaleniem stawów wykazały, iż 3-*O*-glukozyd malwidyny znacząco cofnął zmiany chorobowe i stan zapalny już po pięciu dniach. Dodatkowym atutem tego związku jest brak toksyczności, co znacznie zmniejsza ilość możliwych działań niepożądanych potencjalnego leku immunosupresyjnego.

1.3.4. Zapobieganie schorzeniom układu sercowo-naczyniowego

Choroby układu sercowo-naczyniowego są główną przyczyną zgonów na świecie zarówno kobiet, jak i mężczyzn. Interesującym przykładem kompleksowego, kardioprotekcyjnego działania polifenoli jest zjawisko przytoczonego we wstępie, „francuskiego paradoksu”. Przypuszcza się, że spożywanie dużych ilości winogron i czerwonego wina, obfitujących w te związki, jest przyczyną zmniejszonej zachorowalności Francuzów na miażdżycę w porównaniu z mieszkańcami innych krajów zachodniej Europy. Badania na ochnikach i zwierzętach wykazały, że antocyjanidyny mają dobroczynny wpływ na funkcję śródbłonna, poprzez jego aktywację i uwalnianie tlenku azotu odpowiedzialnego m.in. za rozszerzanie naczyń krwionośnych, zmniejszenie agregacji płytek krwi i ograniczenie przechodzenia lipoprotein z osocza do ściany naczynia (Cordova i in. 2005; Dohadwala i Vita 2009). Spożycie soku z czerwonych winogron poprawiało rozszerzanie naczyń wieńcowych indukowane przepływem krwi u chorych z zakłóconą funkcją endotelium. Czerwone wino przywracało do normy ostrą dysfunkcję śródbłonna spowodowaną spożyciem nasyconych tłuszczów i paleniem papierosów u zdrowych ochników. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że związki z czerwonego wina wydajnie zmniejszają syntezę peptydu o silnych właściwościach obkurczających naczynia (Wang i in. 2002; Coimbra i in. 2005). W wielu eksperymentach ponadto wykazano korzystny wpływ czerwonego wina oraz frakcji polifenolowych z winogron na istotny element układu krzepnięcia krwi, jakim jest agregacja płytek krwi i metabolizm trombiny (Folts 1998; Keevil i in. 2000). U ludzi i psów zaobserwowano zmniejszoną skłonność do agregacji płytek krwi po okresie podawania soku z winogron i czerwonego wina. Efektu takiego nie powodowało białe wino. U szczurów

czerwone wino wydłużyło czas krwawienia i zmniejszyło masę skrzepu oraz adhezję płytek do kolagenu. Także podanie psom czerwonego wina i soku z winogron poprawiało przepływ krwi w zwężonych tętnicach wieńcowych i hamowało w badaniach *ex vivo* agregację płytek indukowaną kolagenem. Podobny efekt hamowania agregacji płytek *ex vivo* obserwowano u małp, którym podawano przez siedem dni sok z winogron (Kikura i in. 2004). Udowodniono, że już niewielka ilość czerwonego wina może zmniejszać agregację płytek krwi i tworzenie zakrzepów. Badania wykonane wśród dwóch grup mężczyzn, przyjmujących określone dawki wina lub ginu, wykazały, że spożywanie obu napojów alkoholowych ma korzystny wpływ na zmniejszenie stanu zapalnego, który łączy się z rozwojem miażdżycy i chorobami serca. We krwi obu grup mężczyzn stwierdzono obniżony poziom fibrynogenu, który powoduje krzepnięcie krwi i jest czynnikiem ryzyka zawału serca, oraz mniejsze ilości interleukiny-1. Jednak tylko u osób pijących czerwone wino zmniejszyło się stężenie białka ostrej fazy (CRP) (Lavy i in. 1994; Hansen i in. 2005). Naukowcy uważają, że ochronę serca zapewnia resweratrol, który nie występuje w ginie. Buryanowskyy i in. (2004) stwierdzili, że resweratrol wpływa na metabolizm nukleotydów adenozynowych w śródbłonku naczyniowym. Kardioprotekcyjne działanie tego związku wynika z hamowania aktywności reduktazy chinonowej (QR-2) – enzymu, który katalizuje reakcje nukleotydów adenozynowych. Powoduje to zwiększenie aktywności komórkowych enzymów antyoksydacyjnych i zwiększenie odporności komórek na stres oksydacyjny. Narażenie kardiomiocytów na stres, a następnie poddanie ich działaniu resweratrolu powoduje zmniejszenie stresu oksydacyjnego, wzrost aktywności enzymów zapobiegających powstawaniu wolnych rodników i nasilenie syntezy tlenku azotu (NO). Ma to ogromne znaczenie przy niedokrwieniu narządów i powoduje ich ochronę przed powikłaniami: arytmia, krótkotrwałą mechaniczną dysfunkcją i śmiercią komórek (Gresele i in. 2008; Corder i in. 2006).

1.3.5. Właściwości antynowotworowe

Liczne prace badawcze dostarczają dowodów, że konsumpcja winogron, jak i wina może w sposób bezpośredni lub pośredni chronić komórki przed inicjacją transformacji nowotworowej. Proces kancerogenezy charakteryzuje się zmianą aktywności transkrypcji wielu genów i zmianą funkcji biologicznej białek kodowanych przez te geny, na skutek genetycznych i epigenetycznych modyfikacji. Wiele badań wskazuje, że epigenetyczne modyfikacje mogą być regulowane przez związki polifenolowe znajdujące się w owocach winogron, soku oraz winie. Do związków o największych właściwościach antynowotworowych należy resweratrol (Potter i in. 2002). Odgrywa on ważną rolę nie tylko w prewencji

chorób nowotworowych, ale także w ich terapii. Badania wskazują, że ma on zdolność do blokowania każdego etapu w procesie powstawania nowotworów, tj. inicjacji, promocji i progresji. Do dowodów na to, że resweratrol może blokować fazę inicjacji procesu nowotworzenia, należą: jego zdolność usuwania wolnych rodników, przeciwmutagenna aktywność widoczna w bakteryjnym modelu mutagenezy oraz metabolizm detoksykacji czynników rakotwórczych w komórkach raka wątroby poprzez indukcję reduktazy chinonowej (QR-2) – enzymu II fazy uczestniczącego w unieszkodliwianiu substancji kancerogennych (Bianchini i Vainio 2003; Aggarwal i in. 2004; Pezzuto 2008). Resweratrol należy do tzw. fitoestrogenów, wykazujących interakcję z receptorami estrogenu i regulujących ekspresję genów estrogenozależnych, np. genu p21. W badaniach z komórkami ludzkich linii nowotworowych wykazano, że resweratrol hamuje proliferację komórek nowotworowych poprzez blokowanie cyklu komórkowego, lecz prawdopodobnie nie indukuje apoptozy tych komórek (Kopp 1998). Działanie przeciwnowotworowe poprzez epigenetyczną regulację aktywności genów wykazują także katechiny. Mechanizm ich działania związany jest z silnym hamowaniem metylotransferaz DNA (Soleas i in. 2002). Skuteczne działanie katechin zostało wykazane na liniach nowotworowych jelita grubego, przełyku, prostaty i piersi. Szerokie działanie przeciwnowotworowe wykazują również antocyjany (Dai i in. 2009).

W badaniach na liniach komórkowych stwierdzono, że antocyjany indukują antyoksydanty II fazy i ekspresję enzymów detoksykacyjnych, wśród których należy wymienić reduktazę, peroksydazę i S-transferazę glutationową. Czyste antocyjany i ich ekstrakty uzyskane z owoców wykazują dużą aktywność antyproliferacyjną w komórkach nowotworowych różnych typów w badaniach *in vitro*. Proliferacja komórkowa była hamowana dzięki zdolności blokowania przez antocyjany różnych etapów cyklu komórkowego poprzez wpływ na białka regulatorowe (np. p53, p21, p27, cyklina D1, cyklina A), a także poprzez blokowanie szlaku przekazu sygnału kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (Clere i in. 2011). Ekstrakt uzyskany z owoców winogron, jak również czyste antocyjany i antocyjanidyny aktywują proces apoptozy. W wyniku ich działania następuje uruchomienie wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych szlaków przekazu sygnału (m.in.: zwiększenie potencjału błony mitochondrialnej, uwolnienie cytochromu c i regulacja zależnych od kaspaz pro- i antyapoptotycznych białek, regulacja ekspresji licznych genów) (Feng i in. 2007). Badania Bagchi i in. (2004) na komórkach śródbłonna wykazały antyangiogenne działanie antocyjanów. Mechanizm ten polega na hamowaniu ekspresji genu VEGF należącego do rodziny czynników wzrostowych komórek endotelialnych, a także poprzez zablokowanie ekspresji receptora dla tego czynnika i zablokowanie szlaku przekazu sygnału PI3K/Akt.

1.3.6. Działanie antybakteryjne i antywirusowe

Oprócz działania na organizm ludzki wino oraz związki w nim zawarte wykazują też istotną aktywność w stosunku do drobnoustrojów (Bruno i in. 2008; Garcia-Alonso i in. 2006). Mechanizmy ich działania są zróżnicowane, a pojedyncze związki wykazują najczęściej wielokierunkową aktywność. Niektóre flawonoidy hamują wnikanie cząsteczek wirusa HIV-1 do wnętrza limfocytów CD4⁺ i wykazują aktywność antagonisty odwrotnej transkryptazy wirusa. Mirycetyna i kwercetyna hamują integrazę HIV, przy czym działanie mirycetyny w stosunku do tego enzymu nie jest swoiste (Sosica i in. 2015). Polifenole zawarte w winie działają także hamująco na inne wirusy, np. wirusa opryszczki (HSV) czy polio (de Bruyne i in. 1999). Wino działa antyseptyczne i bakteriobójczo, i to skuteczniej niż mocniejsze alkohole. Doświadczenia wykazały, że bakterie tyfusu giną w obecności spirytusu 70% po 30 min, a w słabym winie już po 15 min. Podczas innych prób okazało się, że w winie giną bakterie cholery, a *E.coli* przestają się rozmnażać już w 6% alkoholu (Rhodes i in. 2006). Włoscy naukowcy badali wpływ wina na *Streptococcus mutans*, bakterie atakujące zęby, i *Streptococcus pyogenes* powodujące infekcje gardła (Thimothe i in. 2007). Chcąc wyeliminować działanie alkoholu (ewidentnie bakteriobójcze), naukowcy usunęli etanol z wina i powtórzyli badanie. Okazało się, że wino bez alkoholu również hamuje rozwój bakterii. W innych badaniach wykazano działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze w stosunku do wielu innych drobnoustrojów, takich jak *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Helicobacter*, *Bacillus* (Gao i in. 2010). Antybakteryjne działanie polifenoli opiera się w dużej mierze na ich właściwościach prooksydacyjnych. W obecności jonów metali przejściowych i tlenu dochodzi do powstania rodników fenoksylowych, które działają cytotoksycznie na komórki drobnoustrojów, uszkadzając DNA, a także lipidy błony komórkowej (Halliwell 2007). Związki polifenolowe, za sprawą obecności różnych grup chemicznych, w tym reszt hydroksylowych, mają tendencję do wbudowywania się w błony lipidowe, co powoduje zmiany ich płynności i przepuszczalności. Zwiększa to podatność drobnoustrojów na czynniki antybakteryjne, może również prowadzić do ucieczki ważnych dla mikroorganizmu substancji z wnętrza komórki i do zaburzenia jego wzrostu (Cushnie i Lamb 2005).

1.3.7. Pozostałe właściwości

Wyniki innych badań sugerują, że wino, dzięki obecności resweratrolu, może mieć silne właściwości ochronne w stosunku do komórek centralnego układu nerwowego i chronić je przed toksycznym działaniem β -amyloidu (Letenneur 2004). Poddanie szczurzych komórek hipokampa działaniu resweratrolu na każdym etapie leczenia znacząco osłabiało toksyczność β -amyloidu, rezultat zale-

zał od zastosowanej dawki i był najbardziej wyraźny przy stężeniu resweratrolu 25 μmol . Prawdopodobnie u podstaw tego zjawiska leży aktywacja kinazy C. Podobnego zdania jest Peters (2008), który uważa, że działanie neuroprotektyjne resweratrolu wynika głównie z aktywowania układów zapobiegających działaniu wolnych rodników, w tym glutationu. Resweratrol chroni też komórki mikrogleju przed działaniem wolnych rodników tlenowych (de la Torre i in. 2006).

Białe, czerwone i czarne winogrona, dzięki zawartym w nich polifenolom, mogą ochronić przed uszkodzeniem narządów podczas rozwoju zespołu metabolicznego. Wśród szczurów, u których stosowano dietę wysokotłuszczową, wykazano, iż u gryzoni, które spożywały winogrona, zauważono znaczne zmniejszenie poziomu markerów stanu zapalnego w całym organizmie, a zwłaszcza w tkance tłuszczowej otaczającej wątrobę oraz zlokalizowanej w okolicach brzucha. Jednocześnie badacze zauważyli nasilenie obrony antyoksydacyjnej (zwłaszcza w wątrobie i nerkach). Biorąc to pod uwagę oraz niski indeks glikemiczny tych owoców, zmniejszają one ryzyko rozwoju chorób metabolicznych, w tym cukrzycy typu II (Caimi i in. 2003; Kar i in. 2009).

Ciekawych wyników dostarczyły ostatnio doświadczenia Seidmana (2003), który udowodnił ochronny wpływ resweratrolu na narząd słuchu przed szkodliwym wpływem stresu oksydacyjnego wywołanego hałasem. Z badań przeprowadzonych na szczurach autorzy wnioskują, że resweratrol może zapobiegać utracie słuchu związanej z niedokrwieniem, hałasem lub wiekiem. Inne badania z kolei dowiodły pozytywnego wpływu spożycia antocyjanów na niektóre dolegliwości wzroku. Badania biochemiczne wykazały, że antocyjany, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, mogą modyfikować kilka enzymatycznych parametrów, szczególnie aktywność dehydrogenazy laktanów. Zmiany aktywności tych enzymów prowadzą do uszkodzeń siatkówki. Antocyjany powodują również zmniejszenie dolegliwości wzrokowych pochodzenia funkcjonalnego (krótkowzroczność, ślepotą dzienna) lub spowodowanych osłabioną fotowrażliwością w retinopatii cukrzycowej (Matsumoto i in. 2003).

Choć wino towarzyszy ludzkości od wieków, dopiero od niedawna wiadomo, jak korzystnie wpływa na zdrowie. Oczywiście pite z umiarem, najlepiej czerwone wino. Przedstawione doniesienia wskazują, że zarówno owoce winogron, jak i samo wino skupiają na sobie uwagę badaczy ze względu na szerokie spektrum działania prozdrowotnego. Niewątpliwie każdy z ukazanych aspektów wymaga dalszych badań. Niemniej jednak nie ulega wątpliwości, iż ich wielokierunkowy wpływ może wspomagać utrzymanie dobrej kondycji organizmu, jak i zapobiegać wielu chorobom, a także wspomagać leczenie już zaistniałych stanów chorobowych. Obecnie, kiedy wiele nowych, do niedawna skutecznych leków, zawodzi, kiedy oporność drobnoustrojów na antybiotyki rozwija się tak szybko, poszukiwanie alternatywnych środków leczniczych staje się niezbędne.

Choroby cywilizacyjne pogarszają jakość życia, stanowią poważne obciążenie dla systemu ochrony i powodują wymierne straty społeczne. Ich leczenie jest trudne i kosztowne. Tymczasem liczne prace naukowe wskazują, że zachorowalność na te choroby może być radykalnie zmniejszona przez dobór odpowiedniej diety, bogatej w bioaktywne składniki.

1.4. Charakterystyka polifenoli

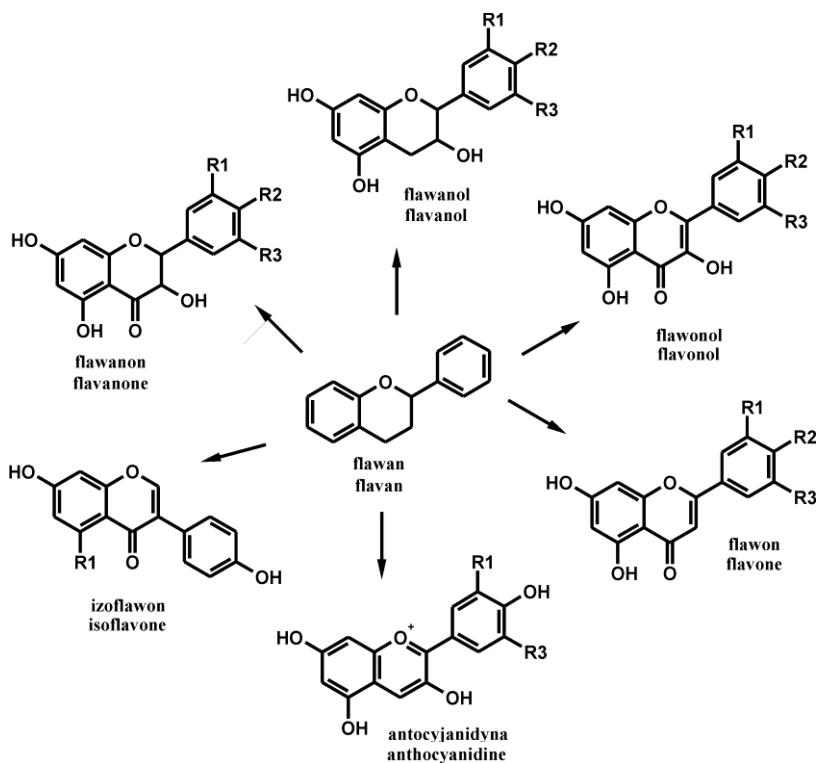
Zaprezentowane wcześniej różnorodne właściwości prozdrowotne owoców winogron oraz wina, jak również wielokierunkowa aktywność biologiczna wykazana w różnych modelach doświadczalnych prowadzonych na zwierzętach, jest wynikiem występowania szerokiej gamy związków polifenolowych.

Związki polifenolowe stanowią jedną z największych i najbardziej rozpoznańszych grup zaliczanych do fitozwiązków. Występują one w owocach, warzywach oraz innych roślinach, odgrywając znaczącą rolę w fizjologii roślin. Związki te wykazują działanie hormonów roślinnych i regulatorów wzrostu (tzw. wtórne metabolity roślin), przekaźników energii w systemach fotosyntezy, inhibitorów i prekursorów enzymatycznych. Ponadto działają jako protektanty, ponieważ chronią komórki roślinne przed szkodliwym działaniem słońca, grzybów i owadów, oraz jako atraktanty, gdyż wabią niektóre owady. Biorą udział także w morfogenezie, determinacji płci, oddychaniu, regulacji ekspresji genów, regulacji syntezy hormonów wzrostu (Dreosti 2000), pełniąc funkcję ochronną przed promieniowaniem ultrafioletowym czy wolnymi rodnikami tlenowymi (Spencer i in. 2008). Związki polifenolowe mają pierścień benzenowy z dwiema lub więcej grupami hydroksylowymi. Większość związków fenolowych występuje w połączeniu z cukrami, kwasami organicznymi oraz estrami; niewielka część ma postać aglikonów (Shahidi i Naczk 2005). Charakteryzują się dużą różnorodnością budowy, dzielą się na kilkanaście różnych grup. Zidentyfikowano ponad 8000 tych związków. Występują one w postaci związków niskocząsteczkowych, jak fenolokwasy, i wysokocząsteczkowych spolimeryzowanych tanin. Zasadniczo są one w naturze obecne w postaci glikozydów, mogą łączyć się także z kwasami organicznymi, aminami, lipidami i innymi związkami (Kondratyuk i Pezzuto 2004). Polifenole roślinne stanowią bardzo zróżnicowaną grupę związków, które w zależności od liczby pierścieni aromatycznych oraz sposobu ich połączenia dzieli się na klasy, z których największe stanowią flawonoidy, fenolokwasy, stilbeny i lignany.

Fenolokwasy to substancje zawierające grupę hydroksylową i karboksylową, występują powszechnie w żywności i stanowią około jednej trzeciej części związków polifenolowych naszej diety. Dzielą się one na dwie klasy: pochodne

kwasu hydroksybenzoesowego i hydroksycynamonowego. Zawartość pochodnych kwasu hydroksybenzoesowego w żywności jest stosunkowo niska, z wyjątkiem pewnych czerwonych owoców, czarnej rzodkwi i cebuli, które zawierają je w ilości kilkudziesięciu miligramów na kilogram świeżej masy. Pochodne kwasu galusowego i elagowego powszechnie występują także w formie wysokocząsteczkowych tanin hydrolizujących. Pochodne kwasu hydroksycynamonowego są bardziej rozpowszechnione w produktach roślinnych niż pochodne kwasu hydroksybenzoesowego i zawierają głównie kwas p-kumarowy, kawowy, ferulowy i synapowy. Kwasy te występują głównie w postaci związanej, jako glikozydy lub estry kwasów: chinowego, szikimowego czy winowego. Bogatym źródłem fenolokwasów oprócz owoców i warzyw są również ziarniaki zbóż (Gawlik-Dziki 2004).

Największą grupę polifenoli stanowią flawonoidy. Są obecne głównie w zielonych częściach roślin i obejmują związki składające się z dwóch pierścieni benzenowych połączonych trójwęglowym łańcuchem. W większości z nich pomiędzy pierścieniami występuje heterocykliczny układ pironu. Flawonoidy różnią się miejscem podstawienia grup hydroksylowych, metoksyłowych i bocznych ugrupowań glikozydowych oraz układem łączącym pierścienie. Z tych różnic wynikają odmienne właściwości chemiczne, fizyczne, aktywność biologiczna oraz metabolizm. Aktywność przeciwutleniająca flawonoidów jest ściśle związana z obecnością grup hydroksylowych i występowaniem wiązań podwójnych. W zależności od różnic budowy pierścienia heterocyklicznego flawonoidy można podzielić na sześć podklas: flawonole, flawony, flawanony, flawanole, antocyjany i izoflawony. Związki te w każdej grupie różnią się liczbą i rozmieszczeniem grup hydroksylowych, metylacją i glikozylacją. W naturze zidentyfikowano ponad 4000 tych związków. Flawonole są najbardziej rozpowszechnione w żywności wśród związków flawonoidowych. Kwercetyna i kempferol są głównymi reprezentantami tej grupy związków. Występują one powszechnie w owocach, ale w niewielkich ilościach – 15–30 mg/kg świeżej masy. Bogatym ich źródłem są warzywa, jak cebula (do 1,2 g/kg), kapusta brukselka, jarmuż, brokuły, por. Flawonole występują w naturze głównie w postaci glikozydów, w połączeniu z glukozą, ramnozą, rutynozą. Owoce często zawierają od 5 do 10 różnych glikozydów flawonoli. Związki te zawarte są głównie w skórce owoców i chronią je przed promieniowaniem UV (Price i in. 2005). Flawony są stosunkowo mniej rozpowszechnione w owocach i warzywach niż flawonole. Najczęściej występują one w postaci glikozydów luteoliny i apigeniny. Głównym źródłem tych związków jest pietruszka i seler. Zboża, jak proso i pszenica, także zawierają pochodne C-glikozydowe flawonów. Bogate w te związki w postaci pochodnych polimetoksyłowych są również owoce cytrusowe.



Szkielet Skeleton	Aglikon Aglycone	R1	R2	R3
flawon	apigenina	–	OH	–
flawone	luteolina	OH	OH	–
	diosmetyna	OH	OCH ₃	–
flawanol	kwercecytyna	OH	OH	–
flawanol	kempferol	–	OH	–
	myrycecytyna	OH	OH	OH
flawanon	naryngenina	–	OH	–
flawanone	hesperetycyna	OH	OCH ₃	–
izoflawon	genisteina	OH	–	–
isoflawone	daidzeina	–	–	–
flawanol	(+)katechina	OH	–	–
flawanol	(–)epikatechina	–	OH	–
antocyjanidyna	cyjanidyna	OH	OH	–
anthocyanidine	delfinidyna	OH	OH	OH
	malwidyna	OCH ₃	OH	OCH ₃
	peonidyna	OCH ₃	OH	–
	petunidyna	OCH ₃	OH	OH

Rysunek 1. Struktura flawonoidów (Marais i in. 2006)
Figure 1. Structure of flavonoids (Marais et al. 2006)

Flawanony znajdują się w pomidorach i roślinach aromatycznych, jak np. mięta, ale w największych ilościach obecne są tylko w owocach cytrusowych. Głównym flawanonem w grejpfrutach jest naryngenina, hesperydyna w pomarańczach i eriodiktiol w cytrynach. Związki te są odpowiedzialne za swoisty smak owoców cytrusowych. W przypadku grejpfrutów jest to smak gorzki. W stałej części owoców cytrusowych, w albedo i w błonach oddzielających segmenty owoców, zawartość tych związków jest znacznie większa niż w soku. Cały owoc zawiera ok. pięciokrotnie więcej flawanonów niż szklanka soku pomarańczowego (Tomas-Barberan i Clifford 2000). Flawanole występują jako monomery i polimery. Przykładem monomerów flawanoli są katechiny. Związki te powszechnie występują w owocach pestkowych, jagodowych i ziarnkowych. Na przykład bogatym źródłem tych związków są morele, które zawierają katechiny w ilości do 250 mg/kg świeżych owoców. Występują one w dużych ilościach w czerwonym winie (300 mg/l), naparze z zielonej herbaty czy gorzkiej czekoladzie. (+)Katechina i (-)epikatechina są głównymi flawanolami w owocach, podczas gdy (+)galokatechina, (-)epigalokatechina i (-)epi-galokatechinogalusan są obecne w nasionach roślin strączkowych, winogronach i herbacie (Arts i in. 2000). Taniny kształtują własności sensoryczne produktów roślinnych, nadając gorzki i cierpki smak owocom (kaki, jabłka, gruszki, winogrona, aronia), napojom (wina, herbata, piwo) oraz gorzkiej czekoladzie (Santos-Buelga i Scalbert 2000). Antocyjany to duża grupa barwników pochodzenia roślinnego rozpuszczalnych w wodzie (Troszczyńska i in. 2000). Barwniki te występują w kwiatach, owocach, liściach, łodygach, a rzadziej w korzeniach i drewnie. W komórkach znajdują się w wakuolach, w postaci granulek różnej wielkości, natomiast ściany komórkowe i tkanki mięszu nie zawierają antocyjanów. W diecie człowieka antocyjany pochodzą z owoców, czerwonego wina i niektórych warzyw, jak czerwona cebula, kapusta, rzodkiewka i innych zabarwionych na kolor czerwony. Zawartość antocyjanów w żywności jest proporcjonalna do intensywności czerwonej barwy, np. osiąga wartość 2–4 g/kg świeżej masy czarnych jagód (Clifford 2000).

Mniej licznymi grupami związków polifenolowych są stilbeny i lignany. Zawierają one dwie cząsteczki fenylove połączone mostkiem dwuwęglowym. Większość stilbenów w roślinach spełnia funkcję fitoaleksyn przeciwgrzybiczych, są syntetyzowane tylko w odpowiedzi na zakażenia lub uszkodzenia. Związkom tym przypisuje się dużą korzystną aktywność prozdrowotną. Wykazują one działanie przeciwutleniające, stosunkowo silniejsze w porównaniu do innych związków polifenolowych. Jednym z najbardziej znanych naturalnie występujących stilbenów jest resweratrol. Najmniej poznaną klasą polifenoli są lignany. Są to związki difenolowe, które zawierają strukturę 2,3-dibenzylbutanową. Powstają przez dimeryzację dwóch reszt kwasów cynamonowych.

Występują powszechnie w naturze, niektóre z nich pełnią funkcje fitoestrogenów (Ososki i Kennely 2003). Najbogatszym źródłem tych związków jest siemię lniane (do 3,7 g/kg suchej masy). Inne produkty zbożowe, owoce i warzywa zawierają śladowe ilości lignanów, w ilości około 1000 razy mniejszej niż len. W roślinach występują głównie w postaci niezwiązanej.

1.4.1. Znaczenie polifenoli w profilaktyce chorób cywilizacyjnych

W trakcie swojego życia człowiek jest ciągle narażony na niekorzystne działanie środowiska, ubocznych produktów metabolizmu tlenowego (głównie wolnych rodników) oraz skutków nieprawidłowego żywienia. Czynniki te są przyczyną wielu schorzeń określanych jako „choroby cywilizacyjne”, do których należą m.in. otyłość, cukrzyca, alergie, schorzenia układu krążenia oraz nowotwory. W Polsce, w porównaniu do innych krajów zachodniej Europy, obserwuje się częstsze występowanie chorób układu krążenia oraz nowotworów. Na przestrzeni ostatnich lat wśród naszej populacji choroby układu krążenia były przyczyną blisko połowy zgonów, natomiast w wyniku chorób nowotworowych zmarł co czwarty pacjent (dane Światowej Organizacji Zdrowia – WHO). Mimo znacznego postępu medycyny w leczeniu chorób cywilizacyjnych śmiertelność z powodu zawału serca czy udaru niedokrwiennego jest nadal wysoka. Ważną formą walki z „chorobami cywilizacyjnymi” jest profilaktyka, polegająca na utrzymaniu dobrego stanu zdrowia oraz spowolnieniu procesów starzenia poprzez wprowadzenie zmian w sposobie żywienia. Postęp techniczny i rozwój naukowy przyczyniły się do odkrycia zależności pomiędzy dietą a zdrowiem człowieka. Stwierdzono, iż żywność oprócz cennych składników odżywczych zawiera także korzystne dla człowieka substancje wykazujące działanie profilaktyczne, a niekiedy wspomagające leczenie chorób cywilizacyjnych. Do substancji korzystnie oddziałujących na zdrowie człowieka zaliczany jest między innymi błonnik pokarmowy, oligosacharydy, aminokwasy, peptydy, białka, witaminy, składniki mineralne, wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz substancje fitochemiczne, w tym polifenole. Bogatym źródłem większości z tych substancji są owoce i warzywa, których spożycie w ostatnich latach wzrasta (Wojtyła i in. 2011).

Wiele korzystnych właściwości polifenoli zostało omówionych szczegółowo w poprzednich rozdziałach, niemniej jednak pewne właściwości tych substancji są warte podkreślenia. Polifenole odgrywają dużą rolę w ochronie skóry przed działaniem szkodliwego promieniowania UV. Działają jak naturalne filtry, neutralizując wolne rodniki uszkadzające warstwę lipidową naskórka. Polifenole wpływają też na aktywność przeciwutleniającą enzymów katalizujących rozkład reaktywnych form tlenu, a w szczególności dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy i katalazy. Regulują apoptozę, uczestniczą w aktywacji enzymów,

w oddziaływaniach komórkowych, w indukcji sygnału i aktywacji receptorów. Stymulują funkcje układu immunologicznego, modyfikują przebieg procesu zapalnego, a wspomagając utrzymanie szczelności naczyń krwionośnych i usprawniając przepływ krwi w naczyniach, wpływają ochronnie na układ krwionośny i na mięsień sercowy. Wykazują korzystny wpływ na funkcje układu nerwowego. Ponadto wspomagają terapię przeciwnowotworową poprzez działanie antyoksydacyjne oraz zdolność do hamowania cyklooksygenazy (COX), której wzmożoną aktywność obserwuje się w wielu nowotworach nabłonkowych. Polifenole obecne w jabłkach i grejpfrutach są skuteczne w walce z nowotworami płuc, głównie u palaczy. Związki pochodzące z cytryn hamują rozwój chłoniaka wywołanego wirusem Epsteina-Barr. Wykazują również korzystne działanie w terapii przeciwnowotworowej jelita grubego i jajników. Ekstrakt z czosnku jest szczególnie skuteczny w antyoksydacyjnej ochronie DNA. Suplementacja ekstraktami zawierającymi antocyjany pomaga ograniczyć niektóre niepożądane działania chemioterapii, takie jak neurotoksyczność, trombocytopenia czy biegunka. Polifenole żurawiny wykazują bakteriobójcze właściwości w stosunku do szczepów *Helicobacter pylori*. Flawonoidy przejawiają także właściwości antywirusowe, głównie wobec wirusów opryszczki, paragrypy oraz adenowirusów. Badania *in vitro* wskazują na flawonoidy jako inhibitory odwrotnej transkryptazy oraz polimerazy DNA w patogenezie wirusa HIV (Sosica i in. 2015).

Przytoczone powyżej i pozostałe dane literaturowe sugerują, iż polifenole stanowią cenny składnik żywności pochodzenia roślinnego, istotny dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka. Ze względu na wielokierunkowe, ochronne działanie coraz częściej rozpatrywane jest przygotowanie nowej profilaktyki i strategii leczenia w chorobach sercowo-naczyniowych, z udziałem polifenoli roślinnych, polegającej na zwiększeniu spożycia owoców i warzyw oraz wprowadzeniu na rynek nowych leków i suplementów diety zawierających te substancje.

2. Geneza i cel pracy

W Polsce jest ponad 300 hektarów plantacji winorośli (w byłym województwie zielonogórskim oraz dzisiejszym dolnośląskim, lubelskim i podkarpackim) i z roku na rok ich powierzchnia się powiększa. Sukces w tym sektorze będzie zależał od jakości, a nie ilości wytworzonego w Polsce wina. Winogrona z polskich winnic są jednak relatywnie trudnym surowcem. Ze względu na chłodny klimat i ograniczone nasłonecznienie charakteryzują się podwyższoną kwasowością oraz słabym aromatem. Dodatkowo, stosowane dziś tradycyjne techniki bardziej spontanicznego niż kierowanego procesu wytwarzania wina nie pozwalają na jego efektywną optymalizację. Istnieje duża potrzeba prac z jednej strony nad charakterystyką odmian winogron z polskich winnic, jako stosunkowo nowego surowca na rynku, oraz z drugiej strony nad projektowaniem i optymalizacją technik winiarskich ukierunkowanych na specyficzną obróbkę takiego surowca. W literaturze z tego zakresu coraz częściej pojawiają się wyniki badań dotyczących właściwości win gronowych produkowanych w Polsce. Obecny stan wiedzy o właściwościach fizykochemicznych nowych odmian winogron, jak i otrzymywanych z nich win jest fragmentaryczny i ograniczony do pojedynczych badań. Literatura z zakresu produkcji krajowej dotyczy głównie win owocowych, a nie gronowych. Niemniej jednak pewne opracowania są dostępne, lecz przedstawiane w nich wyniki są fragmentaryczne, dotyczą tylko wybranych produktów i parametrów ograniczonych do właściwości enologicznych bądź antyoksydacyjnych. W pracach tych trudno również znaleźć informację na temat pochodzenia danego wina i odmiany winorośli, z jakiej ono powstało. Badania nad składem polifenoli ograniczają się tylko do określenia całkowitej ich zawartości metodami spektrofotometrycznymi. Brak jest kompleksowych badań obejmujących szeroki zakres materiału badawczego, takiego jak: odmiany, szczepy winogron oraz rodzaje win z nich produkowanych, a co najważniejsze, brak jest badań jakościowych i ilościowych składu chemicznego. Polifenole wyrażają główny potencjał antyoksydacyjny owoców winnej latorośli. Jak wskazują badania, zawartość polifenoli w winach gronowych czerwonych wyrażona w aktywności kwasu galusowego jest bardzo zróżnicowana i kształtowała się w granicach od 1010 do 4989 mg/L dla win pochodzących z różnych obszarów geograficznych (Radovanović i in. 2009). W próbkach polskich win zawartość polifenoli wahała się w granicach 2200 do 3200 mg/L, jednak są to wyniki badań pilotażowych, bez podania obszaru pochodzenia. Zawartość oznaczonych

polifenoli w polskich winach gronowych jest zbliżona do poziomu odnotowanego dla win hiszpańskich (1010 do 3292 mg/L) (Tarko i in. 2008). Jednak brak jest dostatecznych informacji związanych z zależnościami między odmianą, obszarem uprawy a ilością polifenoli w owocach i winach Polski.

Celem niniejszej pracy jest określenie właściwości fizykochemicznych winogron uprawianych na terenie województwa podkarpackiego oraz win z nich produkowanych w lokalnych winnicach. Cel realizowany jest poprzez:

- Identyfikację i oznaczanie ilościowe zawartości związków polifenolowych w winogronach uprawianych na terenie województwa podkarpackiego.
- Identyfikację i oznaczanie związków polifenolowych w winach produkowanych w lokalnych winnicach.
- Oznaczenie potencjału antyoksydacyjnego owoców winogron oraz produkowanych win.
- Porównanie parametrów enologicznych produkowanych win.

3. Materiał i metody

3.1. Materiał badawczy

Materiał badawczy stanowiły owoce winogron oraz wino gronowe pozyskane z 17 lokalnych winnic. Badaniami objęto łącznie owoce 33 odmian winorośli, w tym 18 odmian o białych oraz 15 odmian o czerwonych owocach. Winogrona zostały zebrane w stanie pełnej dojrzałości technologicznej na przełomie września i października. W trakcie zbiorów z każdej odmiany pobrano po 2 wyrównane grona. Owoce pozyskano w trakcie trzech sezonów w latach 2012–2014. Analizę zawartości związków polifenolowych w owocach wykonywano w każdym z trzech sezonów, a wynik jest wartością uśrednioną. W tabelach 1 i 2 przedstawiono listę odmian winogron oraz winnic, z których zostały pobrane.

Tabela 1. Lista odmian winorośli o czerwonych owocach oraz miejsca ich zbioru
Table 1. The list of red grape varieties and harvest's places

		Winnice, Vineyards																
Lp.		44	Golez	Jana	Jasiel	Kanada	Kołacz	Łany	Maria Anna	Mieszko	Nadzieja	Słoneczna Górka	Spotkaniówka	Steckich	Vanellus	Węgrzyn	Wiarus	Wierzchovina
	Odmiany, Varieties																	
1	Acolon				+				+									
2	Aulwood		+															
3	Cabernet Cortis				+										+			
4	Cabernet Dorsa			+	+				+									
5	DeChaunac		+															
6	Frontenac		+															+
7	Heridan																	+
8	Leon Millot	+		+		+					+			+		+	+	
9	Marechal Foch					+					+					+		
10	Marquette		+															
11	Regent	+					+	+	+	+		+	+	+	+			+
12	Rondo	+		+	+		+			+		+	+		+			+
13	Sabrevoice		+															
14	Svenson Red																	+
15	Wiszniowyj Rannij															+		

Tabela 2. Lista odmian winorośli o białych owocach oraz miejsca ich zbioru
Table 2. The list of white grape varieties and harvest's places

		Winnice, Vineyards																	
Lp.		44	Golesz	Jana	Jasiel	Kanada	Kołacz	Łany	Maria Anna	Mieszko	Nadzieja	Stoneczna Górka	Spotkaniówka	Steckich	Vanellus	Węgrzyn	Wiarus	Wierchowina	
	Odmiany Varieties																		
1	Adalmiina		+		+													+	
2	Auxerrois								+										
3	Aurora		+			+										+	+		
4	Bianca	+	+	+	+		+	+	+	+		+	+						+
5	Grosso								+										
6	Hibernal	+		+			+	+		+			+	+					+
7	Johanniter			+	+			+						+					
8	Jutrzenka						+	+	+					+		+	+		
9	Kristaly															+			
10	KyGrey		+																
11	Muscaris			+															
12	Muscat	+			+		+	+	+	+				+	+			+	
13	Ortega								+										
14	Prairie Star		+															+	
15	Seyval Blanc	+		+			+	+	+	+	+	+						+	
16	Serena		+																
17	Sibera	+							+	+		+							+
18	Solaris			+	+										+				

Analizę właściwości fizykochemicznych przeprowadzono dla win pochodzących z dwóch kolejnych roczników: 2013 i 2014. Badania wykonano na winach gotowych, pozyskanych w momencie rozlewu do butelek. Wśród analizowanych próbek znalazły się wina gatunkowe, wyprodukowane z owoców jednej odmiany winorośli, oraz wina kupażowane, otrzymane z połączenia owoców kilku odmian. Rodzaje wykorzystanych win przedstawiono w tabelach 3 i 4.

Tabela 3. Rodzaje czerwonych win objętych badaniami
Table 3. Analyzed red wines

		Rocznik 2013 Year 2013	Rocznik 2014 Year 2014
Lp.		Wina gatunkowe Quality wine	
1	Cabernet Cortis	Cabernet Cortis	Cabernet Cortis
2	Cabernet Dorsa	Cabernet Dorsa	Cabernet Dorsa
3	Leon Millot	Leon Millot	Leon Millot
4	Marechal Foch	Marechal Foch	Marechal Foch
5	Regent	Regent	Regent
6	Rondo	Rondo	Rondo
Wina kupażowane Cuvee			
7	Cuvee 1	Frontenac/Heridan	Marechal Foch/Leon Millot/Regent
8	Cuvee 2	Regent/Rondo	Leon Millot/Marechal Foch/Regent/Rondo
9	Cuvee 3	Regent/Rondo/Cabernet Cortis	Regent/Rondo/Cabernet Cortis
10	Cuvee 4	Leon Millot/Marechal Foch/Regent/Rondo	Regent/ Cabernet Cortis
11	Cuvee 5	Leon Millot/Marechal Foch/Regent	Regent/Rondo
12	Cuvee 6	Leon Millot/Regent/Rondo	–

Tabela 4. Rodzaje białych win objętych badaniami
Table 4. Analyzed white wine

		Rocznik 2013 Year 2013	Rocznik 2014 Year 2014
Lp.		Wina gatunkowe Quality wine	
1	Bianca	Bianca	Bianca
2	Hibernal	Hibernal	Hibernal
3	Johanniter	Johanniter	Johanniter
4	Jutrzenka	Jutrzenka	Jutrzenka
5	Muscat	Muscat	Muscat
6	Prairie Star	Prairie Star	Prairie Star
7	Seyval Blanc	Seyval Blanc	Seyval Blanc
8	Sibera	Sibera	Sibera
9	Solaris	Solaris	Solaris
Wina kupażowane Cuvee			
10	Cuvee 1	Aurora/Ortega	Hibernal/Sibera/Seyval Blanc/Jutrzenka
11	Cuvee 2	Seyval Blanc/Bianca	Johanniter/Hibernal/Solaris
12	Cuvee 3	Aurora/Bianca/Sibera	Muscaris/Solaris
13	Cuvee 4	Bianca/Hibernal	Jutrzenka/Muscat/Bianca
14	Cuvee 5	Aurora/Jutrzenka	Jutrzenka/Solaris

3.2. Przygotowanie owoców do analizy na zawartość związków polifenolowych

Owoce po dostarczeniu do laboratorium zostały zamrożone w temperaturze -25° . Po zamrożeniu grona każdej z odmian podzielono na pojedyncze jagody w ilości ok. 50 g. Tak przygotowane owoce poddano następnie zabiegowi usunięcia skórki, a z pozostałego miąższu usunięto pestki. Skórkę i miąższ umieszczono w szklanych butelkach o pojemności 250 ml i zalano 100 ml 50% roztworu metanolu w wodzie z dodatkiem 1% kwasu mrówkowego, po czym poddano homogenizacji mechanicznej z wykorzystaniem homogenizatora wysokoobrotowego (Ultra Turax T25 Basic, IKA, Staufen, Niemcy). Czas homogenizacji wynosił 10 min przy obrotach 24 tys./min. W następnej kolejności butelki z homogenatami szczelnie zamknięto, po czym umieszczono w łaźni ultradźwiękowej (Sonic 10, Polsonic, Warszawa, Polska) i poddano ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami w czasie 30 min przy częstotliwości 40 kHz. Po tym czasie pobrano 2 ml ekstraktu i odwirowano. Supernatant przeniesiono do fiolek chromatograficznych i poddano analizie profilu związków polifenolowych.

3.3. Analiza profilu związków polifenolowych

Analizę profilu związków polifenolowych wykonano metodą ultrasprawną chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem mas – UPLC-PDA-ESI-MS. Użyto ultrasprawnego chromatografu cieczowego Aquity firmy Waters (Micro-mass, Manchester, Wielka Brytania) sprzężonego z detektorem o matrycy diodowej (PDA) oraz tandemowym detektorem mas w postaci podwójnego kwadrupola (TQD). Rozdział przeprowadzono na kolumnie C_{18} BEH o wymiarach 100 mm x 2,1 mm i wielkości ziaren 1,7 μ m (Waters). Jako eluentu używano 0,1% wodnego roztworu kwasu mrówkowego (eluent A) i 40% acetonitrylu (eluent B). Stosowano następujący gradient: 20% B i 80% A do 100% B i 0% A w ciągu 8 min. W przypadku rozdziału antocyjanów stosowano ten sam gradient, ale udział kwasu mrówkowego był większy i wynosił 2%. Rozdziały wykonano przy prędkości fazy ruchomej 0,35 ml/min i temperaturze kolumny 50°C . Czas analizy wynosił 9,5 min. Objętość nastrzyku wynosiła 5 μ l. Parametry pracy detektora mas były następujące: napięcie kapilary 3,5 kV, napięcie stożka próbkującego 45 V. Temperatura źródła jonów oraz temperatura desolwatacji wynosiły odpowiednio 120°C i 350°C . Jako gaz nośny zastosowano azot o przepływie 800 l/h. Detekcję antocyjanów przeprowadzono w trybie jonów dodatnich, natomiast dla pozostałych klas polifenoli w trybie jonów ujemnych w zakresie m/z od 120–1200. Gromadzenie i analizę danych przeprowadzono za pomocą oprogramowania Mass-Lynx 4.1 (Waters).

3.3.1. Analiza jakościowa

Identyfikacji związków dokonano w oparciu o porównanie widm maksimum absorpcji promieniowania UV, masy cząsteczkowej wyznaczonej na podstawie stosunku masy do ładunku, czasów retencji oraz widm fragmentacyjnych z dostępnymi wzorcami oraz danymi literaturowymi. Listę wykorzystanych wzorców przedstawiono w tabeli 5. Widma rozpadu uzyskano w wyniku zastosowania kolizyjnie indukowanej fragmentacji (CID) w układzie tandemowym. Energię kolizji dobierano indywidualnie do analizowanego związku.

3.3.2. Analiza ilościowa

W celu przeprowadzenia analizy ilościowej zastosowano rejestrację jonu pojedynczego (single ion recording – SIR) dla wybranych jonów, charakterystycznych dla szukanych związków o zidentyfikowanych wcześniej widmach. W przypadku stilbenów zastosowano monitorowanie reakcji wielokrotnych (multiple reaction monitoring – MRM), w której sprawdzano obecność jonów fragmentacyjnych powstałych z wybranego prekursora. Obliczenia wykonano w oparciu o krzywe kalibracyjne zależności pola powierzchni piku od stężenia wprowadzanego na kolumnę związku. W tabeli 5 przedstawiono równania regresji, przedziały stężeń oraz współczynniki dopasowania krzywych kalibracyjnych dla wykorzystanych substancji wzorcowych. Obliczenia wykonano z użyciem oprogramowania Microsoft Excel 2010.

Tabela 5. Parametry krzywych kalibracyjnych substancji wzorcowych dla polifenoli
Table 5. Calibration curves used for determination of polyphenolic compounds

Lp.	Związek Compound	Zakres stężenia Concentration [$\mu\text{g/ml}$]	Równanie regresji Regression equation	R^2	Limit detekcji Limit of detection [$\mu\text{g/ml}$]
1	2	3	4	5	6
	Antocyjany/Anthocyanins				
1	3-O-glukozyd cyjanidyny	0,5–25	$y = 1,66 \times 10^{-5} - 8,92$	0,993	0,025
2	3-O-glukozyd malwidyny	0,5–25	$y = 1,4 \times 10^{-5} - 6,36$	0,991	0,010
3	3-O-glukozyd delfinidyny	0,5–25	$y = 1,73 \times 10^{-5} + 12,6$	0,989	0,048
4	3-O-glukozyd petunidyny	0,5–25	$y = 1,74 \times 10^{-5} + 17,86$	0,985	0,017
5	3-O-glukozyd peonidyny	0,5–20	$y = 1,26 \times 10^{-5} - 3,12$	0,997	0,015
6	3-O-glukozyd-5-O-glukozyd cyjanidyny	0,5–10	$y = 4,54 \times 10^{-5} - 0,62$	0,993	0,082
7	3-O-glukozyd-5-O-glukozyd malwidyny	0,5–10	$y = 4,0 \times 10^{-5} - 0,05$	0,999	0,053

1	2	3	4	5	6
	Flawonole/Flavonols				
8	3- <i>O</i> -rutynozyd kwercetyny	0,1–5	$y = 4,85 \times 10^{-5} + 0,78$	0,999	0,029
9	3- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	0,1–5	$y = 1,33 \times 10^{-5} - 4,02$	0,994	0,013
10	3- <i>O</i> -glukozyd myricetyny	0,1–5	$y = 1,88 \times 10^{-5} - 2,98$	0,995	0,06
11	3- <i>O</i> -glukozyd kempferolu	0,1–5	$y = 1,28 \times 10^{-5} + 11,78$	0,989	0,018
	Flawan-3-ole/Flawan-3-ols				
12	(+) <i>catechina</i>	0,5–20	$y = 28,3 \times 10^{-5} + 0,8$	0,996	0,037
13	(-) <i>epicatechina</i>	0,5–20	$y = 29,6 \times 10^{-5} - 1,6$	0,998	0,028
14	Procyjanidyna B1	0,5–20	$y = 11,8 \times 10^{-5} - 0,2$	0,993	0,076
15	Procyjanidyna B2	0,5–20	$y = 22,2 \times 10^{-5} - 0,3$	0,999	0,089
16	3- <i>O</i> -galusan epikatechiny	0,5–20	$y = 24,5 \times 10^{-5} + 0,4$	0,997	0,051
	Fenolokwasy/Phenolic acids				
17	kw. galusowy	0,5–15	$y = 2,98 \times 10^{-5} + 0,3$	0,998	0,021
18	kw. kawowo-winowy	0,5–10	$y = 6,16 \times 10^{-5} - 3,4$	0,999	0,053
19	kw. protokatechowy	0,5–10	$y = 7,8 \times 10^{-5} - 0,04$	0,998	0,013
20	kw. <i>p</i> -kumarowy	0,5–10	$y = 8,19 \times 10^{-5} - 0,06$	0,999	0,019
21	kw. kumarowo-winowy	0,5–10	$y = 6,68 \times 10^{-5} + 0,78$	0,999	0,069
22	kw. ferulowy	0,5–10	$y = 4,52 \times 10^{-5} - 4,02$	0,999	0,021
	Stilbeny/Stilbenes				
23	<i>trans</i> -resweratrol	0,05–5	$y = 4,78 \times 10^{-6} - 0,01$	0,999	0,004
24	<i>trans</i> -piceid	0,05–5	$y = 3,33 \times 10^{-6} - 0,3$	0,999	0,006

3.4. Analiza parametrów enologicznych

Do analiz parametrów enologicznych win wykorzystano metodę wysoko-sprawnej chromatografii cieczowej z detekcją refraktometryczną (HPLC-RD). Analizy przeprowadzono na chromatografie cieczowym firmy SYKAM (Eresing, Niemcy), wyposażonym w detektor refraktometryczny S3590 (Sykam). Rozdziały przeprowadzono na kolumnie jonowymiennej SETREX, Polymer IEX H o wymiarach 250 x 8 mm i średnicy złoża 6 µm. Kolumnę rozwijano w układzie izokratycznym 1,5 mM H₂SO₄ z prędkością przepływu wynoszącą 0,5 ml/min. Temperatura kolumny wynosiła 90°C, objętość nastrzyku 20 µl. Próbkę wina wstępnie rozcieńczano fazą ruchomą w stosunku 4 : 1 (v/v). Analizę jakościową przeprowadzono na zasadzie porównania czasów retencji otrzymanych pików z czasami retencji substancji wzorcowych. Analizę ilościową przeprowadzono metodą wzorca zewnętrznego w oparciu o krzywe kalibracyjne zależności pola powierzchni pików od stężenia wprowadzanego na kolumnę związku. W tabeli 6 przedstawiono równania regresji, przedziały stężeń oraz współczynniki dopasowania krzywych kalibracyjnych dla wykorzystanych substancji wzorcowych.

Tabela 6. Parametry krzywych kalibracyjnych dla substancji wzorcowych użytych do oznaczenia parametrów enologicznych

Table 6. Calibration curves used for determination of oenological parameters

Lp.	Związek Compound	Zakres stężenia Concentration [g/L]	Równanie regresji Regression equation	R ²	Limit detekcji Limit of detection [g/L]
1	Kwas cytrynowy	0,05–0,55	$y = 0,064 x$	0,999	0,01
2	Kwas winowy	0,5–10	$y = 0,058 x$	0,999	0,05
3	Kwas jabłkowy	0,5–5	$y = 0,054 x$	0,999	0,01
4	Kwas bursztynowy	0,5–5	$y = 0,06 x$	0,999	0,01
5	Kwas mlekowy	0,5–10	$y = 0,055 x$	0,999	0,01
6	Kwas octowy	0,05–0,55	$y = 0,071 x$	0,999	0,01
7	Glukoza	1–10	$y = 0,069 x$	0,999	0,01
8	Fruktoza	1–10	$y = 0,053 x$	0,999	0,01
9	Glicerol	0,5–10	$y = 0,081 x$	0,999	0,05
10	Metanol	0,1–1	$y = 0,154 x$	0,999	0,05
11	Etanol (%)	8–15	$y = 0,03 x$	0,999	0,01

3.5. Pomiar zawartości siarki w winach

Oznaczanie zawartości wolnego i ogólnego SO₂ prowadzono zgodnie z Polską Normą [PN-90/A-79120/10] metodą jodometryczną, zmodyfikowaną w zakresie sposobu miareczkowania. Zastosowano miareczkowanie potencjometryczne przy użyciu PH-BURE TTE 24 1S CRISON (elektroda platynowa), zamiast tradycyjnego wobec wskaźnika BBT. Analizę wina prowadzono do każdorazowego uzyskania w powtórzeniu punktu końcowego miareczkowania < 150 mV.

3.6. Pomiar aktywności przeciwutleniającej

Aktywność przeciwutleniającą oznaczono czterema metodami:

- metodą zmiatania stabilnych syntetycznych rodników DPPH[•] (Marxen i in. 2007),
 - metodą z kationorodnikiem ABTS^{+•} (Re i in. 1999),
 - metodą FRAP jako zdolność redukcji żelaza Fe³⁺ do Fe²⁺ (Benzie i Strain 1996),
 - metodą oznaczania pojemności przeciwutleniającej ORAC (Ninfali i in. 2002).
- Analizy metodami DPPH, ABTS i FRAP wykonano z wykorzystaniem spektrofotometru UV-Vis Nicolet Evolution 300 firmy Thermo (Waltham, MA, USA). Wyniki wyrażono jako ekwiwalent mikromoli troloxu na g/śm owoców oraz milimoli troloxu na litr wina. W metodzie ORAC potencjał został wyrażony jako

ekwiwalent milimoli witaminy C. Do analiz wykorzystano ekstrakty otrzymane metodą opisaną w rozdziale 3.2. Pomiar zdolności antyoksydacyjnej metodą ORAC wykonano na urządzeniu Photochem firmy Analytic Jena (Jena, Niemcy).

3.7. Oznaczanie parametrów barwy

Barwę wina określono metodą obiektywnego pomiaru w systemie CIE Lab, przy użyciu aparatu Ultra Scan Vis firmy HunterLab (Reston, USA). Pomiaru wykonywano w kuwetach o długości drogi optycznej 10 mm, w świetle przechodzącym, dla obserwatora typ 10° i iluminantu D65. Oznaczono parametry barwy w skali CIE L*a*b*. Przed pomiarem barwy próbki wina rozcieńczono 5-krotnie.

3.8. Analiza statystyczna

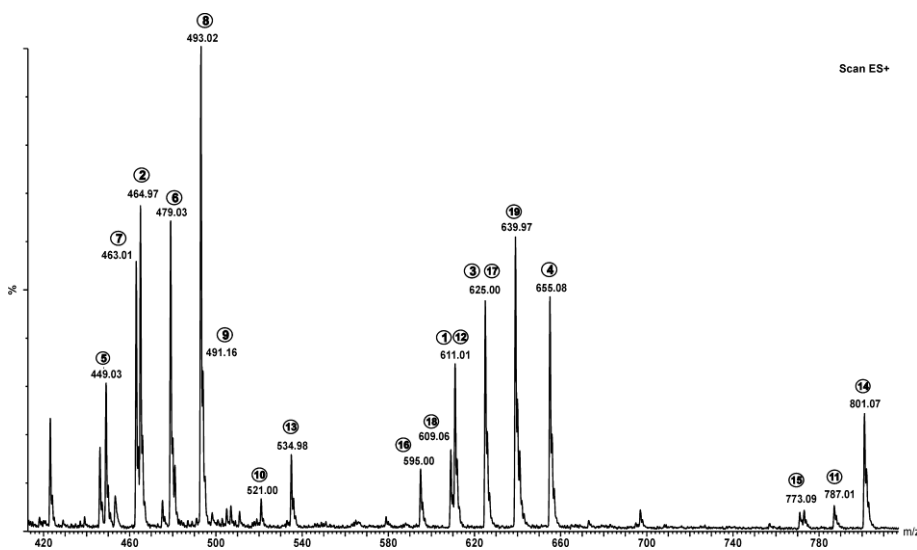
Otrzymane wyniki badań poddano analizie wariancji, stosując pakiet STATISTICA 10.0 firmy StatSoft. Obliczenia wykonano na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Grupy jednorodne wyznaczono za pomocą testu porównań wielokrotnych Duncana z zastosowaniem oznaczenia literowego a, b, c – przy czym wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie. Zastosowano analizę skupień oraz analizę składowych głównych (PCA). Dla wybranych parametrów wyznaczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona. Wyniki badań w odniesieniu do analiz chromatograficznych przedstawiono jako wartości średnie z dwóch powtórzeń ($n = 2$). Wyniki z pozostałych badań przedstawiono jako wartości średnie z trzech powtórzeń ($n = 3$).

4. Omówienie wyników i dyskusja

4.1. Identyfikacja związków polifenolowych w winogronach

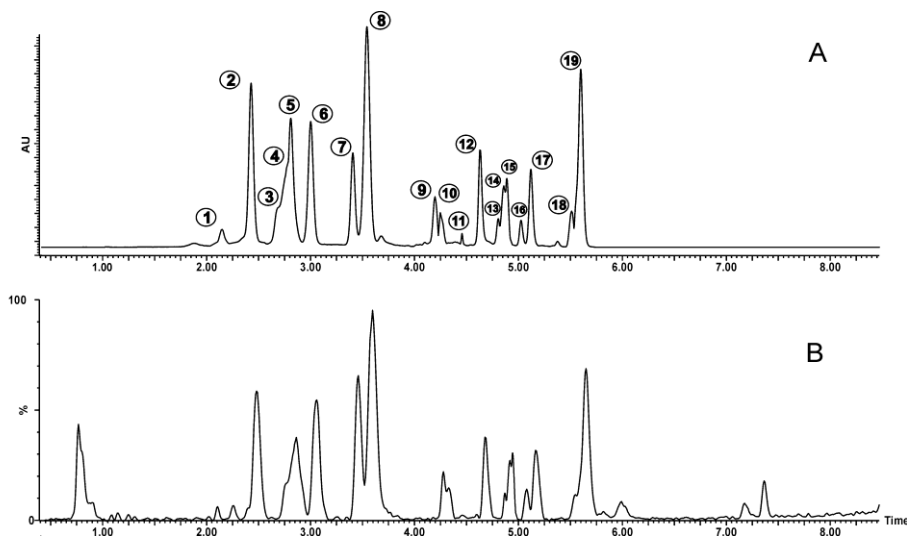
W owocach winogron zidentyfikowano łącznie 46 związków polifenolowych należących do 5 klas: antocyjany (19 pochodnych), flawonole (12 pochodnych), flawan-3-ole (5 pochodnych), fenolokwasy (6 pochodnych) i stilbeny (4 pochodne). Poszczególne klasy związków rozróżniono na podstawie charakterystycznych widm maksimum absorpcji promieniowania UV. Identyfikacji poszczególnych związków polifenolowych dokonano na podstawie widm masowych stosunku masy do ładunku m/z oraz masowych widm fragmentacyjnych powstałych w wyniku zastosowania kolizyjnie wywołanej dysocjacji (CID MS/MS). Związki zidentyfikowano, porównując uzyskane dane z danymi literaturowymi (Baldi i in. 1995; Castillo-Munoz i in. 2009; Castillo-Munoz i in. 2010; Flamini 2003; Muzzuca i in. 2005; Wang i in. 2003; Mattivi i in. 2006), a także porównując ich charakterystykę spektralną oraz czasy retencji z dostępnymi substancjami wzorcowymi.

4.1.1. Antocyjany



Rysunek 2. Widmo ESI-MS sumy antocyjanów uzyskane w wyniku bezpośredniego nastrzyku
Figure 2. Direct injection ESI-MS of the mixture of anthocyanins

Na rysunku 2 przedstawiono widmo uzyskane z bezpośredniego nastrzyku zarejestrowane dla jonów dodatnich $[M+H]^+$, natomiast rysunek 3 przedstawia chromatogram UPLC-PDA-MS związków antocyjanowych dla ekstraktu z winogron czerwonych, zarejestrowany przy długości fali $\lambda = 520$ nm, oraz całkowity prąd jonowy dla jonów dodatnich $[M+H]^+$. W tabeli 7 natomiast przedstawiono wynik identyfikacji związków antocyjanowych.



Rysunek 3. Chromatogram UPLC antocyjanów, A – obraz z detektora PDA ($\lambda = 520$ nm), B – obraz z detektora MS

Figure 3. The UPLC chromatogram of anthocyanins, A – obtained by PDA ($\lambda = 520$ nm), B – obtained by positive-ion LC-ESI/MS

Tabela 7. Antocyjany zidentyfikowane metodą UPLC-PDA-MS/MS w winogronach o czerwonych owocach

Table 7. Anthocyanins observed by positive-ion UPLC-PDA-MS/MS

Nr	Związek Compound	Rt*	$[M-H]^+$	$[MS/MS]$	UV λ_{max}
		(min.)	(m/z)	(m/z)	(nm)
1	2	3	4	5	6
1	3-O-glukozyd-5-O-glukozyd cyjanidyny	2,19	611	449, 287	280, 516
2	3-O-glukozyd delfinidyny	2,38	465	303	280, 523
3	3-O-glukozyd-5-O-glukozyd peonidyny	2,67	625	463, 301	278, 513
4	3-O-glukozyd-5-O-glukozyd malwidyny	2,72	655	493, 331	275, 524
5	3-O-glukozyd cyjanidyny	2,74	449	287	279, 515
6	3-O-glukozyd petunidyny	2,92	479	317	277, 526
7	3-O-glukozyd peonidyny	3,31	463	301	279, 515
8	3-O-glukozyd malwidyny	3,43	493	331	278, 530
9	3-O-(6"-O-acetylo)-glukozyd cyjanidyny	3,53	491	449, 287	283, 522

1	2	3	4	5	6
10	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -acetylo)-glukozyd petunidyny	4,1	521	317	280, 530
11	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -acetylo)-glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd petunidyny	4,28	787	317	625, 479, 280, 530
12	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd delfinidyny	4,47	611	303	279, 530
13	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -acetylo)-glukozyd malwidyny	4,62	535	331	280, 521
14	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd malwidyny	4,68	801	331	639, 493, 280, 530
15	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd peonidyny	4,67	771	301	609, 463, 279, 523
16	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd cyjanidyny	4,85	595	287	283, 522
17	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd petunidyny	4,93	625	317	280, 531
18	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd peonidyny	5,35	609	301	279, 523
19	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd malwidyny	5,39	639	331	280, 521

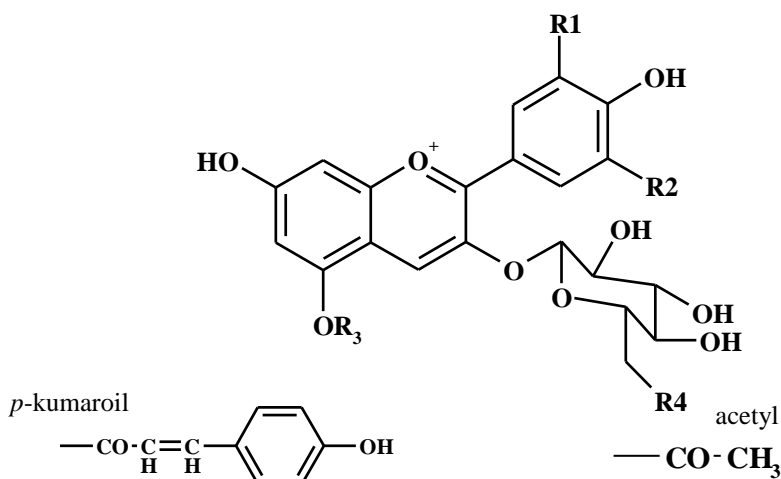
* Rt – czas retencji, retention time

Wśród 19 zidentyfikowanych związków wyróżnić można pochodne 5 antocyjanidyn: odpowiednio cyjanidyny, delfinidyny, peonidyny, malwidyny i petunidyny. Dokładna identyfikacja możliwa była po przeprowadzeniu fragmentacji wyodrębnionych pików pseudomolekularnych. Pik nr **1** miał jon pseudomolekularny o m/z równym 611, natomiast po fragmentacji zaobserwować można było dwa piki o m/z równych odpowiednio 449 i 287. Pierwszy z nich odpowiadał utracie [M-162] jednostek amu, co odpowiadało cząsteczce heksozy, natomiast drugi fragment odpowiadał utracie kolejnej cząsteczki heksozy [M-324] z uwolnieniem aglikonu cyjanidyny (m/z 287). Na podstawie porównania z danymi literaturowymi oraz z dostępnym wzorcem związek ten zidentyfikowano jako: 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd cyjanidyny. Pik nr **2** wykazywał m/z 465, a w widmie fragmentacyjnym dało się zaobserwować fragment o m/z równym 303, co również odpowiadało utracie cząsteczki heksozy [M-162], z uwolnieniem aglikonu, jakim była delfinidyna. Związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-glukozyd delfinidyny, potwierdzono to z danymi literaturowymi oraz z dostępnym wzorcem. Pik nr **3** mający jon pseudomolekularny m/z 625 zawierał fragment o m/z 301, co odpowiadało masie aglikonu, jakim jest peonidyna uwolniona po odszczepieniu fragmentu [M-324] odpowiadającemu utracie dwóch cząsteczek heksozy. Związek ten na podstawie danych literaturowych zidentyfikowano jako 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd peonidyny. Związki nr **4** oraz nr **8** o jonach pseudomolekularnych odpowiednio 665 i 493 zawierały jako aglikon malwidynę, na co wskazywała obecność fragmentu m/z 331, różnica masy pomiędzy obydwoma związkami wynosiła 162 jednostki amu odpowiadające cząsteczce heksozy, również w widmie fragmentacyjnym związku nr 4 obecny był fragment m/z 493. Biorąc powyższe pod uwagę, związki te zidentyfikowano odpowiednio jako: 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny oraz 3-*O*-glukozyd malwidyny. Znalaz-

zło to potwierdzenie w danych literaturowych, jak również widma oraz czasy retencji tych związków zostały porównane z dostępnymi wzorcami tych substancji. Masa pików nr 5 o jonie pseudomolekularnym m/z 449, podobnie jak w przypadku pary opisanej powyżej, była pomniejszona o 162 jednostki amu w stosunku do pików nr 1, co wskazywało na brak cząsteczki heksozy, natomiast obecność w widmie fragmentacyjnym charakterystycznego jonu o m/z 289 wskazywała na występowanie aglikonu, jakim była cyjanidyna. Dlatego też związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-glukozyd cyjanidyny; dodatkowo jego czas retencji został porównany z dostępnym wzorcem. W wyniku fragmentacji pików nr 6 o m/z 479 został uwolniony aglikon: petunidyna o masie 317. Ubytek 162 jednostek amu, odpowiadający heksozie, wskazywał na obecność glukozy w cząsteczce. W związku z powyższym, w oparciu o dane literaturowe, związek ten został zidentyfikowany jako 3-*O*-glukozyd petunidyny. Pik nr 7, podobnie jak opisany wyżej związek nr 3, zawierał peonidynę jako aglikon; wskazywała na to obecność pików o m/z 301 w widmie fragmentacyjnym. Masa całego związku pomniejszona była o 162 jednostki amu, co wskazywało na brak cząsteczki glukozy; po porównaniu tych ustaleń z danymi literaturowymi związek ten został zidentyfikowany jako 3-*O*-glukozyd peonidyny. Dodatkowo właściwości spektralne oraz czasy retencji zostały porównane z dostępnymi wzorcami. Związek nr 9 o pikach pseudomolekularnych m/z wynoszącym 491, podobnie jak wcześniej zidentyfikowane związki nr 1 i 5, był pochodną cyjanidyny. Wskazywała na to obecność fragmentu m/z 289, dodatkowo w widmie fragmentacyjnym występował jon o masie 449, analogiczny dla związku nr 5 zidentyfikowanego jako 3-*O*-glukozyd cyjanidyny. Różnica masy pomiędzy nimi wynosiła 42 jednostki amu odpowiadające grupie acetylowej (CO-Me). Związek ten na podstawie doniesień literaturowych zidentyfikowano jako 3-*O*-(6-*O*-acetylo)-glukozyd cyjanidyny. Pik nr 10 wykazywał podobne właściwości spektralne co pik nr 6, obecność fragmentu o m/z 317 wskazywała na występowanie pochodnej petunidyny. Dalsza analiza widma fragmentacyjnego potwierdziła występowanie cząsteczki heksozy [M-162]; podobnie jak w związku opisanym wyżej, również i tutaj występowała reszta acetylowa. Porównując dane literaturowe związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-(6-*O*-acetylo)-glukozyd petunidyny. Związek nr 11 charakteryzował się stosunkiem masy do ładunku m/z 787. W wyniku fragmentacji powstały trzy fragmenty o kolejnych masach: 625, 479 i 317. Pierwszy fragment wskazywał na ubytek cząsteczki heksozy (162 amu), drugi natomiast powodował ubytek masy o 308 jednostek amu. Uwzględniając wcześniejszy ubytek heksozy, kolejna odszczepiona cząsteczka miała masę 146 amu, co mogło wskazywać na obecność reszty ramnozy, natomiast ostatni fragment pochodził od aglikonu, który zidentyfikowano jako petunidyna. Początkowo stwierdzono, że ten związek to 3-*O*-rutynozyd-5-*O*-glukozyd petunidyny. Analizując dane litera-

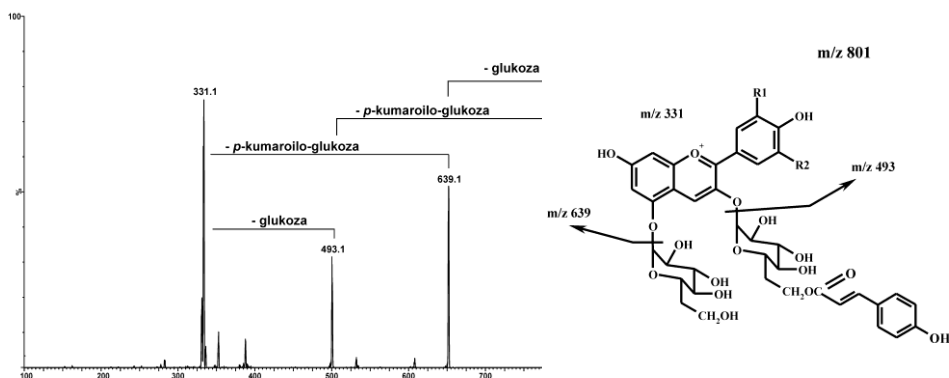
turowe, nie odnaleziono potwierdzenia występowania tego typu pochodnej w owocach winogron. Dlatego też związek ten zidentyfikowano jako acetylową pochodną dwuglukozydu petunidyny, w której cząsteczka glukozy acylowana została kwasem p-kumarowym. Związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glukozyd-5-*O*-glukozyd petunidyny. Występowanie w owocach winogron tego typu pochodnych zostało wcześniej potwierdzone w literaturze. Pik nr **12** charakteryzował się takim samym *m/z* jak w opisanym już związku nr 1, wynoszącym 611. W widmie fragmentacyjnym obecny był tylko jeden pik o masie 303, charakterystyczny dla aglikonu, jakim była delfinidyna. Ubytek masy wynosił 308 jednostek amu i wskazywał na odszczepienie acylowanej kwasem p-kumarowym reszty glukozy. Mając powyższe na uwadze, związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-(6-*O*-kumarolilo)-glukozyd delfinidyny. Związek ten został wcześniej opisany w literaturze. Związek nr **13** zawierał pik pseudomolekularny o *m/z* 535 i był pochodną malwidyny, na co wskazywał powstały fragment *m/z* 331. Ubytek masy, jaki powstał po odszczepieniu tego aglikonu, to 204 jednostki amu, co wskazywało na występowanie grupy acetylowej (42 amu) oraz reszty glukozy (162 amu). Analizując związki opisane wcześniej, ustalono, że był on acetylową pochodną związku nr 8, czyli 3-*O*-glukozydu malwidyny, i zidentyfikowany został jako 3-*O*-(6''-*O*-acetylo)-glukozyd malwidyny; jego występowanie w owocach winogron również zostało wcześniej opisane w literaturze. Związek nr **14** o pikie pseudomolekularnym *m/z* 801 miał większą masę o 146 jednostek amu w porównaniu do opisanego wcześniej związku nr 4 (dwuglukozydu malwidyny). Dalsza analiza powstałych jonów fragmentacyjnych potwierdziła te przypuszczenia. Obecność pików *m/z* 331 wskazywała na występowanie malwidyny jako aglikonu, kolejne fragmenty o *m/z* 639 i 493 wskazywały na utratę dwóch reszt heksozowych i reszty kwasu p-kumarowego. Na podstawie danych literaturowych związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny. Związek nr **15** o pikie pseudomolekularnym *m/z* 771 w widmie jonów fragmentacyjnych obejmował trzy piki. Pik o *m/z* 301 wskazywał na obecność w części aglikonowej peonidyny, natomiast dwa wcześniejsze sygnały o *m/z* 609 i 463 wskazywały na utratę kolejno dwóch cząsteczek heksozy oraz reszty acylowej, którą był kwas p-kumarowy. Porównując dane literaturowe, pik ten zidentyfikowano jako 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glukozyd-5-*O*-glukozyd peonidyny. Pik nr **16** zidentyfikowano jako 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glukozyd cyjanidyny, w widmie fragmentacyjnym występował charakterystyczny pik dla tego aglikonu o *m/z* 287, a ubytek masy odpowiadał fragmentowi dla acylowanej reszty glukozy. Kolejnym zidentyfikowanym związkiem był 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glukozyd petunidyny, oznaczony jako pik nr **17**. Dwa ostatnie związki antocyjanowe, oznaczone jako piki nr **18** i **19**, okazały się również acylowanymi pochodnymi monoglukozydów, odpo-

wiednio peonidyny i malwidyny, które zidentyfikowano na podstawie charakterystycznego piku pseudomolekularnego w widmie fragmentacyjnym. Porównując dane literaturowe, zostały zidentyfikowane jako 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glukozyd peonidyny (18) i 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glukozyd malwidyny (19).



Nr	Związek Compound	R1	R2	R3	R4
1	3- <i>O</i> -glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd cyjanidyny	OH	H	Glc	H
2	3- <i>O</i> -glukozyd delfinidyny	OH	OH	H	H
3	3- <i>O</i> -glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd peonidyny	OCH ₃	H	Glc	H
4	3- <i>O</i> -glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd malwidyny	OCH ₃	OCH ₃	Glc	H
5	3- <i>O</i> -glukozyd cyjanidyny	OH	H	H	H
6	3- <i>O</i> -glukozyd petunidyny	OCH ₃	OH	H	H
7	3- <i>O</i> -glukozyd peonidyny	OCH ₃	H	H	H
8	3- <i>O</i> -glukozyd malwidyny	OCH ₃	OCH ₃	H	H
9	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -acetylo)-glukozyd cyjanidyny	OH	H	H	acetyl
10	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -acetylo)-glukozyd petunidyny	OCH ₃	OH	H	acetyl
11	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -acetylo)-glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd petunidyny	OCH ₃	OH	Glc	acetyl
12	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd delfinidyny	OH	OH	H	<i>p</i> -kumaroil
13	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -acetylo)-glukozyd malwidyny	OCH ₃	OCH ₃	H	acetyl
14	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd malwidyny	OCH ₃	OCH ₃	Glc	<i>p</i> -kumaroil
15	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd-5- <i>O</i> -glukozyd peonidyny	OCH ₃	H	Glc	<i>p</i> -kumaroil
16	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd cyjanidyny	OH	H	H	<i>p</i> -kumaroil
17	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd petunidyny	OCH ₃	OH	H	<i>p</i> -kumaroil
18	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd peonidyny	OCH ₃	H	H	<i>p</i> -kumaroil
19	3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glukozyd malwidyny	OCH ₃	OCH ₃	H	<i>p</i> -kumaroil

Rysunek 4. Struktura chemiczna zidentyfikowanych antocyjanów
Figure 4. Structure of identified anthocyanins



Rysunek 5. Przykładowy mechanizm reakcji fragmentacji dla 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny

Figure 5. Fragmentation patterns of 3-*O*-(6''-*O*-kumarolilo)-glucoside-5-*O*-glucoside malvidine

Na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat dzięki rozwojowi i dostępności łączonych technik chromatografii cieczowej z detekcją mas nastąpił znaczący postęp w identyfikacji antocyjanów występujących w winogronach oraz winie. Obecnie w literaturze potwierdzono występowanie około 50 różnego rodzaju antocyjanów z czego około połowy to związki stanowiące podstawowy profil antocyjanowy, powtarzający się we wszystkich odmianach i gatunkach *Vitis spp.* Pozostałe zidentyfikowane antocyjany stanowią ich pochodne, których występowanie zróżnicowane jest w zależności od gatunku, odmiany, regionu i fazy dojrzałości analizowanych owoców, jak również powstałe w wyniku przemian tych związków w trakcie dojrzewania i przechowywania wina (Zhu i in. 2012; Mazzuca i in. 2005; Liang i in. 2008). Na podstawowy profil związków antocyjanowych w odmianach należących do gatunku *Vitis vinifera* składają się przede wszystkim 3-*O*-glukozydy delfinidyny, cyjanidyny, malwidyny, peonidyny i petunidyny oraz ich acylowane pochodne. Acylacja najczęściej następuje poprzez przyłączenie do cząsteczki glukozy reszty kwasu octowego bądź *p*-kumarowego. W mniejszym stopniu acylacja następuje poprzez przyłączenie reszty kwasu kawowego lub ferulowego, a nawet mlekowego (Vidal i in. 2004; Alcalde-Eon i in. 2006; De-Nisco i in. 2013). Ilość i rodzaj występujących acylowanych pochodnych zależy od zmienności odmianowej i w skrajnych przypadkach tego rodzaju pochodne mogą nie występować w profilu antocyjanowym, jak ma to miejsce w przypadku odmiany Pinot noir (Ribereau-Gayon i in. 2000).

W odmianach pochodzących od hybryd międzygatunkowych profil antocyjanowy wzbogacony jest o występowanie 3,5-diglukozydów (Acevedo De la Cruz i in. 2012) oraz 3,7-diglukozydów (Alcalde-Eon i in. 2006). Diglukozydy mogą również występować w formie zacylowanej. Nieliczne doniesienia mówią jeszcze o występowaniu pochodnych pelargonidyny w postaci 3-*O*-monoglukozydu;

obecność tej pochodnej stwierdzono w odmianach międzygatunkowych Concord, Rubired and Salvador (Wang i in. 2003), jak również odmianach pochodzących od *Vitis vinifera*: Cabernet Sauvignon i Pinot noir (He i in. 2010). Stosowanie coraz czulszych metod detekcji pozwoliło ostatnio udowodnić występowanie 3,5-diglukozydów również w odmianach *Vitis vinifera* w śladowych ilościach (Figueiredo-Gonzalez i in. 2012). Profil antocyjanowy jest używany jako kryterium chemotaksonomiczne w systematyce odmian winogron, jak również jest wykorzystywany do ustalenia różnic w zmienności odmianowej winogron (Roggero i in. 1986; Roggero i in. 1988; Ortega i in. 1994; Baldi i in. 1993). Różnice te związane są z aktywnością enzymów w szlaku biosyntezy antocyjanów: 3'-hydroksylazą flawonoidową (F3'H) odpowiedzialną za stopień hydroksylacji pierścienia B oraz O-metylotransferazą (OMTs). Innym szeroko stosowanym kryterium w klasyfikacji odmianowej jest występowanie oraz wzajemny stosunek pochodnych acylowanych kwasem octowym i *p*-kumarowym (Marx i in. 2000; Nunez i in. 2004). Aktywność tych enzymów w poszczególnych odmianach jest zróżnicowana bezpośrednio przez ekspresję ich genomu.

4.1.2. Flawonole

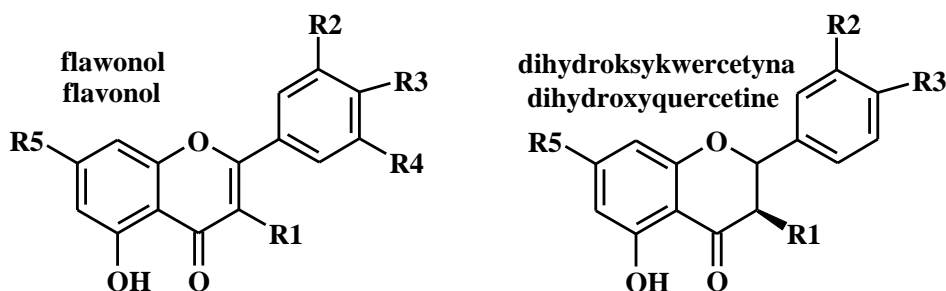
Wśród flawonoli zidentyfikowano 12 pochodnych będących glikozydami następujących aglikonów: kwercetyny i dihydroksykwercetyny, myricetyny, kempferolu oraz izoramnetyny. W tabeli 8 przedstawiono profil pochodnych flawonolowych zidentyfikowanych w owocach winogron. Związek nr **1** miał pik pseudomolekularny o m/z 787, a w widmie jonów fragmentacyjnych, charakterystyczny dla kwercetyny jon o m/z 301. Różnica masy pomiędzy pikiem macierzystym a tym jonem potomnym wynosiła 486 jednostki amu, co odpowiadało utracie trzech cząsteczek heksozy, wskazywały na to również wcześniejsze zarejestrowane fragmenty m/z 625 [M-162] oraz m/z 463 [M-162-162]. Związek nr **2** wykazywał podobne właściwości spektralne, z tą jednak różnicą, że jego pik pseudomolekularny był pomniejszony o 162 jednostki amu, co wskazywało na brak w cząsteczce jednej heksozy. Porównując dane literaturowe, związki te zidentyfikowano kolejno jako: 3,7,4'-tri-*O*-glukozyd kwercetyny oraz 3,7-di-*O*-glukozyd kwercetyny. Związek nr **3** zawierał taki sam pik pseudomolekularny jak poprzedni związek – m/z 625, co mogłoby wskazywać na jego formę izomeryczną. Różnica w strukturze między nimi dała się zaobserwować w czasie analizy powstałych jonów w trakcie fragmentacji tego piku. Występował również podobny fragment m/z 463, jednak w części aglikonowej brak było sygnału dla kwercetyny, zamiast niego występował pik o m/z 317, który był charakterystyczny dla myricetyny. Poszczególne jony fragmentacyjne wskazywały na ubytek masy wynoszący 308 jednostek amu odpowiadający cząsteczce rutynozy. Na podstawie danych literaturowych związek ten został zidentyfikowany jako

3-*O*-rutynozyd myricetyny. Pik nr **4** zawierał jon pseudomolekularny m/z 609, natomiast w trakcie fragmentacji zaobserwowano pik o m/z 301, który świadczy o obecności kwercetyny. Ubytek masy tak jak w poprzednim związku wynosił 308 jednostek amu, a więc wskazywał na występowanie w analizowanej cząsteczce rutynozy. Mając na uwadze dane literaturowe oraz porównanie z dostępnym wzorcem, związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-rutynozyd kwercetyny, bardziej znany pod nazwą zwyczajową – rutyna. Związek nr **5** o zarejestrowanym pikie pseudomolekularnym m/z 479 w trakcie fragmentacji rozpadał się, dając tylko jeden fragment o m/z 317, który pojawiał się wcześniej już w związku nr **3** i był charakterystyczny dla myricetyny. Ubytek masy wskazywał na utratę cząsteczki heksozy [M-162]. Na podstawie danych literaturowych związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-glukozyd myricetyny. Kolejne dwa związki nr **6** i **7** wykazywały bardzo zbliżoną polarność, a ich piki pseudomolekularne były identyczne i wynosiły m/z 463. W trakcie fragmentacji oba związki uwalniały pik m/z 301 wskazujący na obecność aglikonu, jakim była kwercetyna, a ubytek masy świadczył o występowaniu w cząsteczce heksozy. Te spostrzeżenia wskazywały, iż związek ten jest izomerem monoglukozydu kwercetyny. Na podstawie dostępnych danych literaturowych związki te zidentyfikowano odpowiednio jako 3-*O*-glukozyd kwercetyny oraz 4'-*O*-glukozyd kwercetyny. Fragmentacja związku nr **8** o m/z 449 powodowała jego rozpad, w wyniku którego uwolniony został aglikon o masie 303 jednostek amu. Ubytek masy [M-146], wskazywał na obecność w cząsteczce reszty deoksyhesozy. Powołując się na dane literaturowe, związek ten zidentyfikowano jako 3-*O*-ramnozyd dihydroksykwercetyny. Dwa kolejne związki nr **9** i **10** miały ten sam pik pseudomolekularny wynoszący m/z 447. Jednak analizując ich fragmenty, udało się określić między nimi różnice strukturalne. Pierwszy z nich zawierał aglikon dający sygnał m/z 285, co wskazywało na obecność kempferolu, różnica mas pomiędzy jonem macierzystym wynosiła 162 jednostki amu, co odpowiadało utracie cząsteczki heksozy. Drugi związek jako aglikon posiadał kwercetynę, z różnicy masy ustalono, że cukrem wchodzącym w skład cząsteczki tej pochodnej, podobnie jak w związku nr **8**, była deoksyheksoza. Porównując dane literaturowe, związki te zidentyfikowano kolejno jako: 3-*O*-glukozyd kempferolu i 3-*O*-ramnozyd kwercetyny. Podobnie było z parą związków nr **11** i **12**. Zawierały one ten sam pik pseudomolekularny o stosunku m/z wynoszącym 477. Analizując powstałe jony potomne, ustalono, że pierwszy z nich zawierał w części aglikonowej kwercetynę (m/z 301). W części cukrowej natomiast występowała cząsteczka kwasu uronowego, odpowiadająca różnicy masy wynoszącej 176 jednostek amu. Drugi związek w wyniku fragmentacji uwolnił jon o m/z 315, a powstały ubytek masy odpowiadał pojedynczej cząsteczce heksozy. Na podstawie danych literaturowych związki te zidentyfikowano odpowiednio jako 3-*O*-glukuronid kwercetyny oraz 3-*O*-glukozyd izoramnetyny.

Tabela 8. Flawonole zidentyfikowane w owocach winogron metodą UPLC-PDA-ESI-MS/MS
Table 8. Flavonols observed by negative-ion UPLC-PDA-ESI-MS/MS

Nr	Związek Compound	Rt*	[M-H] ⁻	[MS/MS]	UV λ _{max}
		(min.)	(<i>m/z</i>)	(<i>m/z</i>)	(nm)
1	3, 7, 4' – tri- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	2,39	787	625, 463, 301	255, 356
2	3,7– di- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	2,84	625	463, 301	255, 355
3	3- <i>O</i> -rutynozyd myricetyny	3,7	625	463, 317	253, 365
4	3- <i>O</i> -glukozyd myricetyny	4,32	479	317	253, 372
5	3- <i>O</i> -rutynozyd kwercetyny	4,29	609	447, 301	255, 355
6	4'- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	4,39	463	301	255, 355
7	3- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	4,48	463	301	255, 356
8	3- <i>O</i> -ramnozyd dihydroksykwercetyny	4,67	449	303	288, 340
9	3- <i>O</i> -glukozyd kempferolu	4,8	447	285	267, 360
10	3- <i>O</i> -ramnozyd kwercetyny	4,99	447	301	255, 355
11	3- <i>O</i> -glukuronid kwercetyny	5,06	477	301	255, 355
12	3- <i>O</i> -glukozyd izoramnetyny	5,16	477	315	254, 369

* Rt – czas retencji, retention time



Nr	Związek Compound	R1	R2	R3	R4	R5
		1	3, 7, 4' – tri- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	Glc	OH	OH
2	3,7– di- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	Glc	OH	OH	H	Glc
3	3- <i>O</i> -rutynozyd myricetyny	Glc-Rha	OH	OH	OH	OH
4	3- <i>O</i> -glukozyd myricetyny	Glc	OH	OH	OH	OH
5	3- <i>O</i> -rutynozyd kwercetyny	Glc-Rha	OH	OH	H	OH
6	4'- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	OH	OH	Glc	H	OH
7	3- <i>O</i> -glukozyd kwercetyny	Glc	OH	OH	H	OH
8	3- <i>O</i> -ramnozyd dihydroksykwercetyny	Rha	OH	OH	H	OH
9	3- <i>O</i> -glukozyd kempferolu	Glc	H	OH	H	OH
10	3- <i>O</i> -ramnozyd kwercetyny	Rha	OH	OH	H	OH
11	3- <i>O</i> -glukuronid kwercetyny	Glu	OH	OH	H	OH
12	3- <i>O</i> -glukozyd izoramnetyny	Glc	OCH ₃	OH	H	OH

Rysunek 6. Struktura chemiczna zidentyfikowanych flawonoli

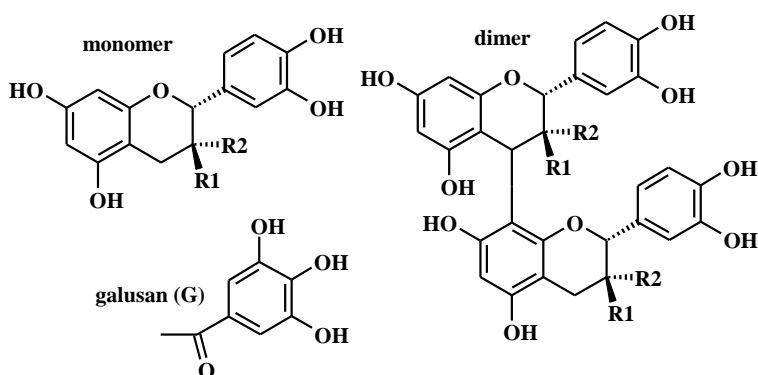
Figure 6. Structure of identified flavonols

4.1.3. Flawan-3-ole

Tabela 9. Flawan-3-ole zidentyfikowane w owocach winogron metodą UPLC-PDA-ESI-MS/MS
Table 9. Flavan-3-ols observed by negative-ion UPLC-PDA-ESI-MS/MS

Nr	Związek Compound	Rt*	[M-H] ⁻	[MS/MS]	UV λ _{max}
		(min)	(m/z)	(m/z)	(nm)
1	Procyjanidyna B1	2,03	577	425, 285	280
2	(+)katechina	2,36	289	–	276
3	Procyjanidyna B2	2,61	577	425, 285	280
4	(-)epikatechina	2,98	289	–	280
5	3-O-galusan epikatechiny	3,92	441	289	280

* Rt – czas retencji, retention time



Nr	Związek Compound	R1	R2
1	Procyjanidyna B1	OH	H
2	(+)katechina	OH	H
3	Procyjanidyna B2	H	OH
4	(-)epikatechina	H	OH
5	3-O-galusan epikatechiny	H	O-G

Rysunek 7. Struktura chemiczna zidentyfikowanych flawan-3-oli
Figure 7. Structure of identified flavan-3-ols

Wśród pochodnych należących do tej grupy polifenoli zidentyfikowano 5 związków. Monomery (+) katechina i (-) epikatechina zawierały jon pseudomolekularny o wartości m/z 289. Dimery procyjanidynowe B1 i B2, o pikie pseudomolekularnym m/z 577, w trakcie fragmentacji rozpadały się na mniejsze fragmenty charakteryzujące się następującymi sygnałami m/z : 559, 425 i 289. Pierwszy fragment był wynikiem eliminacji drobiny wody z cząsteczki, kolejny 425 wynikał z zaistniałego rozpadu pierścienia C w reakcji Retro-Diels-Aldera, ostatni, najmniejszy fragment pochodził od cząsteczki flawanolu. Ostatni zwią-

zek zidentyfikowano jako 3-*O*-galusan(-)epikatechiny charakteryzujący się jonem pseudomolekularnym wynoszącym m/z 441. W trakcie fragmentacji tego związku doszło do uwolnienia cząsteczki (-)epikatechiny wyniku odszczepienia reszty kwasu tri-hydroksybenzoesowego [M-152]. Identyfikacji tych pochodnych dokonano na podstawie zarejestrowanych jonów pseudomolekularnych oraz charakterystycznych widm rozpadu, kolejność elucji natomiast została ustalona w oparciu o porównanie ich czasów retencji z czasami retencji dla autentycznych substancji wzorcowych. Wszystkie ustalenia potwierdziły dane literaturowe.

4.1.4. Fenolokwasy

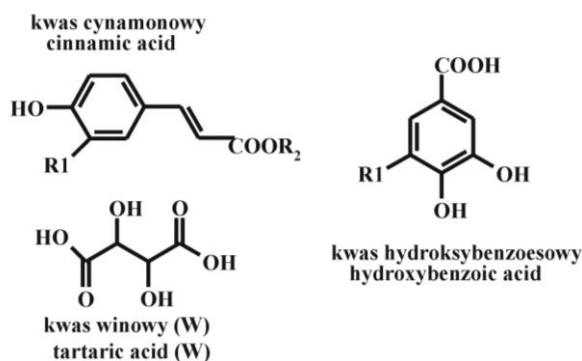
Tabela 10. Fenolokwasy zidentyfikowane w owocach winogron metodą UPLC-PDA-ESI-MS/MS.
Table 10. Phenolic acid observed by negative-ion UPLC-PDA-ESI-MS/MS

Nr	Związek Compound	Rt*	[M-H] ⁻	[MS/MS]	UV λ_{\max}
		(min.)	(m/z)	(m/z)	(nm)
1	Kwas galusowy	1,34	169	125	272
2	Kwas kawowo-winowy	1,77	311	179	328, 294
3	Kwas protokatechowy	2,14	153	109	260, 294
4	Kwas <i>p</i> -kumarowy	2,95	163	119	308
5	Kwas kumarowo-winowy	2,39	295	163	310
6	Kwas ferulowy	2,59	193	134	323, 293

* Rt – czas retencji, retention time

Zidentyfikowane fenolokwasy należały do 2 grup: kwasów hydroksybenzoesowych (2 pochodne) oraz hydroksycynamonowych (4 pochodne). Do pierwszej grupy zaliczały się kwasy: galusowy oraz protokatechowy, które zawierały deprotonowane [M-H]⁻ piki pseudomolekularne o stosunku m/z odpowiednio: 159 oraz 153. W trakcie fragmentacji jony te rozpadały się, tworząc jony potomne pomniejszone o 42 jednostki amu, co odpowiadało utracie fragmentu CO₂ pochodzącego od grupy karboksylowej; jony te wynosiły odpowiednio 125 i 109. Wśród kwasów hydroksycynamonowych zidentyfikowano 2 pochodne kwasu winowego: kwas kawowo-winowy oraz kumarowo-winowy. Stosunek m/z ich pików pseudomolekularnych wynosił odpowiednio 311 i 295. W trakcie fragmentacji doszło do odszczepienia reszty kwasu winowego [M-132], z uwolnieniem reszt kwasów kawowego (m/z 179) i *p*-kumarowego (m/z 163). Pozostałe dwa kwasy zidentyfikowano jako *p*-kumarowy i ferulowy. Ich jony macierzyste wynosiły odpowiednio 163 i 193, a w widmie jonów fragmentacyjnych zaobserwowano, podobnie jak w przypadku kwasów hydroksybenzoesowych, sygnały odpowiadające utracie reszty kwasu karboksylowego [M-44]. Podobnie jak w przypadku poprzedniej grupy związków polifenolowych identyfikacja kwa-

sów fenolowych została oparta na porównaniu uzyskanych danych z informacjami dostępnymi w literaturze, natomiast zaproponowana kolejność elucji wynikała z porównania czasów retencji opisanych pochodnych z dostępnymi substancjami wzorcowymi.



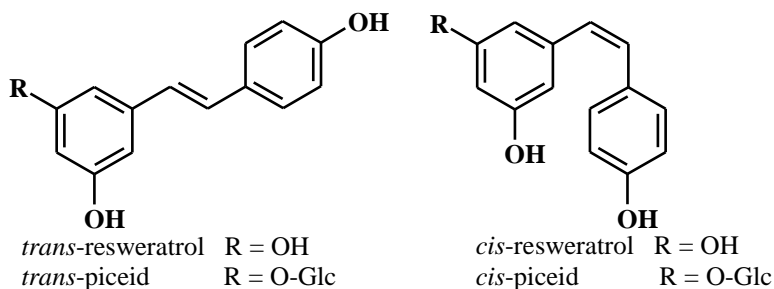
Nr	Związek Compound	R1	R2
Kwasy cynamonowe Cinnamic acid			
1	Kwas kawowo-winowy	OH	W
2	Kwas <i>p</i> -kumarowy	H	H
3	Kwas kumarowo-winowy	H	W
4	Kwas ferulowy	OCH ₃	H
Kwasy hydroksybenzoesowe Hydroxybenzoic acid			
5	Kwas galusowy	OH	–
6	Kwas protokatechowy	H	–

Rysunek 8. Struktura chemiczna zidentyfikowanych fenolokwasów
Figure 8. Structure of identified phenolic acids

4.1.5. Stilbeny

Identyfikacja związków należących do tej grupy była utrudniona ze względu na ich niewielkie stężenie w badanych ekstraktach, co powodowało interferencję z innymi składnikami próbki. Analiza całkowitego prądu jonowego oraz zastosowanie eksperymentu SIR nie przyniosły zadowalających rezultatów. W celu podniesienia czułości i selektywności analizy zastosowano eksperyment MRM (*multiple reaction monitoring* – monitorowanie reakcji wielokrotnych), w którym badany związek rozpoznawany jest na podstawie reakcji fragmentacji. Tryb MRM jest charakterystyczny dla potrójnego kwadrupola. W pierwszym kwadrupolu w sposób ciągły wybierane są jony o zdefiniowanej

wartości m/z . W komorze zderzeń następuje wysokoenergetyczna i wydajna fragmentacja, a drugi analizator kwadropolowy przepuszcza tylko fragmenty o zdefiniowanej wartości m/z . W ten sposób badany związek rozpoznawany jest na podstawie reakcji fragmentacji. Opisany eksperyment zastosowano dla dwóch związków: *trans*-resweratrolu oraz jego glikozydowej pochodnej 3-*O*-glukozydu-*trans*-resweratrolu, znanego pod nazwą zwyczajową jako *trans*-piceid. Aby stworzyć poprawną metodę MRM, należało wyznaczyć stosunek masy do ładunku dla wybranych substancji, a następnie poddać je reakcji fragmentacji, wybierając te fragmenty, które wykazują najwyższy stosunek sygnału do szumu (S/N). W tabeli 11 przedstawiono parametry zastosowanej metody MRM dla substancji wzorcowych. W trakcie analizy win dzięki tej metodzie udało się również oznaczyć jakościowo i ilościowo izomeryczne formy *cis*-. Tego typu metody były również stosowane przez innych autorów (Mark i in. 2005; Buiarelli i in. 2007; Vlase i in. 2009).

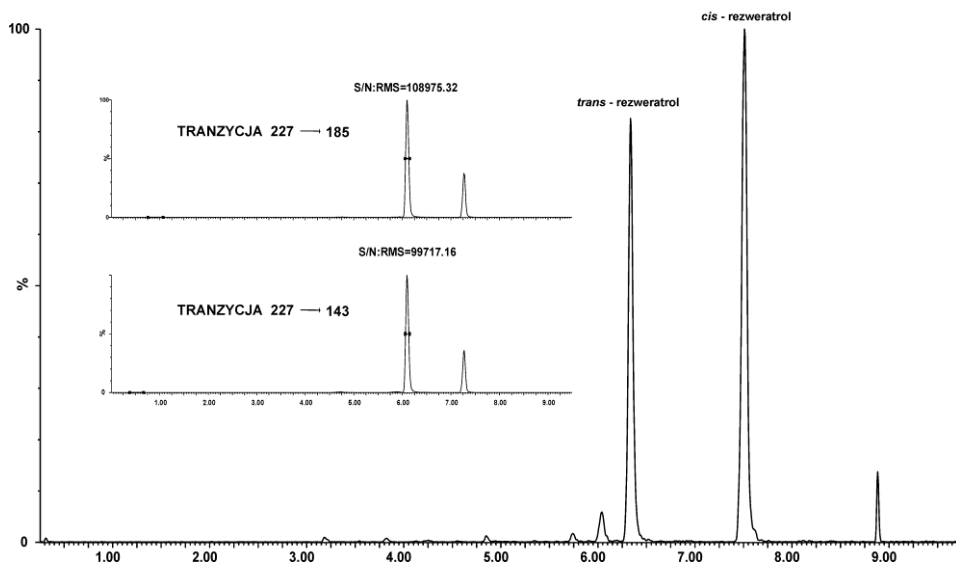


Rysunek 9. Struktura chemiczna zidentyfikowanych stilbenów
Figure 9. Structure of identified stilbenes

Tabela 11. Parametry metody MRM dla stilbenów
Table 11. Parameters of MRM methods for stilbenes

Lp.	Związek Compound	Rt* (min)	[M-H] ⁻	Przejście w analizie jakościowej (m/z) Qualitative transition	Przejście w analizie ilościowej (m/z) Quantitative transition
1	<i>trans</i> -resweratrol	6,09	227,15	227,11 → 143,04	227,11 → 185,11
2	<i>cis</i> -resweratrol	7,27	227,15	227,11 → 185,11	227,11 → 143,04
3	<i>trans</i> -piceid	4,62	389,29	389,20 → 185,11	389,20 → 227,11
4	<i>cis</i> -piceid	5,80	389,27	389,20 → 185,11	389,20 → 227,11

* Rt – czas retencji, retention time



Rysunek 10. Tranzycje MRM w metodzie oznaczania resweratrolu
 Figure 10. MRM transitions of resveratrol

4.2. Analiza profilu związków polifenolowych w winogronach

Profil związków antocyjanowych analizowany był zarówno w skórce, jak i pozostałym, po obraniu owoców, miąższu. Analizy ilościowe przeprowadzono w oparciu o eksperyment SIR, gdzie monitorowano wybrane jony o znanych widmach, które wcześniej zostały zidentyfikowane. Obliczenia wykonano na podstawie krzywych kalibracyjnych zależności pola powierzchni piku od stężenia substancji wprowadzanej na kolumnę. Krzywe kalibracyjne sporządzono dla dostępnych substancji wzorcowych; przy ich braku wykorzystano krzywe dla substancji o podobnej strukturze chemicznej.

4.2.1. Profil związków antocyjanowych

W tabelach 12 i 13 przedstawiono zawartość związków antocyjanowych w skórce i miąższu badanych odmian czerwonych winogron. Całkowita zawartość antocyjanów w skórce wahała się w przedziale od 246,93 mg/kg śm. dla odmiany Cabernet Cortis do 2491,48 mg/kg śm. dla odmiany Regent, co stanowiło dość znaczącą, blisko dziesięciokrotną rozbieżność. Średnia, całkowita zawartość analizowanych związków dla wszystkich odmian wynosiła 1387,52 mg/kg śm. Największą zawartością związków antocyjanowych charakteryzowa-

ły się odmiany Regent i Rondo oraz w dalszej kolejności odmiany: Svenson Red, Frontenac, Marquette i Cabernet Dorsa, z całkowitą zawartością znacznie ponad średnią. Najmniejsza zawartość antocyjanów, poniżej średniej, występowała w odmianach: Cabernet Cortis oraz Leon Millot, Marechal Foch, Aulwood, Heridan. Pozostałe odmiany charakteryzowały się zawartością antocyjanów na poziomie średniej. Znacznie większe rozbieżności w zawartości związków antocyjanowych występowały w miąższu badanych odmian. Całkowita zawartość wahała się w znaczącym zakresie wynoszącym od 0,43 do 71,93 mg/kg śm. Najmniejszą zawartością charakteryzowały się odmiany Svenson Red oraz podobnie jak w skórce, odmiana Cabernet Cortis, największa zawartość występowała natomiast w odmianie Wiszniowyj Rannij – 71,93 mg/kg śm. Średnia zawartość antocyjanów w miąższu wynosiła 17,97 mg/kg śm. Do odmian, które cechowała wyższa zawartość od średniej, należały: Frontenac, Marquette i Sabrevoice. Odmiany DeChaunac, Heridan, Leon Millot oraz Marechal Foch odznaczały się zawartością antocyjanów na zbliżonym poziomie odpowiadającym wartości średniej. W pozostałych odmianach ilość antocyjanów była poniżej średniej. Na uwagę zasługuje fakt, iż odmiany Regent i Rondo, które w skórce zawierały najwięcej barwników antocyjanowych, pod względem zawartości w miąższu należą do odmian, które zawierają ich najmniej.

Analizując poszczególne pochodne wchodzące w skład profilu antocyjanowego, na który składa się 19 pochodnych, tylko 4 związki stanowią jego zdecydowaną większość. Do związków tych należą związki: nr **2** – 3-*O*-glukozyd delfinidyny, nr **4** – 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny, nr **6** – 3-*O*-glukozyd petunidyny i nr **8** – 3-*O*-glukozyd malwidyny. Związki te łącznie stanowią ponad 60% całkowitej zawartości antocyjanów w owocach winogron. Dominującym związkiem jest 3-*O*-glukozyd malwidyny, którego zawartość w skórce w poszczególnych odmianach waha się w granicach od 43,66 do 715,44 mg/kg śm. odpowiednio dla odmian Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa. Jego średnia zawartość wynosi 303,13 mg/kg śm., a sumaryczny udział stanowi ponad 21% całkowitej zawartości antocyjanów w skórce. Odmiany Cabernet Dorsa oraz Sabrevoice odbiegają wyraźnie od zarysowanej tendencji; w pierwszej odmianie 3-*O*-glukozyd malwidyny jest związkiem zdecydowanie dominującym, którego udział stanowi blisko połowę całkowitej zawartości antocyjanów. W drugiej odmianie natomiast jest związkiem, który wynosi zaledwie 4% sumarycznej zawartości tych barwników, a dominującym związkiem tutaj jest 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny. Podobna tendencja występuje jeszcze w odmianach Heridan i DeChaunac. Również w odmianach Acolon i Wiszniowyj Rannij udział 3-*O*-glukozydu malwidyny jest zdecydowanie większy (ok. 35%). Udział kolejnego co do liczebności związku – 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny – w sumarycznej zawartości barwników antocyjanowych wynosił średnio 16%.

Tabela 12. Średnia zawartość antocyjanów w skórcie odmian o czerwonych owocach w mg/kg śm.
Table 12. Mean value of anthocyanins in skin of red grapes in mg/kg fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties															
	Ac*	AI	CC	CD	DC	Fr	Hr	LM	MF	Mq	Rg	Rd	Sb	SR	WR	
1	0,01	1,40 ⁱ	2,05 ^h	0,08 ⁱ	70,19 ^a	18,12 ^a	40,95 ^b	7,33 ^e	32,40 ^f	20,06 ^d	16,26 ^f	16,69 ^f	47,49 ^b	18,31 ^e	0,01	
2	159,71 ^d	46,55 ^b	29,50 ⁱ	130,35 ^f	234,07 ^c	426,60 ^a	160,10 ^d	124,11 ^{fg}	134,75 ^f	332,93 ^b	321,97 ^b	234,43 ^c	183,56 ^d	251,83 ^c	155,14 ^e	
3	0,55 ⁱ	46,18 ^f	7,87 ^h	133,74 ^c	44,83 ^f	309,89 ^a	93,90 ^c	56,24 ^e	73,17 ^d	41,54 ^f	81,59 ^c	177,80 ^b	30,67 ^g	173,79 ^b	0,07	
4	0,45 ⁱ	88,67 ^g	63,72 ^h	1,09 ^j	383,49 ^b	267,83 ^d	166,24 ^f	166,37 ^f	225,10 ^e	289,75 ^c	302,46 ^c	477,88 ^a	247,74 ^d	373,83 ^b	0,25 ^k	
5	90,51 ^b	21,90 ^f	5,07 ⁱ	0,20 ^j	34,43 ^c	18,96 ^g	68,13 ^c	12,70 ^h	32,36 ^e	54,66 ^d	117,56 ^a	61,37 ^e	27,12 ^f	50,70 ^d	59,79 ^{cd}	
6	153,06 ^e	49,30 ⁱ	19,60 ^j	92,56 ^g	161,35 ^{de}	310,68 ^b	93,78 ^e	73,04 ^h	69,73 ^h	279,31 ^b	287,10 ^b	169,95 ^d	105,08 ^f	173,59 ^c	166,15 ^d	
7	349,42 ^a	70,38 ^e	4,61 ^k	216,38 ^b	6,76 ⁱ	26,86 ^g	25,69 ^g	8,59 ^j	11,18 ^j	36,17 ^h	170,08 ^c	104,12 ^d	4,22 ^k	41,14 ^b	54,22 ^f	
8	450,55 ^c	182,16 ^c	43,66 ⁱ	715,44 ^a	96,62 ^b	449,65 ^c	85,62 ^h	161,19 ^g	136,18 ^f	368,09 ^d	543,67 ^b	457,08 ^c	50,91 ⁱ	392,03 ^{cd}	414,11 ^c	
9	6,33 ^e	2,37 ^g	7,97 ^e	9,91 ^d	5,88 ^f	14,12 ^c	9,48 ^d	4,99 ^f	5,32 ^f	12,37 ^{cd}	19,90 ^b	13,66 ^c	14,04 ^c	26,91 ^a	5,37 ^f	
10	2,07 ^g	2,25 ^g	4,71 ^f	22,48 ^d	0,82 ^h	56,98 ^{ab}	4,78 ^f	20,98 ^d	9,38 ^e	61,04 ^a	18,46 ^d	43,49 ^c	49,97 ^b	59,72 ^a	11,97 ^e	
11	0,02	4,25 ^f	1,75 ^g	0,18 ^h	6,82 ^e	15,68 ^c	9,43 ^d	7,14 ^e	5,62 ^f	13,75 ^{cd}	19,16 ^b	17,16 ^b	135,68 ^a	11,82 ^d	0,05	
12	8,84 ⁱ	24,64 ^f	6,52 ^g	12,78 ^g	12,24 ^g	34,83 ^c	31,82 ^c	14,11 ^h	9,14 ⁱ	53,73 ^e	105,43 ^b	91,25 ^b	192,90 ^b	46,76 ^d	37,70 ^{ab}	
13	16,96 ⁱ	11,36 ^j	12,57 ^g	175,87 ^a	0,65 ⁱ	85,42 ^{ab}	5,91 ^k	32,10 ^g	14,71 ⁱ	79,67 ^e	42,69 ^f	106,09 ^c	23,81 ^h	161,80 ^b	35,68 ^g	
14	0,12 ^h	18,03 ^{cd}	10,01 ^e	0,25 ^h	4,11 ^f	26,26 ^c	21,52 ^c	12,55 ^c	8,07 ^e	2,66 ^g	18,63 ^{cd}	5,104 ^b	104,90 ^a	49,77 ^b	0,10 ^h	
15	0,04	29,77 ^e	0,87 ^h	0,08 ⁱ	0,23 ^h	1,37 ^f	3,17 ^e	5,59 ^d	5,99 ^d	22,10 ^e	66,97 ^a	42,10 ^b	5,98 ^d	5,22 ^d	0,06	
16	5,01 ^f	18,57 ^e	1,66 ^e	4,97 ^f	1,82 ^g	4,41 ^f	8,14 ^e	1,98 ^g	0,96 ^h	10,03 ^{de}	30,32 ^a	25,95 ^b	27,18 ^{ab}	14,03 ^d	17,62 ^c	
17	12,23 ^f	31,28 ^d	6,24 ^b	13,83 ^f	5,85 ^f	13,21 ^f	18,11 ^e	10,23 ^g	20,16 ^e	44,85 ^c	95,84 ^b	73,99 ^b	76,92 ^b	44,66 ^c	41,43 ^c	
18	33,78 ^c	59,80 ^a	2,25 ^g	40,86 ^b	0,27 ⁱ	1,34 ^h	5,03 ^f	0,71 ⁱ	0,44 ⁱ	5,22 ^f	39,39 ^b	38,77 ^{bc}	2,54 ^g	15,00 ^d	11,75 ^e	
19	34,92 ^g	97,43 ^c	16,31 ⁱ	131,38 ^c	3,02 ^k	23,93 ^b	23,88 ^h	14,18 ⁱ	10,29 ^e	50,06 ^f	194,03 ^a	177,08 ^b	29,66 ^{ab}	109,27 ^d	96,69 ^e	
Suma	1324,6^d	806,30^g	246,93ⁱ	1702,4^c	1073,4^c	2106,1^b	875,68^f	734,13^h	804,95^g	1778,0^e	2491,4^a	2379,9^a	1360,3^d	2020,2^b	1108,1^e	
Total																

* Ac – Acolon, AI – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Rondo, Rd – Sabrevoise, Sb – Svenson Red, SR – Wiszniowyj Rannij

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

Ponadprzeciętną jego ilość zawierały takie odmiany jak: wspomniany już DeChaunac (35%), Marechal Foch (27%), Cabernet Cortis (25%), Leon Millot (22%) i Rondo (20%). Zauważalna jest tutaj pewna prawidłowość, mianowicie w odmianach, w których stwierdzono ponadprzeciętną jego zawartość, pełni on rolę dominującej pochodnej, natomiast ilość 3-*O*-glukozydu malwidyny spada w tych odmianach poniżej wartości średniej. W przypadku pozostałych związków: 3-*O*-glukozydu delfinidyny i 3-*O*-glukozydu petunidyny nie zaobserwowano podobnych prawidłowości, ich udział w sumarycznej zawartości barwników antocyjanowych stanowi odpowiednio 14% i 10%. Ich ponadprzeciętna zawartość charakterystyczna jest dla takich odmian, jak DeChaunac i Frontenac. Zawartość pozostałych poszczególnych pochodnych plasuje się na poziomie maksymalnie 5% całkowitej zawartości, a niektórych, szczególnie form acylowanych, poniżej 1%. Analizując stosunek monoglukozydów do diglukozydów, można zauważyć dość wyraźną dysproporcję w przypadku trzech odmian: Acolon, Cabernet Dorsa oraz Wiszniowyj Rannij. W odmianach tych udział diglukozydów w sumarycznej zawartości barwników antocyjanowych jest marginalny, stanowiący zaledwie ułamek procenta w odmianach Acolon oraz Wiszniowyj Rannij, natomiast w odmianie Cabernet Dorsa wynosi zaledwie 8%. W większości pozostałych odmian udział monoglukozydów sięga średnio 70%, natomiast w przypadku trzech odmian: DeChaunac, Marechal Foch oraz Sabrevoice stosunek monoglukozydów do diglukozydów jest zbliżony i wynosi prawie 1:1. Podobna tendencja zarysowuje się, gdy porównamy stosunek związków nieacylowanych do ich pochodnych zawierających grupę acylową. Odmiany, w których stwierdzono znikomy udział pochodnych z dwoma cząsteczkami glukozy, zawierały również stosunkowo mały odsetek pochodnych acylowanych – poniżej 10%. Średnia zawartość pochodnych nieacylowanych w przypadku pozostałych odmian wynosiła od 70 do 80%, tylko w przypadku jednej odmiany Sabrevoice stosunek ten był bliski 1 : 1. Analizując również udział poszczególnych rodzajów aglikonów, zauważyć można, że zdecydowaną większość stanowią pochodne malwidyny – średnio 47%, natomiast w przypadku odmian Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa ich udział wynosi nawet 60%, najmniejszy udział pochodnych tego aglikonu wykazywała odmiana Sabrevoice (ok. 30%). Pochodne delfinidyny, peonidyny oraz petunidyny występowały na porównywalnym poziomie, a ich udział wynosił odpowiednio: 17, 13 i 15%. Większy udział tych aglikonów występował w odmianach, gdzie znacząco mniej było pochodnych malwidyny: Acolon, Heridan i Sabrevoice. Najmniejszy udział stanowiły pochodne cyjanidyny – średnio około 6%. W odmianach DeChaunac i Heridan ich udział był zdecydowanie większy w porównaniu do pozostałych odmian, powyżej 10%. Najmniejszy udział pochodnych cyjanidyny charakteryzował odmianę Cabernet Dorsa, gdzie ich zawartość nie przekraczała jednego procenta, również odmiany Frontenac i Leon Millot charakteryzowały się ich mniejszą zawartością w stosunku do reszty odmian.

Tabela 13. Średnia zawartość antocyjanów w miąższu odmian o czerwonych owocach w mg/kg śm.
Table 13. Mean value of anthocyanins in pulp of red grapes mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties															Suma Total
	Ac ^a	Al	CC	CD	DC	Fr	Hr	LM	MF	Mq	Rg	Rd	Sb	SR	WR	
1	–	0,01 ^g	0,01 ^g	0,01 ^g	1,95 ^a	1,17 ^b	0,82 ^c	0,21 ^e	0,32 ^d	0,29 ^d	0,06 ^f	0,04 ^f	1,56 ^c	0,01 ^g	–	
2	0,22 ^f	0,21 ^f	0,06 ^h	0,11 ^g	2,05 ^c	6,23 ^a	2,00 ^c	1,21 ^d	1,45 ^d	5,00 ^{ab}	0,40 ^e	0,09 ^h	2,02 ^c	0,11 ^e	4,68 ^b	
3	0,03 ⁱ	0,49 ^f	0,06 ^h	0,20 ^g	1,62 ^c	5,71 ^a	2,83 ^b	1,20 ^d	1,41 ^{cd}	1,04 ^e	0,87 ^e	0,85 ^e	0,96 ^e	0,04 ^h	0,02 ⁱ	
4	0,06 ⁱ	0,46 ^g	0,29 ^h	0,06 ⁱ	4,19 ^d	10,58 ^a	4,35 ^{cd}	4,70 ^c	5,33 ^b	3,74 ^e	1,15 ^f	1,86 ^e	4,68 ^c	0,06 ⁱ	0,07 ^j	
5	0,33 ^g	0,37 ^g	0,02 ^h	0,02 ^h	2,54 ^a	1,30 ^c	1,17 ^d	0,54 ^f	0,85 ^e	2,72 ^b	0,77 ^e	0,47 ^f	1,20 ^{cd}	0,01 ^h	14,41 ^a	
6	0,38 ^e	0,30 ^e	0,04 ^g	0,19 ^f	1,65 ^c	5,70 ^{ab}	1,47 ^e	1,56 ^e	1,55 ^e	4,52 ^b	0,61 ^d	0,20 ^f	1,66 ^c	0,03 ^g	6,09 ^a	
7	3,13 ^b	1,69 ^d	0,03 ⁱ	1,81 ^c	0,43 ^h	0,53 ^g	0,97 ^e	0,39 ^h	0,67 ^{fg}	1,83 ^c	1,64 ^d	0,71 ^f	0,19 ^h	0,01 ⁱ	11,65 ^a	
8	2,96 ^e	1,61 ^g	0,13 ^j	2,44 ^{ef}	1,27 ^h	6,60 ^d	1,92 ^f	3,91 ^e	3,63 ^c	8,26 ^b	2,17 ^f	1,30 ^g	0,86 ^c	0,04 ^k	21,87 ^a	
9	0,02 ^e	0,02 ^e	0,02 ^e	0,02 ^e	0,05 ^d	0,17 ^b	0,04 ^f	0,05 ^d	0,06 ^d	0,13 ^b	0,02 ^a	0,01 ^e	0,09 ^c	0,01 ^e	0,23 ^a	
10	0,01 ^f	0,01 ^f	0,01 ^f	0,02 ^f	0,01 ^f	0,07 ^b	0,03 ^f	0,26 ^d	0,14 ^e	0,95 ^a	0,02 ^f	0,03 ^f	0,60 ^b	0,01 ^f	0,37 ^c	
11	–	0,01 ^d	0,01 ^d	–	0,02 ^d	0,08 ^b	0,06 ^e	0,06 ^e	0,06 ^e	0,07 ^b	0,01 ^d	0,01 ^d	1,85 ^a	–	0,00	
12	0,02 ⁱ	0,06 ^f	0,01 ⁱ	0,02 ^h	0,06 ^f	0,22 ^d	0,15 ^e	0,13 ^e	0,12 ^e	0,61 ^c	0,07 ^f	0,04 ^g	2,04 ^b	0,01 ⁱ	0,80 ^b	
13	0,09 ^d	0,08 ^d	0,04 ^f	0,35 ^c	0,03 ^f	0,10 ^d	0,07 ^e	0,68 ^b	0,33 ^c	1,97 ^a	0,11 ^d	0,21 ^c	0,34 ^c	0,03 ^f	1,70 ^a	
14	0,02 ^f	0,07 ^d	0,04 ^e	0,02 ^f	0,05 ^e	0,14 ^b	0,28 ^b	0,24 ^b	0,20 ^b	0,08 ^d	0,07 ^d	0,11 ^c	1,52 ^a	0,02 ^f	0,02 ^f	
15	0,01 ^e	0,06 ^d	0,01 ^e	0,01 ^e	0,01 ^e	0,01 ^e	0,12 ^b	0,11 ^b	0,11 ^b	0,19 ^a	0,08 ^c	0,09 ^c	0,15 ^a	–	–	
16	0,01 ^h	0,06 ^e	0,00	0,01 ^h	0,05 ^f	0,06 ^e	0,10 ^d	0,05 ^f	0,03 ^g	0,39 ^e	0,07 ^e	0,05 ^f	0,85 ^b	–	2,45 ^a	
17	0,02 ^h	0,07 ^f	0,02 ^h	0,03 ^h	0,05 ^g	0,21 ^d	0,13 ^e	0,13 ^e	0,11 ^c	0,54 ^b	0,09 ^e	0,07 ^f	1,03 ^b	0,01 ⁱ	1,16 ^b	
18	0,17 ^d	0,34 ^b	0,01 ^h	0,20 ^e	0,02 ^g	0,02 ^g	0,14 ^e	0,05 ^f	0,03 ^g	0,34 ^b	0,21 ^c	0,18 ^{cd}	0,11 ^d	–	1,91 ^a	
19	0,20 ^e	0,38 ^c	0,06 ^g	0,30 ^{cd}	0,08 ^f	0,22 ^e	0,28 ^e	0,33 ^d	0,26 ^e	1,10 ^b	0,47 ^c	0,39 ^c	0,44 ^c	0,03 ^h	4,49 ^a	
Suma Total	7,67^f	6,30^g	0,86^h	5,81^g	16,15^e	39,12^b	16,93^e	15,82^e	16,67^e	33,76^e	8,90^f	6,70^f	22,13^d	0,43^h	71,93^a	

* Ac – Acolon, Al – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij

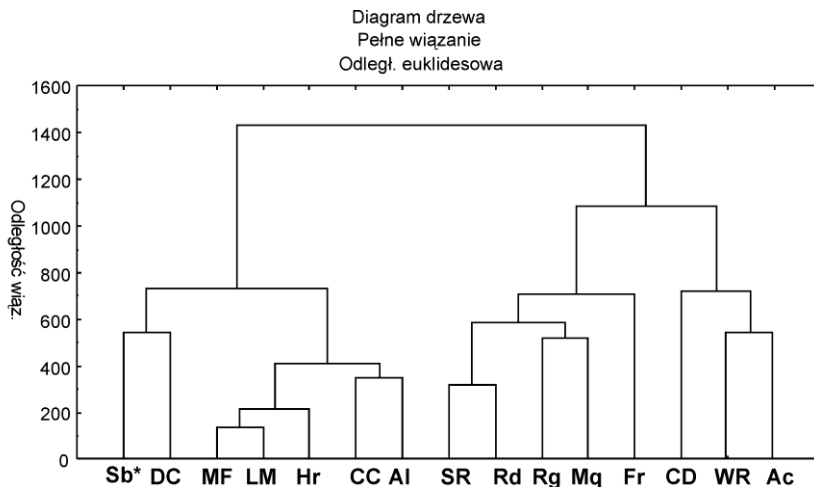
a, b, c... – te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... – the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Podobne zależności w profilu barwników antocyjanowych występowały w miąższu owoców badanych odmian, niemniej jednak zaobserwowano pewne różnice. Przede wszystkim stwierdzono mniejszy udział związków z dołączoną grupą acylową (16%), jak również większy udział diglukozydów (31%). Również ilość poszczególnych grup aglikonów w sumarycznej zawartości antocyjanów przedstawiała się nieco inaczej. Stwierdzono mniejszy udział pochodnych delfinidyny i petunidyny, który był wyrównany dla obu grup i wynosił 10% całkowitej zawartości antocyjanów. Zwiększony był natomiast udział pochodnych peonidyny i cyjanidyny. Zawartość tych ostatnich była dwukrotnie większa w porównaniu do skórki. Analizując poszczególne związki, nie stwierdzono dużych rozbieżności w stosunku do skórki. Udział procentowy pojedynczych pochodnych był prawie identyczny jak w skórce, wyjątek stanowił tu 3-*O*-glukozyd delfinidyny, którego udział procentowy był mniejszy (ok. 9%), niemniej jednak plasował się on w grupie związków dominujących.

Zdecydowana większość analizowanych odmian winogron to hybrydy międzygatunkowe powstałe ze skrzyżowania różnych gatunków *Vitis spp.* Tylko dwie odmiany, Acolon i Cabernet Dorsa, to gatunki *Vitis vinifera*, na co wskazuje nie tylko analiza drzewa filogenetycznego, ale również profilu antocyjanowego. W tych odmianach zgodnie z kryterium chemotaksonomicznym praktycznie nie występują dwuglukozydy, a udział monoglukozydów wynosi odpowiednio 99% i 92% sumy antocyjanów. Zawartość monoglukozydów (99,95%) w odmianie Wiszniowyj Rannij również wskazuje, iż odmian ta powinna wywodzić się od gatunku *Vitis vinifera*, jednak analiza filogenetyczna wskazuje, iż jest to mieszańiec złożony. Analiza danych literaturowych oraz innych odmian hybrydowych wyklucza ten fakt. Brak jest bezpośrednich danych, w których można by było porównać dane dla tej odmiany i wysnuć jednoznaczny wniosek. Kolejnym kryterium chemotaksonomicznym jest acylacja, która w analizowanych odmianach ograniczona jest do występowania kwasu octowego i *p*-kumarowego; nie stwierdzono innych pochodnych. Zawartość pochodnych acylowanych jest tutaj zróżnicowana i podobnie jak w przypadku udziału diglukozydów, mniejsza w odmianach *Vitis vinifera*. Odmiana Wiszniowyj Rannij i w tym przypadku odbiega od przyjętego kryterium, odsetek acylowanych pochodnych jest tu większy, na poziomie charakterystycznym dla mieszańców złożonych. Profil związków antocyjanowych w analizowanych odmianach znajduje potwierdzenie w innych doniesieniach literaturowych, które wskazują, iż związkami dominującymi są pochodne malwidyny, które mogą stanowić nawet 90%, jak to ma miejsce w przypadku odmiany Grenache (Ky i in. 2014), niemniej jednak udział tych pochodnych stanowi średnio 50%. Stężenie antocyjanów zależy od wielu czynników; do najczęściej wymienianych należą: odmiana, warunki klimatyczno-glebowe, region, powierzchnia uprawy i wielkość plonu (Vivas i in. 2001, Gonzales i in. 1990). Mimo ogromnej ilości danych literaturowych bezpośrednie

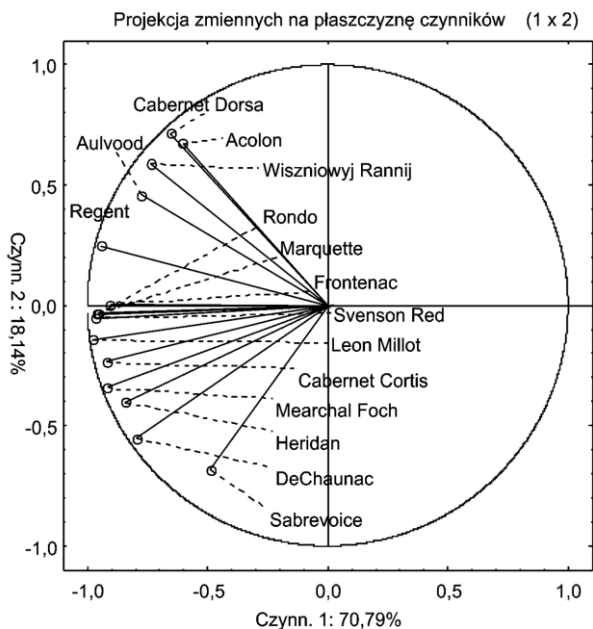
porównanie zawartości antocyjanów w analizowanych odmianach jest trudne z kilku przyczyn. Po pierwsze, brak jest dostatecznych opracowań dotyczących tej części Europy, a w szczególności naszego kraju, a nieliczne dostępne opracowania ograniczają się do prostych oznaczeń. Profil polifenolowy oznaczany jest metodami spektrofotometrycznymi i prezentowany jako całkowita zawartość polifenoli (Leja i in. 2011; Gąstoł i in. 2011; Dobrowolska-Iwanek i in. 2014). Po drugie, dane, które dotyczą analizowanych odmian, w niniejszym opracowaniu są fragmentaryczne, a te, jakie można znaleźć, dotyczą owoców uprawianych w cieplejszych rejonach, co czyni trudnym bezpośrednie porównanie ze względu na decydujący czynnik, jakim są warunki klimatyczno-glebowe. Z analizy dostępnych danych dotyczących ok. 1000 czerwonych odmian winogron uprawianych w różnych częściach świata wynika, że całkowita zawartość antocyjanów w skórce jest bardzo zróżnicowana i mieści się w bardzo rozpiętym zakresie od 25,58 do 6279,37 mg/kg śm. Autorzy w tym przypadku są zgodni, że czynnikiem decydującym o tak dużym zróżnicowaniu stężenia antocyjanów jest zmienność odmianowa. Odmiany będące mieszańcami złożonymi zawierają więcej antocyjanów niż odmiany wywodzące się od mieszańców klasycznych (Liang i in. 2008; Liang i in. 2011; Mattivi i in. 2006; Zhu i in. 2012; Yang i in. 2009; Xu i in. 2010; De Nisco i in. 2013). Rejon uprawy też nie pozostaje bez wpływu na stężenie antocyjanów; w rejonach o wyższej temperaturze i większym nasłonecznieniu stężenie antocyjanów jest z reguły wyższe (Montea-legre i in. 2006). Jak już wspomniano, dane dotyczące analizowanych odmian praktycznie nie występują w literaturze, stąd trudno wnioskować, jaki wpływ na zawartość antocyjanów mają warunki panujące w tej części kraju. W porównaniu do innych odmian stężenie antocyjanów w odmianach uprawianych w naszym regionie, pomijając odmianę Cabernet Cortis, należy do średniego i wysokiego poziomu, a w niektórych przypadkach jest wyższe od występującego w cieplejszych rejonach. Chłodniejszy klimat z większą ilością opadów i większą wilgotnością powietrza powoduje wzmożoną podatność na infekcje patogenów, zmuszając roślinę do zwiększenia syntezy metabolitów wtórnych pełniących funkcje obronne. Prawdopodobnie dlatego też obserwuje się tutaj zwiększone stężenie związków polifenolowych. W pracach Ehrhardt (2014) dokonano porównania zawartości związków polifenolowych w odmianach o podwyższonej odporności na infekcje grzybowe, do których zaliczono odmiany Regent i Cabernet Cortis. Odmiany te uprawiano w Niemczech i we Włoszech; z badań wynika, iż większe stężenie polifenoli, w tym antocyjanów, występowało w owocach uprawianych we Włoszech, a więc w klimacie cieplejszym. Wyniki tamtych badań znajdują częściowo odzwierciedlenie w niniejszym opracowaniu. Stężenie antocyjanów w odmianie Cabernet Cortis było na porównywalnym poziomie, natomiast w odmianie Regent różniło się znacząco. Zarówno w Niemczech, jak i we Włoszech było dwukrotnie mniejsze od stężenia w owocach uprawianych w naszym rejonie.



Rysunek 11. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla antocyjanów w odmianach o czerwonych owocach

Figure 11. Hierarchical cluster analysis applied to anthocyanins of red grapes

* Ac – Acolon, AI. – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij



Rysunek 12. Analiza głównych składowych, wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych
Figure 12. Principal component analysis with distribution of analyzed varieties of red grapes

W wyniku przeprowadzonej analizy skupień dla antocyjanów (rysunek 11) otrzymano dendrogram grupujący analizowane odmiany w 4 względnie jednorodne klasy. Podstawą grupowania jest podobieństwo pomiędzy odmianami. Klaster pierwszy łączy 2 odmiany: Sabrevoice i DeChaunac, w odmianach tych zaobserwowano 2 charakterystyczne cechy. Po pierwsze, udział diglukozydów jest w tych odmianach najwyższy, wynoszący ponad 40% sumarycznej zawartości antocyjanów, po drugie, udział pochodnych peonidyny jest tutaj najmniejszy, poniżej 5%. Klaster drugi skupia 5 odmian: Marechal Foch, Leon Millot, Heridan, Cabernet Cortis oraz Alwood. Cechą wspólną tych odmian jest niskie stężenie antocyjanów wynoszące poniżej 1g/kg śm., oraz w mniejszym stopniu o powstaniu tego klastra decydowała zawartość acylowanych pochodnych, których udział z wyjątkiem odmiany Cabernet Cortis wynosił poniżej 20%. Odmiany Svenson Red, Rondo, Regent Marquette i Frontenac, charakteryzujące się najwyższym stężeniem antocyjanów, tworzą klaster trzeci. W mniejszym stopniu ich wspólną cechą jest również wyższa zawartość acylowanych pochodnych, w porównaniu do poprzedniej grupy, wynosząca około 30%. Ostatni klaster tworzą 3 odmiany: Cabernet Dorsa, Wiszniowyj Rannij oraz Acolon. W tym przypadku na wyodrębnienie tej grupy decydujący wpływ miał śladowy udział diglukozydów, charakterystyczny dla odmian wywodzących się od gatunku *V. vinifera*. Analiza głównych składowych wyjaśnia 88,93% wariancji międzygrupowych, przy czym pierwszy czynnik wyjaśnia 70,79% zmienności wariancyjnej, a drugi 18,14 wariancji. Większy rozdział następuje pomiędzy czynnikiem pierwszym. Drugi czynnik zależy od wielkości udziału monoglukozydów w sumarycznej zawartości antocyjanów.

4.2.2. Profil flawonoli

W tabelach 14, 15, 16 i 17 przedstawiono zawartość pochodnych flawonolowych w skórce i miąższu białych i czerwonych odmian badanych owoców winogron. Całkowita zawartość związków flawonolowych w odmianach białych mieściła się w przedziale 43,05–74,04 mg/kg śm., natomiast ich średnia zawartość dla wszystkich odmian wynosiła 53,76 mg/kg śm. Największą zawartością flawonoli charakteryzowała się odmiana Ortega, a najmniejszą odmiana Muscaris. Do odmian charakteryzujących się wysoką zawartością pochodnych flawonolowych należą również: Auxerrois (65,39 mg/kg śm.) i Siegerrebe (63,31 mg/kg śm.). Obok wspomnianej już Ortegi również odmiany: Seyval Blanc i Sibera charakteryzowały się obniżoną zawartością flawonoli w stosunku do wartości średniej – ok. 15%, w mniejszym stopniu odmiany: Cristal, Bianca i Hiberna. W pozostałych odmianach całkowita zawartość związków flawonolowych wykazywała niewielkie odchylenia od wartości średniej.

Tabela 14. Średnia zawartość flawonoli w skórcie odmian o białych owocach mg/kg śm.
Table 14. Mean value of flavonols in skin of white grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties												SI					
	Ad ^a	Ar	Ax	Bc	Gr	Hb	Jh	Jt	Kg	Kr	Mr	Mt		Ot	PS	Sv	Sb	Sr
1	0,08 ^b	0,33 ^c	0,10 ^g	0,17 ^d	0,07 ^h	0,12 ^f	0,09 ^g	0,16 ^c	0,02 ⁱ	0,10 ^g	0,03 ^j	0,66 ^a	0,18 ^e	0,25 ^d	0,18 ^c	0,12 ^f	0,47 ^b	0,49 ^b
2	0,17 ^{de}	0,40 ^b	0,15 ^f	0,37 ^b	0,06 ^g	0,20 ^d	0,20 ^d	0,27 ^c	0,07 ^h	0,18 ^e	0,06 ^g	0,82 ^a	0,22 ^d	0,28 ^c	0,27 ^c	0,18 ^d	0,86 ^a	0,11 ^f
3	0,20 ^e	0,23 ^c	0,13 ^g	0,45 ^b	0,05 ⁱ	0,30 ^d	0,30 ^d	0,16 ^f	0,04 ⁱ	0,30 ^d	0,08 ^h	0,61 ^a	0,33 ^d	0,38 ^{cd}	0,17 ^f	0,11 ^g	0,42 ^b	0,20 ^f
4	22,48 ^a	23,20 ^a	26,61 ^a	19,75 ^b	22,93 ^a	16,69 ^c	17,26 ^c	20,22 ^a	22,98 ^a	25,84 ^a	19,50 ^b	16,78 ^c	19,26 ^b	17,82 ^b	18,91 ^b	18,80 ^b	20,96 ^b	23,84 ^a
5	2,19 ^c	0,47 ^f	1,95 ^c	0,24 ^b	3,05 ^b	1,83 ^d	1,95 ^c	2,05 ^c	0,11 ⁱ	0,67 ^{de}	2,06 ^c	2,04 ^c	3,90 ^a	0,38 ^g	0,87 ^e	0,50 ^f	1,41 ^d	0,88 ^e
6	1,73 ^d	2,45 ^c	2,60 ^{bc}	2,96 ^b	1,56 ^d	3,15 ^b	2,86 ^b	2,51 ^c	3,51 ^b	1,83 ^d	1,76 ^d	3,94 ^a	4,03 ^a	3,07 ^b	2,78 ^b	3,06 ^b	3,30 ^b	2,38 ^c
7	22,87 ^a	21,95 ^a	19,64 ^b	19,14 ^b	18,27 ^c	18,90 ^c	17,58 ^c	17,23 ^c	22,75 ^a	16,08 ^d	15,16 ^d	20,32 ^a	22,56 ^a	24,60 ^a	17,34 ^c	16,73 ^c	19,52 ^b	15,96 ^d
8	2,72 ^c	0,22 ^f	4,49 ^a	0,32 ^e	3,90 ^b	0,56 ^e	0,42 ^e	1,37 ^d	0,24 ^f	0,16 ^g	0,24 ^f	2,17 ^c	4,00 ^b	0,75 ^e	0,68 ^e	2,39 ^c	4,03 ^{ab}	0,32 ^e
9	0,32 ^f	0,44 ^f	2,09 ^b	1,12 ^d	0,59 ^f	1,44 ^c	1,52 ^c	1,55 ^c	0,75 ^c	0,36 ^g	0,88 ^f	2,13 ^b	4,75 ^a	0,39 ^f	0,48 ^f	0,54 ^f	2,44 ^b	0,98 ^e
10	2,26 ^f	6,73 ^c	7,29 ^{bc}	3,88 ^d	2,61 ^f	4,90 ^d	5,19 ^d	5,13 ^d	5,34 ^d	1,54 ^g	3,14 ^e	6,67 ^c	13,99 ^a	6,49 ^e	1,93 ^g	2,03 ^f	9,20 ^b	3,29 ^e
11	0,06 ^d	0,07 ^d	0,06 ^d	0,11 ^c	0,05 ^e	0,20 ^b	0,08 ^d	0,15 ^c	0,35 ^d	0,08 ^d	0,03 ^e	0,28 ^b	0,12 ^c	0,07 ^d	0,04 ^e	0,10 ^c	0,09 ^d	0,31 ^a
12	1,82 ^a	0,64 ^d	0,27 ^f	0,88 ^c	0,09 ^g	1,35 ^b	0,51 ^e	0,76 ^d	0,44 ^c	0,96 ^c	0,10 ^g	1,50 ^b	0,68 ^d	0,51 ^d	0,77 ^c	0,77 ^c	0,61 ^d	0,11 ^g
Suma	56,90^c	57,13^c	65,39^b	49,40^d	53,22^c	49,65^d	47,97^d	51,55^c	56,60^c	48,11^d	43,05^e	57,91^c	74,04^a	54,97^c	44,40	45,31^d	63,31^b	48,88^d
Total																		

* Ad – Adalmina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernal, Jh – Johanner, Jt – Jutrzenka, Kg – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena, SI – Solaris

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)
a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

Tabela 15. Średnia zawartość flawonoli w miąższu odmian o białych owocach mg/kg śm.
Table 15. Mean value of flavonols in pulp of white grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties												SI						
	Ad	Ar	Ax	Bc	Gr	Hb	Jh	Jt	KG	Kr	Mr	Mt		Ot	PS	Sv	Sb	Sr	
1	0,04 ^b	0,05 ^b	0,04 ^b	0,05 ^b	0,08 ^a	0,05 ^b	0,04 ^b	0,05 ^b	0,01 ^c	0,08 ^a	0,06 ^b	0,06 ^b	0,07 ^a	0,05 ^b	0,08 ^a	0,05 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	
2	0,04 ^c	0,05 ^c	0,04 ^c	0,05 ^c	0,10 ^a	0,05 ^c	0,05 ^c	0,06 ^b	0,02 ^e	0,06 ^b	0,07 ^b	0,05 ^c	0,07 ^b	0,05 ^c	0,10 ^a	0,05 ^c	0,04 ^d	0,06 ^b	
3	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,05 ^b	0,07 ^a	0,05 ^b	0,04 ^b	0,07 ^a	0,02 ^d	0,05 ^b	0,05 ^b	0,07 ^a	0,06 ^a	0,05 ^b	0,07 ^a	0,05 ^b	0,05 ^b	0,04 ^c	
4	0,22 ^d	0,36 ^c	0,29 ^c	0,33 ^c	0,62 ^b	0,24 ^d	0,34 ^c	0,47 ^b	0,16 ^e	1,28 ^a	0,52 ^b	0,32 ^c	0,32 ^c	0,10 ^e	1,50 ^a	0,40 ^c	0,29 ^c	0,20 ^{bc}	
5	0,08 ^e	0,06 ^e	0,06 ^e	0,06 ^e	0,17 ^b	0,07 ^c	0,13 ^c	0,13 ^c	0,01 ^f	0,25 ^a	0,19 ^b	0,10 ^d	0,13 ^a	0,05 ^e	0,13 ^c	0,07 ^c	0,10 ^d	0,15 ^b	
6	0,09 ^e	0,13 ^d	0,08 ^f	0,19 ^c	0,14 ^d	0,13 ^d	0,13 ^d	0,20 ^{bc}	0,05 ^f	0,25 ^b	0,17 ^c	0,38 ^a	0,22 ^b	0,08 ^e	0,21 ^b	0,11 ^c	0,21 ^b	0,10 ^c	
7	0,30 ^d	0,47 ^c	0,22 ^e	0,46 ^c	0,41 ^d	0,43 ^{cd}	0,39 ^d	0,50 ^c	0,53 ^c	1,08 ^b	0,63 ^c	0,58 ^c	0,53 ^c	0,18 ^e	1,70 ^a	0,54 ^c	0,41 ^d	0,54 ^c	
8	0,11 ^e	0,26 ^c	0,11 ^e	0,25 ^c	1,27 ^a	0,25 ^c	0,26 ^c	0,18 ^e	0,11 ^e	0,30 ^c	0,16 ^c	0,26 ^d	0,44 ^b	0,23 ^d	0,19 ^c	0,30 ^c	0,35 ^{bc}	0,12 ^c	
9	0,05 ^d	0,05 ^d	0,05 ^d	0,06 ^c	0,10 ^b	0,06 ^c	0,06 ^c	0,14 ^a	0,01 ^e	0,12 ^b	0,07 ^c	0,09 ^b	0,11 ^b	0,05 ^d	0,09 ^b	0,06 ^c	0,08 ^c	0,07 ^c	
10	0,06 ^f	0,10 ^e	0,07 ^e	0,10 ^e	0,18 ^c	0,10 ^d	0,12 ^d	0,32 ^a	0,02 ^g	0,34 ^a	0,13 ^{cd}	0,17 ^c	0,24 ^b	0,06 ^f	0,30 ^a	0,11 ^d	0,18 ^c	0,11 ^d	
11	0,04 ^c	0,04 ^c	0,04 ^c	0,05 ^b	0,07 ^a	0,05 ^b	0,04 ^c	0,05 ^b	0,01 ^d	0,06 ^a	0,06 ^b	0,05 ^b	0,07 ^a	0,05 ^b	0,04 ^c	0,05 ^b	0,04 ^c	0,04 ^c	
12	0,07 ^c	0,08 ^c	0,06 ^d	0,10 ^{bc}	0,12 ^b	0,11 ^b	0,07 ^c	0,09 ^c	0,07 ^c	0,24 ^a	0,09 ^c	0,11 ^b	0,12 ^b	0,07 ^c	0,28 ^a	0,11 ^b	0,08 ^c	0,07 ^c	
Suma	1,15^f	1,70^d	1,09^f	1,76^d	3,33^b	1,60^e	1,69^d	2,25^e	1,02^f	4,11^a	2,21^c	2,24^c	2,37^c	1,03^f	4,70^a	1,90^d	1,89^d	1,55^e	
Total																			

* Ad – Adalmina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernal, Jh – Johanniter, Jt – Jutrzenka, KG – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena, SI – Solaris

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

W skórcie owoców wśród 12 związków, które składały się na profil flawonolowy, 3-*O*-glukozyd myricetyny był związkiem dominującym, drugim w kolejności związkiem pod względem zawartości był 3-*O*-glukozyd kwercetyny. Łączny udział tylko tych dwóch pochodnych w sumarycznej zawartości flawonoli stanowił ponad 70%, a ich wzajemny stosunek wynosił blisko 1 : 1. Zależność ta powtarza się niemal we wszystkich odmianach, odstępstwa można zaobserwować w odmianie Kristaly, gdzie 3-*O*-glukozyd myricetyny stanowi ponad 50% udział w całkowitej zawartości flawonoli. Również odmiany: Muscat Odeski, Ortega i Prairie Star odbiegają od przyjętej tendencji, w odmianach tych związkiem dominującym jest 3-*O*-glukozyd kwercetyny. Kolejnym związkiem pod względem zawartości jest 3-*O*-ramnozyd kwercetyny, jego średnia zawartość wynosi 50 mg/kg śm., co stanowi blisko 10% sumy flawonoli w skórcie. Wyjątek stanowi tutaj odmian Ortega, gdzie jego udział jest blisko dwukrotnie większy od średniej. Zawartość pozostałych związków stanowi ok. 20% sumarycznej zawartości flawonoli, wśród nich największy odsetek wykazuje 4'-*O*-glukozyd kwercetyny.

Wśród wszystkich pochodnych największy udział stanowiły glukozydy, ich średnia zawartość sięgała 85% sumarycznej zawartości pochodnych flawonolowych. Największy ich udział stwierdzono w odmianach Kristaly i Seyval Blanc, odpowiednio: 94% i 91% całkowitej zawartości flawonoli. Najmniejszy odsetek glukozydów odnotowano w odmianie Ortega – ok. 70%. W pozostałych odmianach zawartość glukozydów była na zbliżonym poziomie. Udział ramnozydów w całkowitej zawartości pochodnych flawonolowych stanowił średnio 9%. Zdecydowanie większy udział tych pochodnych zaobserwowano w odmianach z mniejszym odsetkiem glukozydów. Dla Ortegi było to blisko 19%, a dla Sereny ok. 15% całkowitej zawartości flawonoli. Średnia zawartość rutynozydów wynosiła blisko 6% sumarycznej zawartości pochodnych flawonolowych. Podobnie jak w przypadku ramnozydów, ich większy odsetek był zauważalny w odmianach z mniejszym udziałem procentowym monoglukozydów. Oprócz wspomnianych wcześniej odmian Ortega i Serena odmianami o większym odsetku rutynozydów były jeszcze odmiany Grosso i Auxerrois (odpowiednio 13% i 10%). Glukuronidy stanowiły najmniejszą grupę, ich udział był marginalny i wynosił poniżej pół procenta sumarycznej zawartości pochodnych flawonolowych.

Analizując profil flawonolowy pod kątem udziału poszczególnych aglikonów, zaobserwowano znaczący udział pochodnych kwercetyny, który stanowił średnio blisko 55% całkowitej zawartości flawonoli. Do odmian, w których stwierdzono największy udział kwercetyny, należały: Prairie Star, Ortega, Muscat Odeski, Hiberna. Znacznie mniejszy odsetek kwercetyna wykazywała w odmianie Kristaly – ok. 43% sumarycznej zawartości pochodnych flawono-

lowych; w tym przypadku dominującą grupę stanowiły pochodne myricetyny. Średni udział pochodnych myricetyny w całkowitej zawartości pochodnych flawonolowych wynosił blisko 40%. Największy ich udział stwierdzono we wspomnianej wcześniej odmianie Kristaly oraz Solaris i Muscaris, odpowiednio 54%, 49% i 45% całkowitej zawartości flawonoli. Najmniejszą zawartością pochodnych myricetyny charakteryzowały się odmiany, w których stwierdzono ponadprzeciętny odsetek pochodnych kwercetyny. Pochodne dihydroksykwercetyny i kempferolu stanowiły wyrównany odsetek, ich średnia zawartość stanowiła odpowiednio 2,8% oraz 2,2% całkowitej zawartości pochodnych flawonolowych. Najmniejszy odsetek, wynoszący średnio 1,3% sumy flawonoli, stanowiły pochodne izoramnetyny.

Analizując profil pochodnych flawonolowych w mięszu, zaobserwowano przede wszystkim drastyczną różnicę w ilości tych związków. Ich zawartość w mięszu była mniejsza średnio 250 razy. Całkowita zawartość mieściła się w przedziale pomiędzy 1,02 a 4,7 mg/kg śm., odpowiednio dla odmian KyGrey, Prairie Star i Seyval Blanc. Średnia zawartość flawonoli w mięszu dla wszystkich odmian wynosiła 2,09 mg/kg śm. Dużą zawartością pochodnych flawonolowych wyróżniały się również odmiany Kristaly (4,11 mg/kg śm.) i Grosso (3,33 mg/kg śm.). Odmiany Adalmina i Auxerrois wykazywały z kolei obniżoną zawartość w stosunku do średniej. Na uwagę zasługuje fakt, iż większość odmian, które w skórce charakteryzowały się największą zawartością flawonoli, pod względem zawartości w mięszu należały do grupy odmian o najniższej sumarycznej zawartości związków flawonolowych i odwrotnie.

Porównując profil flawonolowy występujący w skórce i mięszu, stwierdzono kilka znaczących różnic. Po pierwsze, związkiem dominującym we wszystkich odmianach był 3-*O*-glukozyd kwercetyny stanowiący ponad 26% sumarycznej zawartości flawonoli w mięszu, kolejnym związkiem był 3-*O*-glukozyd myricetyny, który wynosił ok. 21% sumy tych pochodnych. Łączna ich zawartość stanowiła blisko połowę wszystkich flawonoli w mięszu, znacznie mniej niż w przypadku skórki, gdzie ich zawartość sięgała ponad 70% sumy flawonoli. Drugą zauważalną różnicą był wyższy udział 3-*O*-ramnozydu dihydroksykwercetyny, który był średnio pięć razy większy niż w skórce i stanowił ponad 13% sumy pochodnych flawonolowych. Największa różnica zauważalna była w przypadku odmiany Grosso, gdzie związek ten pełnił dominującą rolę i obejmował ponad 38% całkowitej zawartości pochodnych flawonolowych. Udział pozostałych pochodnych w sumarycznej zawartości flawonoli również był stosunkowo większy niż w przypadku skórki. Porównując udział poszczególnych aglikonów w mięszu, stwierdzono również mniejszy udział pochodnych myricetyny, za to większy udział dihydroksykwercetyny, kempferolu i izoramnetyny w sumarycznej zawartości pochodnych flawonolowych.

Tabela 16. Średnia zawartość flawonoli w skórcie odmian o czerwonych owocach mg/kg śm.
Table 16. Mean value of flavonols in skin of red grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties														
	Ac ^a	Al	CC	CD	DC	Fr	Hr	LM	MF	Mq	Rg	Rd	Sb	SR	WR
1	0,13 ^f	0,11 ^g	0,34 ^c	0,15 ^d	0,20 ^d	0,84 ^a	0,88 ^a	0,21 ^d	0,48 ^b	0,17 ^e	0,98 ^a	0,34 ^e	0,10 ^g	0,91 ^a	0,97 ^a
2	0,26 ^a	0,20 ^d	0,44 ^a	0,22 ^c	0,28 ^{cd}	0,12 ^f	0,17 ^e	0,25 ^e	0,48 ^b	0,37 ^b	0,15 ^f	0,17 ^e	0,18 ^e	0,20 ^d	0,17 ^e
3	0,29 ^b	0,30 ^b	0,34 ^a	0,14 ^e	0,22 ^c	0,18 ^f	0,10 ^f	0,35 ^b	0,31 ^b	0,45 ^a	0,13 ^e	0,27 ^e	0,30 ^b	0,30 ^b	0,13 ^e
4	13,18 ^b	7,98 ^d	11,14 ^b	8,85 ^c	12,84 ^b	14,38 ^{ab}	11,60 ^b	8,54 ^d	12,40 ^b	9,75 ^c	16,61 ^a	15,55 ^a	15,84 ^a	7,26 ^d	10,79 ^c
5	1,10 ^c	1,89 ^b	2,05 ^a	0,68 ^d	1,33 ^c	1,8 ^b	1,08 ^c	2,14 ^a	1,15 ^c	0,24 ^d	1,95 ^b	2,39 ^a	2,67 ^a	1,95 ^b	1,92 ^b
6	1,78 ^c	2,00 ^b	1,85 ^b	0,92 ^d	1,09 ^d	0,69 ^e	2,01 ^b	2,55 ^a	1,84 ^b	1,96 ^b	1,60 ^c	2,21 ^a	0,83 ^d	1,86 ^b	1,27 ^c
7	9,39 ^b	8,24 ^c	7,74 ^c	9,03 ^b	12,41 ^a	7,18 ^c	9,99 ^b	13,58 ^a	7,74 ^c	9,14 ^b	9,64 ^b	9,26 ^b	6,08 ^d	7,58 ^c	9,92 ^b
8	2,40 ^c	2,49 ^c	1,21 ^e	1,53 ^c	1,47 ^e	2,03 ^d	1,80 ^f	2,37 ^c	2,18 ^c	0,32 ^g	4,49 ^a	2,16 ^{cd}	2,16 ^d	3,42 ^b	1,51 ^e
9	1,61 ^b	1,48 ^c	1,50 ^c	0,51 ^e	0,38 ^e	0,47 ^c	1,15 ^d	2,57 ^a	1,71 ^b	1,12 ^d	2,09 ^a	2,86 ^b	0,36 ^e	1,52 ^{bc}	0,52 ^e
10	5,59 ^c	5,04 ^c	4,91 ^d	3,98 ^d	4,50 ^d	5,07 ^{cd}	5,24 ^c	10,24 ^a	6,24 ^c	8,88 ^b	7,29 ^b	8,64 ^b	1,54 ^e	5,19 ^c	4,89 ^c
11	0,86 ^a	0,14 ^e	0,15 ^d	0,69 ^c	0,67 ^c	0,68 ^c	0,25 ^d	0,94 ^a	0,20 ^d	0,11 ^d	0,65 ^c	0,21 ^d	0,83 ^a	0,79 ^b	0,14 ^e
12	0,57 ^c	0,93 ^a	0,80 ^{ab}	0,77 ^b	1,23 ^a	0,52 ^c	0,60 ^c	0,59 ^c	0,36 ^d	0,88 ^a	0,27 ^e	0,40 ^d	0,96 ^a	0,51 ^c	0,95 ^a
Suma	37,17^b	30,81^d	32,48^c	27,48^c	36,62^b	34,02^b	34,86^b	44,36^a	35,09^b	33,40^c	45,86^a	44,46^a	31,86^d	31,51^d	33,18^c
Total															

* Ac – Acolon, Al – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabbrevoise, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowij Rannij

a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)
a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 17. Średnia zawartość flawonoli w miąższu odmian o czerwonych owocach mg/kg śm.
Table 17. Mean value of flavonols in pulp of red grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties												WR			
	Ac ^a	Al	CC	CD	DC	Fr	Hr	LM	MF	Mq	Rg	Rd		Sb	SR	
1	0,05 ^b	0,05 ^b	0,06 ^b	0,06 ^b	0,05 ^b	0,08 ^a	0,03 ^c	0,06 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,06 ^b	0,07 ^a	0,06 ^b	0,06 ^b
2	0,05 ^b	0,05 ^b	0,06 ^b	0,08 ^a	0,05 ^b	0,08 ^a	0,04 ^c	0,06 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,06 ^b	0,05 ^b	0,09 ^a	0,05 ^b	0,08 ^a
3	0,05 ^b	0,05 ^b	0,06 ^a	0,06 ^a	0,04 ^c	0,06 ^a	0,04 ^c	0,06 ^a	0,04 ^c	0,04 ^a	0,05 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,06 ^a	0,06 ^a	0,06 ^a
4	0,31 ^{de}	0,29 ^e	0,42 ^d	0,95 ^b	0,29 ^e	0,95 ^b	0,32 ^d	0,21 ^e	0,25 ^e	0,37 ^d	0,26 ^e	0,37 ^d	0,75 ^c	1,23 ^a	0,99 ^b	0,99 ^b
5	0,06 ^e	0,10 ^d	0,14 ^{bc}	0,10 ^d	0,07 ^e	0,21 ^a	0,07 ^e	0,09 ^d	0,12 ^c	0,09 ^d	0,07 ^e	0,09 ^d	0,17 ^b	0,12 ^c	0,11 ^c	0,11 ^c
6	0,13 ^c	0,13 ^c	0,27 ^a	0,16 ^b	0,11 ^d	0,20 ^b	0,12 ^c	0,15 ^d	0,16 ^b	0,12 ^c	0,14 ^c	0,19 ^b	0,17 ^c	0,19 ^b	0,17 ^c	0,17 ^c
7	0,34 ^e	0,41 ^{cd}	0,61 ^b	1,12 ^a	0,38 ^e	0,74 ^b	0,51 ^c	0,35 ^e	0,48 ^c	0,46 ^c	0,40 ^d	0,51 ^c	0,69 ^b	1,41 ^a	1,16 ^a	1,16 ^a
8	0,18 ^d	0,26 ^c	0,21 ^d	0,24 ^{cd}	0,19 ^d	0,78 ^a	0,15 ^e	0,33 ^e	0,23 ^d	0,27 ^c	0,21 ^d	0,55 ^d	0,21 ^d	0,22 ^d	0,23 ^d	0,23 ^d
9	0,05 ^c	0,06 ^c	0,08 ^b	0,08 ^b	0,05 ^c	0,11 ^a	0,07 ^b	0,08 ^b	0,08 ^b	0,06 ^e	0,06 ^e	0,07 ^b	0,08 ^b	0,09 ^a	0,08 ^b	0,08 ^b
10	0,08 ^d	0,11 ^{cd}	0,15 ^d	0,21 ^a	0,08 ^d	0,26 ^a	0,17 ^b	0,15 ^b	0,14 ^b	0,11 ^c	0,09 ^d	0,12 ^c	0,20 ^{ab}	0,25 ^a	0,22 ^a	0,22 ^a
11	0,04 ^b	0,05 ^b	0,06 ^a	0,04 ^b	0,04 ^b	0,07 ^a	0,03 ^c	0,06 ^a	0,04 ^b	0,04 ^b	0,05 ^b	0,04 ^b	0,05 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b	0,04 ^b
12	0,08 ^d	0,09 ^d	0,10 ^d	0,19 ^b	0,07 ^e	0,18 ^b	0,08 ^d	0,09 ^d	0,08 ^d	0,09 ^d	0,09 ^d	0,10 ^d	0,15 ^c	0,24 ^a	0,20 ^a	0,20 ^a
Suma	1,42^f	1,64^e	2,22^d	3,30^e	1,42^f	3,72^a	1,63^e	1,70^e	1,72^e	1,76^e	1,50^f	2,20^d	2,63^d	4,00^a	4,00^a	3,41^b
Total																

* Ac – Acolon, Al – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Cortis, DC – Cabernet Dorsa, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

W porównaniu do skórki odmian białych w skórce winogron czerwonych zaobserwowano mniejszą ilość pochodnych flawonolowych. Ich średnia zawartość dla wszystkich odmian wynosiła 35,57 mg/kg śm. i była niższa o 44% w porównaniu do skórki odmian białych. Całkowita zawartość flawonoli mieściła się w przedziale 27,48–45,85 mg/kg śm. Największą zawartością charakteryzowały się odmiany Regent, Rondo i Leon Millot, natomiast najniższą odmiany Aulwood i Cabernet Dorsa. W pozostałych odmianach zawartość pochodnych flawonolowych była na zbliżonym poziomie. Również podobnie jak w odmianach białych związkami dominującymi były: 3-*O*-glukozyd myricetyny i 3-*O*-glukozyd kwercetyny. Ich łączny udział stanowił blisko 60% sumarycznej zawartości pochodnych flawonolowych. W porównaniu z odmianami białymi 3-*O*-glukozyd kwercetyny miał średnio mniejszy udział procentowy w całkowitej ilości flawonoli; tylko w przypadku jednej odmiany – Leon Millot, pełnił rolę związku dominującego. Stwierdzono również znacznie większy udział 3-*O*-ramnozydu kwercetyny niż w odmianach białych. Rozkład pomiędzy poszczególne rodzaje pochodnych flawonolowych był podobny jak w odmianach białych. Grupą dominującą były glukozydy, ich udział był mniejszy w całkowitej zawartości pochodnych flawonolowych i wynosił średnio 71%. Odmianami o największym udziale tych pochodnych były: DeChaunac, Sabrevoice i Heridan, najmniejszym zaś Svenson Red i Leon Millot. Udział pozostałych pochodnych, w tym ramnozydów i rutynozydów, był za to większy; ich średni udział wynosił odpowiednio 16% i 11% i zwiększał się tym bardziej, im malał udział glukozydów w sumarycznej zawartości pochodnych flawonolowych. Rozkład pomiędzy poszczególne grupy aglikonów wyglądał podobnie jak w przypadku odmian białych. Ponad połowę wszystkich flawonoli stanowiły pochodne kwercetyny – średnio 54%, w odmianach Leon Millot oraz Marquette udział pochodnych tego aglikonu był zdecydowanie większy, wynoszący odpowiednio 67% i 62%, mniejszy zaś stwierdzono w odmianach Frontenac i Regent – 48%. Średni udział myricetyny w sumarycznej ilości pochodnych flawonolowych wynosił 34% i zwiększał się w odmianach, w których stwierdzono mniejszy odsetek kwercetyny, natomiast w odmianach z wyższym jej udziałem zawartość myricetyny malała. Łączny udział pozostałych pochodnych: dihydroksykwercetyny, kempferolu oraz izoramnetyny stanowił 10% sumarycznej zawartości flawonoli, z czego dihydroksykwercetyna stanowiła połowę.

Zawartość flawonoli w miąższu czerwonych odmian winogron była prawie identyczna jak w odmianach białych i mieściła się w zakresie od 1,42 mg/100g śm. do 4,00 mg/kg śm. Średnia zawartość dla wszystkich odmian wynosiła 2,29 mg/kg śm.; najmniejszą zawartością flawonoli w miąższu charakteryzowały się odmiany DeChaunac i Acolon, natomiast najwyższą Svenson Red i Frontenac. Podwyższoną zawartością pochodnych flawonolowych odznaczały się jeszcze

odmiany Wiszniowyj Rannij (3,41 mg/kg śm.) i Cabernet Dorsa (3,30 mg/kg śm.). Analizując pojedyncze związki wchodzące w skład profilu flawonolowego, widać podobne zależności jak w mięszu odmian białych. Związkiem dominującym jest 3-*O*-glukozyd kwercetyny, którego średni udział stanowił 27% sumarycznej zawartości flawonoli. Udział 3-*O*-glukozydu myrycetyny – drugiego co do liczebności związku, wyniósł 21%. Udział pozostałych pochodnych również był większy niż w przypadku skórki i również 3-*O*-ramnozyd dihydroksykwercetyny był pochodną, dla której odnotowano zwiększenie udziału w sumarycznej zawartości flawonoli w mięszu. Różnicę zaobserwowano jedynie dla 3-*O*-ramnozydu kwercetyny, którego udział w sumarycznej zawartości pochodnych flawonolowych w mięszu zmniejszył się prawie dwukrotnie w stosunku do skórki. Analizując poszczególne rodzaje pochodnych, zauważono taką samą tendencję, jak w przypadku mięszu odmian białych. Udział glukozydów był porównywalny i kształtował się na poziomie 70% całkowitej zawartości flawonoli. Drugą grupą pod względem liczebności były rutynozydy, których odsetek zwiększył się do 20% w wyniku mniejszego udziału ramnozydów w całkowitej zawartości pochodnych flawonolowych w mięszu. Najliczniejszą grupą, podobnie jak w przypadku skórki, były pochodne kwercetyny; ich udział wynosił 54% całkowitej zawartości flawonoli w mięszu. Pochodne myrycetyny stanowiły niecałe 24% sumy flawonoli, ich udział był mniejszy niż w skórce, co rekompensowało większy odsetek pozostałych pochodnych, głównie 3-*O*-ramnozydu dihydroksykwercetyny, analogicznie jak w przypadku mięszu białych odmian winogron.

Flawonole są związkami, które odgrywają decydującą rolę w ochronie przed niekorzystnym promieniowaniem UV. W winogronach zlokalizowane są głównie w skórce i liściach, niewielkie ich ilości występują w mięszu (Pereira i in. 2006). Biosynteza flawonoli następuje w dwóch etapach: w trakcie kwitnienia i ponownie po rozpoczęciu okresu dojrzewania gron. Niewielkie ilości flawonoli były wykrywane w niedojrzałych, zielonych gronach, niemiej jednak po rozpoczęciu dojrzewania odnotowuje się ich stały przyrost (Downey i in. 2003a). Podobnie jak w przypadku antocyjanów również profil flawonoli zależy od stadium rozwojowego, czynników genetycznych i klimatyczno-glebowych. Poszczególne odmiany różnią się profilem flawonoidowym, przez co stanowi on ważne kryterium chemotaksonomiczne (Masa i in. 2007). Do najważniejszych flawonoli tworzących profil tych związków w winogronach należą pochodne myrycetyny, kwercetyny, kempferolu i izoramnetyny. Jeszcze do niedawna istniało przekonanie, że w białych odmianach brak jest *O*-metylowych pochodnych. Jest to sprzeczne z ostatnimi doniesieniami, w których potwierdzono występowanie izoramnetyny w skórce białych winogron (Rodriguez Montelegrè i in. 2006). Mattivi w trakcie analizy profilu 91 odmian również potwierdził występowanie pochodnych izoramnetyny w białych odmianach, stwierdził także, że cechą odróżniającą

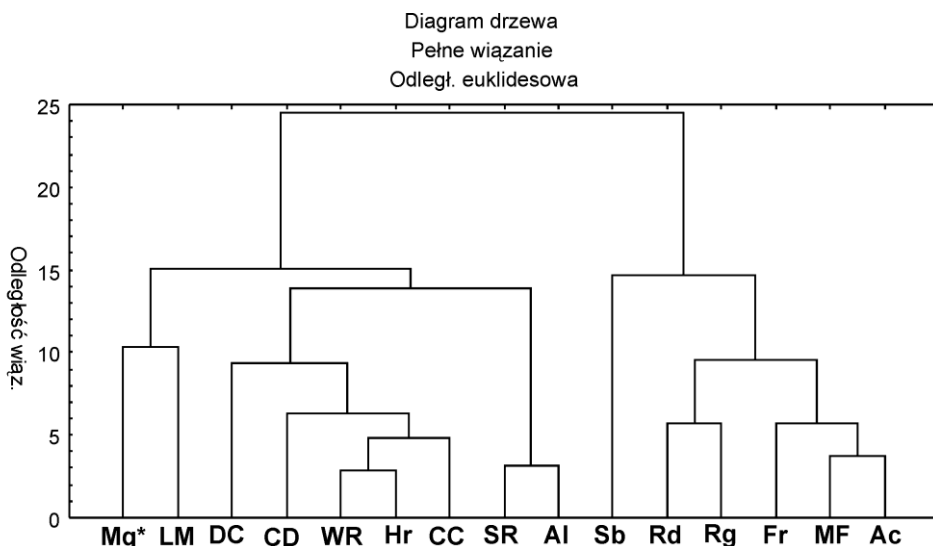
czerwone winogrona jest występowanie syryngetyny i larycytryny w ich profilu flawonolowym (Mattivi i in. 2006). Pochodne flawonoli to głównie 3-*O*-glukozydy, 3-*O*-galaktozydy i 3-*O*-glukuronidy (Cheyner i Riguard 1986; Hmamouchi i in. 1996). Rzadziej pojawiają się doniesienia o występowaniu 3-*O*-rutynozydów i 3-*O*-ramnozydów (Cantos i in. 2002). Jeszcze w innych pracach znaleźć można dodatkowo informację o występowaniu dihydroksyflawonoli (Trousdale i Singelton 1983; Souquet i in. 2000; Masa i in. 2007).

Skład jakościowy profilu flawonolowego, zaprezentowany w niniejszym opracowaniu, znajduje potwierdzenie w danych literaturowych. Zidentyfikowano tutaj 12 pochodnych, które z małymi wyjątkami zostały wcześniej ustalone w winogronach. Jak dotąd nie stwierdzono występowania 3 pochodnych kwercetyny: di- i triglukozydu kwercetyny oraz 4'-*O*-glukozydu kwercetyny. Nie odnotowano również jakościowych różnic w profilu flawonolowym pomiędzy winogronami białymi i czerwonymi; w tych ostatnich nie udało się również potwierdzić występowania larycytryny i syryngetyny.

Stężenie flawonoli w winogronach różni się zarówno między rodzajami winogron, jak i odmianami. W owocach białych zawartość flawonoli mieści się w przedziale od 2 do 30 mg/kg śm., natomiast w czerwonych od 4 do 78 mg/kg śm. (Mattivi i in. 2006). Badania Rodriguez-Montelegre (2006) potwierdzają, że w czerwonych winogronach występuje więcej flawonoli. Wśród analizowanych odmian zawartość flawonoli była wyższa i wynosiła 170 mg/kg śm. w odmianie Viognier i 200 mg/kg śm. w odmianie Shiraz. Bezpośrednie porównanie uzyskanych wyników jest trudne ze względu na brak danych literaturowych dotyczących analizowanych odmian. Niemniej jednak, przyjmując przytoczone zakresy, można stwierdzić, iż zawartość flawonoli w białych odmianach winogron mieści się w granicach opisywanych przez innych autorów dla odmian uprawianych w innych regionach. Natomiast w odmianach czerwonych odnotowano blisko dwukrotnie wyższy poziom. Odmiana Regent uprawiana w naszym rejonie charakteryzowała się wyższą zawartością flawonoli od uprawianej w Niemczech i we Włoszech, również w odmianie białej Solaris stężenie flawonoli było wyższe, natomiast w odmianie Johanniter było na porównywalnym poziomie (Ehrhardt i in. 2014).

Na rysunku 13 przedstawiono dendrogram otrzymany metodą analizy skupień dla flawonoli w odmianach o czerwonych owocach. W wyniku analizy uzyskano podział na 5 względnie jednorodnych klastrów wykazujących podobieństwo między odmianami. Klastry zostały wyodrębnione na podstawie dwóch kryteriów. Pierwsze z nich stanowi udział poszczególnych grup aglikonów w sumarycznej zawartości flawonoli, drugim kryterium jest rodzaj występujących glikozydowych pochodnych. Klastr pierwszy grupuje dwie odmiany Marquette i Leon Millot. W odmianach tych pochodne kwercetyny stanowią największy odsetek wynoszący odpowiednio 67% i 62%, natomiast udział pochodnych mirycetyny jest najmniej-

szy – poniżej 30%. Kolejny klaster skupia 5 odmian: DeChaunac, Cabernet Dorsa, Cabernet Cortis, Wiszniowyj Rannij oraz Heridan. W tym przypadku odsetek pochodnych kwercetyny jest niższy i zawiera się pomiędzy 53% a 57%, natomiast udział pochodnych mirycetyny jest większy – powyżej 30%. Trzecia grupa skupia dwie odmiany: Svenson Red i Aulwood. Te odmiany łączą cechy dwóch poprzednich grup. Udział pochodnych kwercetyny jest charakterystyczny dla drugiej grupy, mirycetyny zaś dla grupy pierwszej. Różnica ta zrekompensowana jest poprzez wyższy udział pochodnych dihydroksykwercetyny, który jest wyższy niż w pozostałych grupach i wynosi ok. 10%.



Rysunek 13. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla flawonoli w odmianach o czerwonych owocach

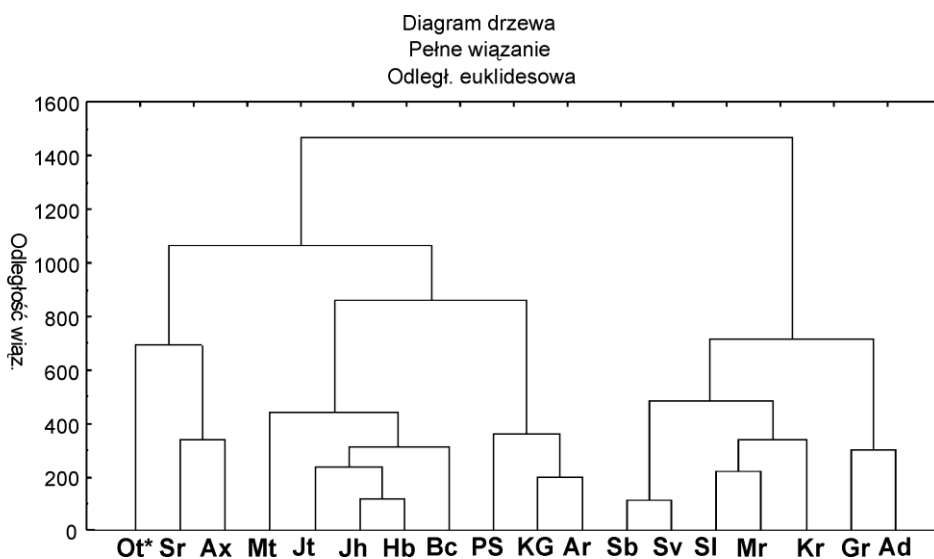
Figure 13. Hierarchical cluster analysis applied to flavonols of red grapes

* Ac – Acolon, AI – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij

W obrębie grupy czwartej wyodrębniona została tylko jedna odmiana, Sabrevoice, która charakteryzuje się najwyższym udziałem mirycetyny, wynoszącym 50%. Udział kwercetyny jest mniejszy i wynosi 38% całkowitej zawartości flawonoli w odmianach o czerwonych owocach. Ostatnia grupa charakteryzuje się najmniejszym udziałem kwercetyny w przedziale 48–52% i większym odsetkiem mirycetyny 35–42%. W przypadku drugiego kryterium, czyli rodzaju występujących glikozydowych pochodnych, różnice polegają na wyższym udziale w grupie pierwszej ramnozydów (23% i 26%) i mniejszej glukozydów (63% i 70%).

W grupie drugiej zaobserwowano najwyższy udział glukozydów (ponad 70%). W grupie trzeciej w porównaniu do pozostałych grup odnotowano większy udział rutynozydów (16%). W pozostałych grupach nie stwierdzono podobnych zależności, a udział poszczególnych rodzajów glikozydowych pochodnych jest stosunkowo jednorodny.

W odmianach o owocach białych zastosowanie analizy skupień wyodrębniło 6 grup (rysunek 14). Grupa pierwsza skupia trzy odmiany o najwyższej zawartości flawonoli, są to kolejno odmiany: Ortega, Serena i Auxerrois. W obrębie grupy drugiej znalazły się odmiany: Muscat, Jutrzenka, Johanniter, Hiberna i Bianca. Grupa ta skupia odmiany o dość rozpiętym zakresie stężeń flawonoli, jednak ich cechą wspólną jest wyższy, o ok. 4%, udział pochodnej izoramnetyny w stosunku do pozostałych odmian.



Rysunek 14. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla flawonoli w odmianach o białych owocach

Figure 14. Hierarchical cluster analysis applied to flavonols of white grapes

* Ad – Adalmiina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hiberna, Jh – Johanniter, Jt – Jutrzenka, KG – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena

W grupie trzeciej znalazły się odmiany Prairie Star, KyGrey oraz Aurora. W tej grupie decydują 2 czynniki, pierwszym z nich jest stężenie flawonoli, które kształtuje się na bardzo zbliżonym poziomie, oraz stosunkowo niski udział rutynozydów w porównaniu do pozostałych odmian. Czwarta grupa powstała po zgrupowaniu dwóch odmian: Sibera i Seyval Blanc, natomiast piąta po połączeniu

odmian Solaris, Muscaris i Cristal. W obu tych grupach stężenie flawonoli jest wyrównane, jednak różnica między tymi grupami polega na udziale poszczególnych aglikonów. W grupie czwartej zauważalny jest stosunkowo mniejszy udział pochodnych kwercetyny, a w piątej dihydroksykwercetyny w porównaniu do pozostałych odmian. Ostatnia grupa skupia dwie odmiany – Grosso i Adalmiina. Tutaj podobnie jak w grupie czwartej zauważalny jest mniejszy udział pochodnych kwercetyny, jednak całkowite stężenie flawonoli jest wyższe niż we wcześniejszych grupach.

4.2.3. Profil flawan-3-oli

Zawartość pochodnych flawan-3-oli w owocach białych i czerwonych odmian winogron została przedstawiona w tabelach 18 i 19. W skórce odmian czerwonych całkowita zawartość tych pochodnych mieściła się w zakresie od 121,93 do 740,34 mg/kg śm. odpowiednio dla odmian Frontenac i Acolon, a ich średnia zawartość wyniosła 290,36 mg/kg śm. Odmiana Acolon znacząco odbiegała od średniej; sumaryczna zawartość pochodnych flawan-3-oli w tej odmianie była ponad dwukrotnie wyższa od średniej. Wyższą zawartością flawan-3-oli charakteryzowały się również odmiany Alwood i Svenson Red, odpowiednio 427,97 mg/kg śm. i 373,27 mg/kg śm. Oprócz wspomnianej odmiany Frontenac niższą zawartością flawan-3-oli charakteryzowały się odmiany: Sabrevoice, Regent, Rondo, Heridan i Leon Millot, w których całkowita zawartość tych pochodnych mieściła się w zakresie pomiędzy 192,04 a 225,57 mg/kg śm. W pozostałych odmianach stężenie flawan-3-oli było na podobnym poziomie zbliżonym do średniej.

Spośród pięciu analizowanych pochodnych związek o najwyższym stężeniu była procyanidyna B1. Jej średnie stężenie dla wszystkich odmian wynosiło 170,23 mg/kg śm., co stanowiło ponad 50% sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli. Odmiany: Acolon, Marechal Foch, Rondo, Sabrevoice i Svenson Red charakteryzowały się większym udziałem tej pochodnej, który wynosił ok. 60%. W odmianie Leon Millot udział procyanidyny B1 był zdecydowanie najmniejszy i wynosił 38% sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli. Udział procyanidyny B2 – drugiej co do liczebności pochodnej flawan-3-oli w skórce odmian czerwonych, wynosił średnio 20%, co odpowiadało stężeniu na poziomie 52,02 mg/kg śm. Większy udział procyanidyny B2 stwierdzono w odmianach, w których procyanidyna B1 stanowiła mniejszy odsetek. Największą zawartością procyanidyny B2 charakteryzowała się odmiana Leon Millot; jej udział w sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli wynosił blisko 32%, a wzajemny stosunek obu dimerów wynosił prawie 1:1. Średnie stężenie (-)epikatechiny wynosiło 36,36 mg/kg śm., co stanowiło 15% całkowitej zawartości flawan-3-oli; najmniejszy jej udział stwierdzono w odmianach:

Tabela 18. Średnia zawartość flawan-3-oli w odmianach o czerwonych owocach mg/kg śm.
Table 18. Mean value of flavan-3-ols red grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties													SR	Sb	Rd	Rg	Mq	MF	Lm	Fr	Hr	Skórka/Skin	WR
	Ac ^a	Al	CC	CD	DC	Fr	Hr	Lm	MF	Mq	Rg	Rd	Sb											
1	475,73 ^a	235,33 ^b	147,68 ^c	157,32 ^c	139,94 ^c	69,93 ^f	125,19 ^d	146,77 ^c	193,57 ^b	150,22 ^c	106,29 ^d	132,14 ^d	112,71 ^e	234,65 ^b	126,01 ^d									
2	63,67 ^a	52,06 ^a	32,47 ^b	28,84 ^c	13,29 ^d	7,51 ^e	4,32 ^e	9,99 ^e	10,28 ^d	25,23 ^c	13,95 ^d	11,92 ^d	12,63 ^d	30,65 ^{bc}	37,39 ^b									
3	104,00 ^d	98,43 ^a	55,64 ^b	58,02 ^b	34,55 ^c	23,58 ^d	55,08 ^b	38,34 ^c	29,37 ^d	52,56 ^b	52,53 ^b	43,73 ^{bc}	37,56 ^c	55,17 ^b	41,78 ^c									
4	81,11 ^a	41,50 ^c	43,96 ^b	17,94 ^e	29,12 ^d	18,74 ^c	39,72 ^c	24,12 ^d	24,71 ^d	53,11 ^b	37,75 ^c	29,76 ^d	26,80 ^d	50,17 ^b	26,97 ^d									
5	15,83 ^b	0,65 ^e	3,05 ^c	1,67 ^d	74,06 ^a	2,16 ^d	1,26 ^d	1,44 ^d	1,80 ^d	4,79 ^c	1,85 ^d	2,54 ^c	2,34 ^c	2,62 ^c	5,79 ^c									
Suma	740,34^a	427,97^b	282,80^d	263,80^e	290,97^d	121,93^b	225,57^f	220,66^f	259,73^e	285,91^d	212,36^g	220,09^f	192,04^g	373,27^c	237,93^e									
Total																								
	Miąższ/Pulp																							
1	0,66 ^c	0,80 ^b	0,81 ^b	0,92 ^b	0,30 ^e	0,22 ^e	0,38 ^d	0,84 ^d	1,83 ^a	1,17 ^b	1,24 ^b	1,34 ^a	0,37 ^d	0,36 ^d	0,40 ^d									
2	1,63 ^c	2,65 ^a	2,57 ^a	1,43 ^b	0,62 ^c	0,68 ^c	1,08 ^d	1,44 ^c	2,78 ^a	1,27 ^c	1,91 ^b	1,72 ^b	0,41 ^f	0,74 ^d	1,12 ^c									
3	3,55 ^c	6,22 ^b	4,52 ^c	6,39 ^b	2,10 ^d	1,14 ^c	3,30 ^c	7,25 ^b	9,94 ^a	4,71 ^c	8,95 ^b	10,24 ^a	8,59 ^a	8,22 ^a	2,04 ^d									
4	4,99 ^b	5,27 ^b	7,79 ^a	5,22 ^b	2,59 ^c	2,89 ^c	3,43 ^c	4,98 ^b	8,53 ^a	3,87 ^c	5,68 ^b	5,52 ^b	1,13 ^d	2,88 ^c	3,40 ^c									
5	0,42 ^b	0,90 ^a	0,53 ^b	0,30 ^e	0,15 ^e	0,21 ^d	0,24 ^d	0,45 ^b	0,79 ^a	0,27 ^d	0,32 ^e	0,53 ^b	0,09 ^f	0,13 ^e	0,08 ^f									
Suma	11,25^d	15,85^c	16,21^c	14,26^c	5,76^f	5,14^f	8,42^e	14,96^c	23,87^a	11,31^d	18,10^b	19,35^b	10,60^d	12,34^d	7,05^e									
Total																								

* Ac – Acolon, Al – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabbrevoise, SR – Svenson Red, WR – Wiszntowyj Ranni

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

Tabela 19. Średnia zawartość flawan-3-oli w odmianach o białych owocach mg/kg śm.
 Table 19. Mean value of flavan-3-ols in white grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties																	
	Ad ^a	Ar	Ax	Bc	Gr	Hb	Jh	Jt	KG	Kr	Mr	Mt	Ot	PS	Sv	Sb	Sr	Sl
Skórka/Skin																		
1	247,62 ^a	202,74 ^b	118,58 ^d	95,30 ^e	136,61 ^c	145,65 ^c	211,79 ^b	168,43 ^c	189,13 ^b	208,68 ^b	258,43 ^a	154,24 ^c	82,56 ^e	150,07 ^c	130,50 ^e	99,55 ^e	139,25 ^c	235,18 ^a
2	43,02 ^b	52,54 ^b	37,58 ^c	45,27 ^b	7,49 ^e	54,01 ^b	35,75 ^c	39,59 ^{bc}	75,84 ^a	2,16 ^f	52,83 ^b	79,70 ^a	31,21 ^c	23,74 ^d	50,36 ^b	33,93 ^c	92,03 ^a	80,25 ^a
3	137,44 ^{cd}	108,26 ^d	66,64 ^d	227,75 ^a	185,20 ^b	157,22 ^c	184,94 ^b	158,88 ^c	96,56 ^e	145,27 ^c	99,47 ^e	149,65 ^c	176,53 ^b	119,65 ^d	105,12 ^d	141,07 ^c	148,76 ^c	50,33 ^f
4	32,09 ^e	62,75 ^c	81,50 ^b	73,05 ^c	25,21 ^e	85,24 ^b	31,51 ^d	26,12 ^e	86,32 ^b	82,07 ^b	51,32 ^{cd}	81,33 ^b	126,74 ^a	40,21 ^d	60,11 ^e	32,14 ^e	78,90 ^{bc}	25,07 ^e
5	1,18 ^f	6,12 ^d	1,33 ^f	16,71 ^a	1,07 ^f	12,39 ^b	17,95 ^a	11,09 ^b	1,21 ^f	0,34 ^b	1,16 ^f	5,83 ^d	6,15 ^d	1,54 ^f	2,23 ^e	2,24 ^e	7,11 ^c	0,76 ^e
Suma	461,34^a	432,41^b	305,63^d	458,08^a	355,59^c	454,51^a	481,93^a	404,12^b	449,06^a	438,52^b	463,21^a	470,74^a	423,19^b	335,21^c	348,32^c	308,93^d	466,05^a	391,58^b
Total																		
Miąższ/Pulp																		
1	1,11 ^e	1,24 ^d	1,82 ^b	1,35 ^c	2,85 ^a	1,37 ^c	1,98 ^b	1,28 ^{cd}	1,38 ^c	1,10 ^e	1,86 ^b	1,81 ^b	1,58 ^c	0,83 ^f	1,15 ^e	1,44 ^c	1,74 ^b	1,48 ^c
2	3,82 ^c	2,81 ^c	4,03 ^b	3,33 ^c	5,08 ^{ab}	3,13 ^c	3,93 ^b	5,49 ^a	3,94 ^{bc}	2,66 ^d	6,63 ^a	3,99 ^b	4,04 ^b	1,38 ^e	2,26 ^d	4,55 ^b	2,18 ^d	5,86 ^a
3	4,33 ^{cd}	5,88 ^b	5,47 ^{bc}	5,09 ^c	9,29 ^a	5,02 ^c	4,59 ^c	4,10 ^d	4,77 ^c	4,80 ^c	4,90 ^c	3,88 ^d	6,13 ^b	4,96 ^c	3,00 ^d	3,63 ^d	3,47 ^d	3,44 ^d
4	3,65 ^c	3,61 ^c	5,41 ^b	4,10 ^{bc}	7,52 ^a	3,78 ^c	3,07 ^d	6,36 ^a	4,09 ^c	1,75 ^f	5,94 ^{ab}	4,74 ^c	5,45 ^b	2,56 ^e	2,66 ^d	4,84 ^b	2,03 ^e	4,55 ^b
5	0,58 ^c	0,42 ^d	1,28 ^a	0,67 ^c	1,56 ^a	0,78 ^b	0,57 ^e	1,13 ^{ab}	0,65 ^c	0,48 ^d	0,65 ^c	0,68 ^c	0,91 ^b	0,08 ^g	0,36 ^e	0,65 ^c	0,62 ^c	0,23 ^f
Suma	13,49^d	13,96^d	18,01^b	14,53^c	26,30^a	14,08^c	14,14^d	18,37^b	14,82^c	10,79^e	19,98^b	15,10^c	18,11^b	9,80^e	9,43^e	15,12^c	10,04^e	15,56^c
Total																		

* Ad – Adalmina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernial, Jh – Johanniter, Jt – Jutrzenka, KG – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena, Sl – Solaris

a, b, c... – te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)
 a, b, c... – the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Alwood (9,7%) oraz Wiszniowyj Rannij (11,59%), największy zaś w odmianie Leon Millot (20%). Średni udział (+)katechiny w sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli wynosi 8,54%, co stanowi średnio 23,61 mg/kg śm. Dwukrotnie wyższy udział tej pochodnej zaobserwowano w odmianie Wiszniowyj Rannij, natomiast mniejszy w odmianach Rondo, Regent, Sabrevoice, DeChaunac, Frontenac oraz Marechal Foch. Wzajemny stosunek obu monomerów wyniósł blisko 2 : 1 na korzyść (-)epikatechiny i nie zaobserwowano, aby mniejszy udział monomeru (-)epikatechiny skutkowało zwiększonym udziałem drugiego monomeru całkowitej zawartości pochodnych flawan-3-oli. Galusan (-)epikatechiny był pochodną flawan-3-oli, która występowała w najniższym stężeniu wynoszącym średnio 8,12 mg/kg śm., co stanowiło zaledwie 1,4% całkowitej zawartości pochodnych flawan-3-oli. Zdecydowanie większy udział tej pochodnej stwierdzono w odmianach Acolon (2,14%) i DeChaunac (3,8%), natomiast najmniejszy odsetek występował w odmianach Wiszniowyj Rannij (0,25%) i Alwood (0,15%). Największy udział w sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli w skórce odmian czerwonych stanowiły dimery procyanidynowe; ich łączny udział wyniósł blisko 73%. Monomery (+)katechiny i (-)epikatechiny wynosiły łącznie około 1/4 całkowitej zawartości pochodnych flawan-3-oli, natomiast udział galusanu epikatechiny był marginalny i stanowił niecałe 1,5%.

W miąższu czerwonych owoców całkowita zawartość flawan-3-oli była znacznie niższa niż w skórce i mieściła się w zakresie od 5,14 mg/kg śm. w odmianie Frontenac do 23,87 mg/kg w odmianie Marechal Foch. Średnia zawartość pochodnych flawan-3-oli w miąższu dla wszystkich odmian czerwonych winogron wynosiła 12,96 mg/kg śm. Oprócz odmiany Frontenac najniższą zawartością tych pochodnych charakteryzowały się również odmiany: DeChaunac, Wiszniowyj Rannij i Heridan – odpowiednio: 5,76 mg/100g śm., 7,05 mg/kg śm. i 8,42 mg/kg śm. Odmiany Regent oraz Rondo charakteryzowały się natomiast znacznie większym stężeniem flawan-3-oli w stosunku do średniej, odpowiednio: 18,1 mg/kg śm. i 19,35 mg/kg śm.

W odróżnieniu od skórki związkiem dominującym w miąższu była procyanidyna B2. Jej udział w sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli wyniósł blisko 44% i był dwukrotnie wyższy niż w skórce. Średnia zawartość tej pochodnej dla wszystkich odmian wynosiła 5,81 mg/kg śm. Najwyższe stężenie tego związku odnotowano w odmianach: Rondo, Marechal Foch, Regent, Sabrevoice i Svenson Red, odpowiednio: 10,24 mg/kg śm., 9,94 mg/kg śm., 8,95 mg/kg śm., 8,59 mg/kg śm. i 8,22 mg/kg śm. W odmianie Sabrevoice udział procyanidyny B2 stanowił blisko dwukrotną wartość średniej i wyniósł 80% sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli. Najmniejszym stężeniem procyanidyny B2 charakteryzowały się odmiany: Frontenac, DeChaunac oraz Wiszniowyj Rannij – odpowiednio: 1,14 mg/kg śm., 2,1 mg/kg śm. i 2,37 mg/kg śm., również ich procento-

wy udział był mniejszy w stosunku do średniej. W porównaniu do skórki również (-)epikatechina wykazywała ponad dwukrotnie wyższy udział w całkowitej zawartości pochodnych flawan-3-oli. Jej średnie stężenie dla wszystkich odmian wynosiło 4,54 mg/kg śm., a udział procentowy obejmował 36,63% całkowitej zawartości flawan-3-oli. Średnie stężenie (+)katechiny w miąższu odmian czerwonych dla wszystkich odmian wynosiło 1,47 mg/kg śm., co stanowiło 11% udziału w sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli. W porównaniu do skórki największą różnicę zaobserwowano dla dimeru procyanidyny B1. Jej średnie stężenie dla wszystkich odmian wynosiło 0,78 mg/kg śm., co stanowiło zaledwie niecałe 6% całkowitej zawartości flawan-3-oli w miąższu. Udział galusanu epikatechiny również był większy w porównaniu do skórki, jego średnie stężenie dla wszystkich odmian równało się 0,36 mg/kg śm. co stanowiło niecałe 3% sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli – dwukrotnie więcej niż w skórce. Udział monomerów i dimerów procyanidynowych w całkowitej zawartości flawan-3-oli był bardzo zbliżony. Udział obu grup pochodnych wynosił średnio ok. 50% ze stosunkiem 1:1. Od tej tendencji wyraźnie odstawała odmiana Sabrevoice, w której udział dimerów procyanidynowych sięgał 85%. Również w odmianach Svenson Red i Rondo udział dimerów był stosunkowo większy w porównaniu do średniej. Większy udział monomerów z kolei zaobserwowano w odmianach: Frontenac, Wiszniowyj Rannij, Cabernet Cortis i Acolon.

Skórka białych odmian winogron w porównaniu do czerwonych charakteryzowała się większą zawartością flawan-3-oli. Stężenie tych pochodnych w skórce białych owoców mieściło się w zakresie od 305,63 mg/kg śm. do 481,93 mg/kg śm. odpowiednio dla odmian Auxerrois i Johanniter. Średnia zawartość flawan-3-oli w skórce dla wszystkich odmian wynosiła 413,8 mg/kg śm. i była wyższa o 42% w stosunku do odmian czerwonych. Obok odmiany Johanniter również odmiany: Muscat, Serena, Bianca i Adalmiina charakteryzowały się wyższą zawartością w porównaniu do średniej, odpowiednio: 470,74 mg/kg śm., 466,05 mg/kg śm., 458,08 mg/kg śm., 461,34 mg/kg śm. Niższą zawartością w stosunku do średniej odznaczały się odmiany: Sibera (308,93 mg/kg śm.), Prairie Star (335,21 mg/kg śm.), Grosso (355,59 mg/kg śm.), Seyval Blanc (348,32 mg/kg śm.) i Solaris (391,58 mg/kg śm.) W pozostałych odmianach stężenie pochodnych flawan-3-oli było na wyrównanym poziomie nieznacznie odbiegającym od średniej. Związkami dominującymi były procyanidyna B1 oraz procyanidyna B2. Ich średnie stężenie dla wszystkich odmian wynosiło odpowiednio 165,24 mg/kg śm. i 136,6 mg/kg śm., wzajemny stosunek wyniósł blisko 1 : 1, a łączna zawartość stanowiła blisko 70% sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli w skórce. Inaczej było w skórce odmian czerwonych, gdzie wyraźnie dominowała procyanidyna B1, a procyanidyna B2 stanowiła mniej niż połowę jej ilości. Monomery (+)katechina i (-)epikatechina stanowiły drugą co do wielkości grupę; ich średni

udział w całkowitej zawartości flawan-3-oli wynosił odpowiednio 14 i 16%, a wzajemny stosunek, podobnie jak w przypadku dimerów procyjanidynowych, był zbliżony do 1 : 1, odmiennie niż w odmianach czerwonych, gdzie przeważała (-)epikatechina. Galusan epikatechiny stanowił nieco ponad 1% w sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli w skórce, podobnie jak w odmianach czerwonych.

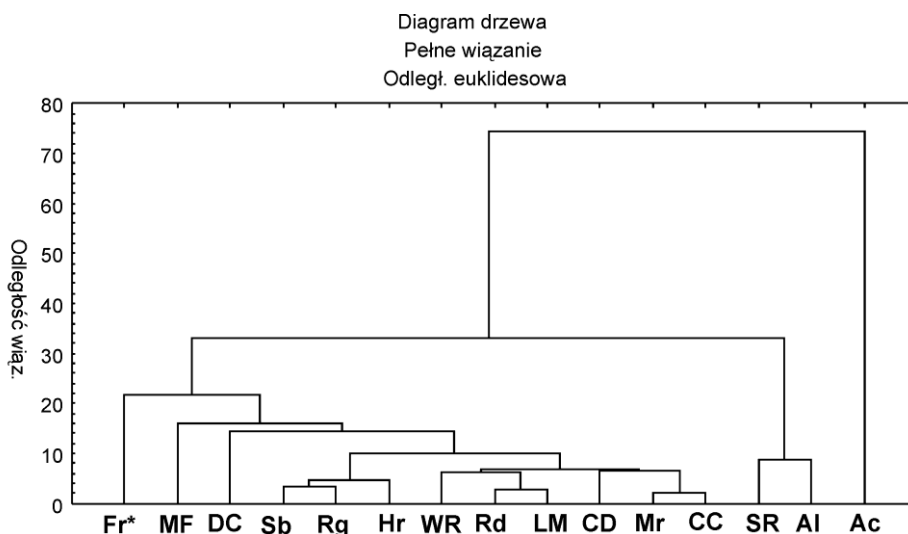
Średnia zawartość flawan-3-oli w miąższu białych winogron była zdecydowanie mniejsza niż w skórce i wynosiła 15,09 mg/kg śm. Poszczególne odmiany różniły się między sobą całkowitą zawartością flawan-3-oli, która mieściła się w zakresie od 9,43 mg/kg śm. do 26,3 mg/kg śm. odpowiednio dla odmian Seyval Blanc i Grosso. Mniejszą zawartością pochodnych flawan-3-oli charakteryzowały się odmiany: Prairie Star, Serena i Kristaly, gdzie suma tych pochodnych była mniejsza o ok. 50% w stosunku do średniej i wynosiła odpowiednio: 9,8 mg/kg śm., 10,04 mg/kg śm. i 10,79 mg/kg śm. Natomiast w odmianach: Muscaris, Jutrzenka, Ortega i Auxerrois zawartość flawan-3-oli była zdecydowanie większa niż średnia dla wszystkich odmian i wynosiła odpowiednio 19,98 mg/kg śm., 18,37 mg/kg śm., 18,11 mg/kg śm. i 18,01 mg/kg śm. Pochodną dominującą, podobnie jak w przypadku miąższu odmian czerwonych, była procyjanidyna B2, której udział w sumarycznej zawartości flawan-3-oli stanowił średnio 33%. (+)katechina i (-)epikatechina stanowiły łącznie połowę omawianych pochodnych, a ich wzajemny stosunek wynosił 1 : 1, podobnie jak w skórce. Stężenie procyjanidyny B1w miąższu wynosiło średnio 1,52 mg/kg śm., co stanowiło 10% całkowitej zawartości flawan-3-oli. Średni udział galusanu epikatechiny w sumarycznej zawartości flawan-3-oli w porównaniu do skórki wzrósł blisko czterokrotnie i sięgał 3,98%. Monomery w miąższu odmian białych stanowiły średnio 52%, a dimery procyjanidynowe blisko 44% sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli. Do odmian, w których stwierdzono znacznie większy udział monomerów, należały: Solaris, Jutrzenka, Muscaris i Sibera, natomiast w odmianach Praire Star, KyGrey i Kristaly większy udział miały dimery procyjanidynowe. Udział galusanu epikatechiny w sumarycznej zawartości flawan-3-oli wynosił blisko 4%. Najmniejszy jego udział zaobserwowano w odmianie Prairie Star (0,79%), natomiast najwyższy w odmianach: Auxerrois (7,11%), Jutrzenka (6,18%) i Siegerrebe (6,15%).

Profil flawan-3-oli, podobnie jak pozostałe grupy związków polifenolowych w winogronach, jest zależny w dużej mierze od czynników genetycznych i panujących warunków zewnętrznych. Ich biosynteza przebiega głównie w trakcie kilku tygodni po kwitnieniu (Kennedy i in. 2001; Downey i in. 2003). W skórce ich skład ilościowy i jakościowy podlega niewielkim zmianom podczas okresu dojrzewania (Fournand i in. 2006). Inni autorzy twierdzą z kolei, że w trakcie dojrzewania zmieniają się proporcje pomiędzy poszczególnymi pochodnymi,

stężenie monomerów i dimerów flawan-3-oli maleje, a rośnie stężenie polimerów proantocyjanidynowych (Kennedy i in. 2002). Akumulacja flawan-3-oli w nasionach jest opóźniona w stosunku do skórki, maksymalne stężenie osiągnięte jest po kilku tygodniach od rozpoczęcia dojrzewania (Bogs i in. 2005). Profil jakościowy flawan-3-oli jest pod silnym wpływem czynników genetycznych, ilość występujących pochodnych jest różna w zależności od analizowanych odmian. W skórcie ilość zidentyfikowanych związków wynosi od 16 w odmianie Muscat de Hambourg (Souquet i in. 2006) do 86 w odmianie Cabernet Sauvignon (Managas i in. 2003). W nasionach natomiast wynosi od 3 w odmianie Pinot noir (Mene i in. 2007) do 10 w odmianie Maccabeo (Souquet i in. 2006). Należy podkreślić, że tak drastyczne rozbieżności wśród autorów mogą wynikać ze stosowanych odrębnych metod analizy. Na przykład niektórzy autorzy oddzielają oligomery od polimerów, podczas gdy inni nie stosują tego zabiegu. Stopień hydroksylacji pierścienia B, a dokładniej udział podjednostek trihydroksylowych, również stanowi czynnik podlegający zmienności odmianowej. W skórcie odmiany Cabernet Sauvignon ich zawartość wynosi 36%, podczas gdy w odmianie Maccabeo zaledwie 3% (Souquet i in. 2006). Zawartość pochodnych zawierających kwas galusowy także może stanowić kryterium chemotaksonomiczne. Ich procentowy udział w skórcie i nasionach jest niezależny i wynosi odpowiednio od 1,1 do 6,5 w skórcie i od 9,5 do 20,6 w nasionach (Mane i in. 2007a; Souquet i in. 2006; Monagas i in. 2003).

Całkowita zawartość flawan-3-oli podawana w analizach różni się znacząco, przez co jest trudna do porównania. Wartości, jakie można znaleźć w literaturze, mieszczą się w pewnych zakresach. W skórcie zawartość flawan-3-oli wynosi pomiędzy 1,76 g/kg śm. w odmianie Mourvede a 3,15 g/kg śm. w odmianie Muscat de Hambourg (Downey i in. 2003a; Cortel i in. 2005; Fournand i in. 2006; Souquet i in. 2006; Mane i in. 2007b). W nasionach stężenie flawan-3-oli jest zazwyczaj mniejsze, owoce odmiany Maccabeo zawierają dwa razy mniej proantocyjanidyn w porównaniu do skórki (Souquet i in. 2006). Natomiast w odmianie Pinot noir flawan-3-ole nasion stanowią 60% całkowitej zawartości tych pochodnych w owocach (Mane i in. 2007b). Czynniki środowiskowe mogą w pewnym stopniu wpływać na zawartość flawan-3-oli. Znaczące różnice odnotowano w owocach wystawionych na ekspozycję słoneczną. W skórcie proantocyjanidyny wykazywały wyraźną tendencję wzrostową, w szczególności pochodne zawierające podjednostki trihydroksylowe (Downey i in. 2004; Cortel i Kennedy 2006). Owoce zacienione produkowały mniejsze ilości proantocyjanidyn, jednak w momencie zbioru ich ilość była porównywalna. Większość autorów podziela również zdanie, że stres wodny tylko w niewielkim stopniu wpływa na zawartość flawan-3-oli w owocach (Ojeda i in. 2002; Kennedy i in. 2002; Castellarin i in. 2006).

Na podstawie analizy skupień dla flawan-3-oli w odmianach o czerwonych owocach uzyskano dendrogram grupujący poszczególne odmiany głównie na podstawie stężenia tych pochodnych. Jedynie w dwóch grupach czynnikiem dodatkowym był udział poszczególnych rodzajów pochodnych. Odmiany Frontenac, Marechal Foch, DeChaunac (grupa I) oraz Svenson Red i Aulwood (grupa II) charakteryzowały się najmniejszym udziałem monomerów katechinowych. Odmiana Acolon wyraźnie odstawała od reszty ze względu na zdecydowanie wyższe stężenie flawan-3-oli w stosunku do pozostałych odmian.

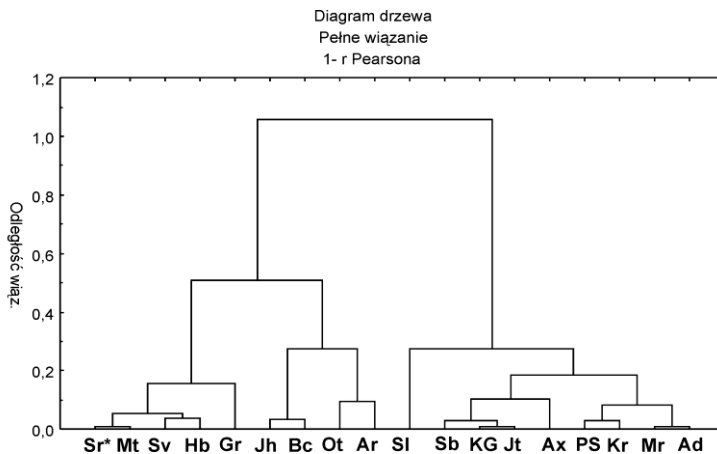


Rysunek 15. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla flawan-3-oli w odmianach o czerwonych owocach

Figure 15. Hierarchical cluster analysis applied to flavan-3-ols of red grapes

* Ac – Acolon, AI – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij

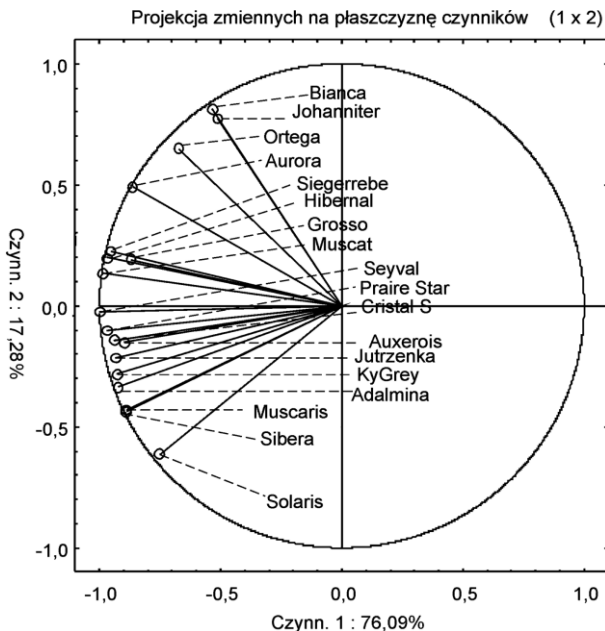
Analizując podobny dendrogram dla odmian o białych owocach, okazuje się, że zdecydowanie większy wpływ w tworzeniu klastrow miał udział poszczególnych rodzajów pochodnych flawan-3-oli. Powstało tutaj 7 grup skupiających odmiany o podobnym stosunku monomerów katechinowych do dimerów procyjanidynowych. Analiza głównych składowych wyjaśnia 93,37% wariacji międzygrupowych, przy czym pierwszy czynnik uzasadnia 76,09% zmienności wariacyjnej, a drugi 17,28 wariacji. Większy rozdział następuje pomiędzy czynnikiem pierwszym a sumaryczną zawartością flawan-3-oli. Drugi czynnik zależy od wielkości udziału monomerów katechinowych w sumarycznej zawartości pochodnych flawan-3-oli.



Rysunek 16. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla flawan-3-oli w odmianach o białych owocach

Figure 16. Hierarchical cluster analysis applied to flavan-3-ols of white grapes

* Ad – Adalmina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernial, Jh – Johanniter, Jt – Jutrzenka, KG – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena



Rysunek 17. Analiza głównych składowych, wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych w białych winogronach

Figure 17. Principal component analysis with distribution of analyzed varieties of white grapes

4.2.4. Profil fenolokwasów

Zawartość fenolokwasów w skórce i miąższu czerwonych odmian winogron została przedstawiona w tabeli 20. W skórce stężenie kwasów fenolowych mieściło się w zakresie pomiędzy 14,93 mg/kg śm. a 39,51 mg/kg śm. odpowiednio dla odmian Cabernet Dorsa i Svenson Red. Średnia zawartość dla wszystkich odmian wynosiła 21,20 mg/kg śm. Mniejszą zawartością w stosunku do średniej charakteryzowały się odmiany Frontenac, Marguette, Cabernet Cortis, Leon Millot i Sabrevoice, w których całkowite stężenie fenolokwasów wynosiło odpowiednio: 15,76 mg/kg śm., 16,49 mg/kg śm., 16,46 mg/kg śm., 17,74 mg/kg śm. i 17,67 mg/kg śm. Wyższą zawartością w porównaniu do średniej charakteryzowały się z kolei odmiany Acolon (31,71 mg/kg śm.) i Alwood (27,46 mg/kg śm.), w pozostałych odmianach całkowite stężenie kwasów fenolowych było wyrównane i zbliżone do wartości średniej. Dominującym związkiem wśród analizowanych fenolokwasów był kwas kawowo-winowy. Jego średnie stężenie wynosiło 15,50 mg mg/kg śm., co stanowiło blisko 77% sumarycznej zawartości fenolokwasów w skórce. W czterech odmianach: Cabernet Dorsa, Wiszniowyj Rannij, Alwood i Heridan, stwierdzono znacząco większy udział tej pochodnej w całkowitej zawartości fenolokwasów wynoszący ponad 80%; w pierwszej z nich było nawet 87%. Z kolei w odmianach Regent i Rondo kwas kawowo-winowy stanowił mniejszy odsetek w porównaniu do średniej wynoszący ok. 60%. Średnia zawartość kwasu kumarowo-winowego, drugiego co do poziomu stężenia w skórce, wynosiła 3,95 mg/100 g śm., co stanowiło 20% sumarycznej zawartości fenolokwasów. Wyższą zawartością tego kwasu, stanowiącą 1/3 sumarycznej zawartości fenolokwasów, charakteryzowały się odmiany Rondo i Regent, w których stwierdzono mniejszy odsetek kwasu kawowo-winowego. Najmniejszy zaś udział kwasu kumarowo-winowego, wynoszący ok. 10% całkowitej zawartości fenolokwasów, zaobserwowano dla odmian Cabernet Dorsa, Heridan i Alwood. W tych odmianach z kolei odnotowano najwyższy udział kwasu kawowo-winowego. Wskazywało to na pewną zależność istniejącą pomiędzy tymi pochodnymi, wynikającą prawdopodobnie z aktywności enzymatycznej esterazy, wykorzystującej jako substrat reszty kwasu kawowego bądź kumarowego. Łączna zawartość powyższych związków stanowiła ponad 96% sumarycznej zawartości fenolokwasów w skórce. Pozostałe kwasy fenolowe stanowiły łącznie niecałe 3%. Zdecydowaną większość wykazywały pochodne kwasu hydroksycynamonowego, które osiągały blisko 98% sumarycznej zawartości fenolokwasów w skórce czerwonych odmian winogron.

Tabela 20. Średnia zawartość fenolokwasów w odmianach o czerwonych owocach mg/kg śm.
Table 20. Mean value of phenolic acids in red grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties														
	Ac*	Al	CC	CD	DC	Fr	Hr	LM	MF	Mq	Rg	Rd	Sb	SR	WR
Skórka/Skin															
1	0,60 ^c	0,22 ^c	0,19 ^f	0,88 ^a	0,15 ^f	0,28 ^c	0,86 ^a	0,35 ^d	0,98 ^a	0,63 ^c	0,23 ^e	0,78 ^b	0,19 ^f	0,20 ^{ef}	0,60 ^c
2	24,70 ^b	22,71 ^b	11,10 ^e	9,88 ^d	14,35 ^d	11,55 ^d	12,23 ^d	13,05 ^d	16,00 ^c	12,79 ^d	13,49 ^d	10,84 ^e	12,30 ^d	29,07 ^a	18,49 ^c
3	1,05 ^a	0,33 ^c	0,14 ^e	0,11 ^f	0,41 ^b	0,12 ^e	0,51 ^b	0,45 ^b	0,11 ^f	0,43 ^b	0,26 ^d	0,26 ^d	0,17 ^e	0,36 ^c	0,97 ^a
4	0,80 ^a	0,12 ^g	0,47 ^d	0,79 ^{ab}	0,13 ^g	0,25 ^f	0,91 ^a	0,82 ^a	0,75 ^b	0,13 ^g	0,12 ^g	0,37 ^e	0,11 ^g	0,15 ^g	0,61 ^c
5	4,33 ^c	3,30 ^d	4,26 ^c	3,23 ^d	2,85 ^e	3,39 ^d	3,30 ^d	2,89 ^e	2,30 ^{ef}	2,25 ^f	7,06 ^a	5,76 ^b	4,16 ^c	8,87 ^a	1,25 ^f
6	0,23 ^e	0,79 ^b	0,30 ^f	0,03 ^h	0,95 ^a	0,19 ^f	0,54 ^{cd}	0,19 ^f	0,24 ^e	0,28 ^e	0,44 ^d	0,64 ^e	0,73 ^b	0,87 ^a	0,52 ^d
Suma	31,71^b	27,46^c	16,46^f	14,94^f	18,83^e	15,77^f	18,35^e	17,74^e	20,38^d	16,50^f	21,60^d	18,65^e	17,67^e	39,51^a	22,44^d
Total															
Miąższ/Pulp															
1	4,35 ^a	0,78 ^c	1,62 ^{bc}	0,30 ^g	0,21 ^h	0,35 ^g	0,85 ^d	1,11 ^c	0,58 ^f	0,67 ^f	1,36 ^c	1,95 ^b	0,06 ⁱ	0,35 ^g	0,13 ⁱ
2	9,30 ^a	1,85 ^c	2,41 ^d	1,68 ^c	1,10 ^f	0,25 ^f	0,43 ⁱ	0,76 ^g	0,62 ^{gh}	3,58 ^c	0,42 ⁱ	0,90 ^f	1,22 ^f	0,52 ^h	5,71 ^b
3	0,84 ^a	0,11 ^b	0,09 ^b	0,10 ^b	0,04 ^e	0,02 ^f	0,03 ^e	0,05 ^d	0,05 ^d	0,06 ^d	0,07 ^c	0,07 ^c	0,03 ^e	0,04 ^e	0,08 ^c
4	0,01	śl**	śl	śl	śl	śl	śl	śl	śl	śl	śl	śl	śl	śl	śl
5	0,62 ^a	0,19 ^d	0,47 ^c	0,05 ^g	0,18 ^d	0,03 ^g	0,05 ^g	0,08 ^f	0,10 ^f	0,19 ^d	0,10 ^f	0,14 ^e	0,20 ^d	0,17 ^d	0,31 ^b
6	0,17 ^a	ś	śl	0,02 ^b	śl	śl	śl	śl	śl	0,01 ^c	śl	śl	0,01 ^c	śl	śl
Suma	15,29^a	2,93^d	4,60^c	2,16^d	1,52^e	0,66^f	1,37^e	2,01^d	1,37^e	4,52^c	1,96^d	3,06^{cd}	1,52^e	1,07^f	6,24^b
Total															

* Ac – Acolon, Al – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabbrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij

** śl – ilości śladowe/traces

a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Zawartość fenolokwasów w mięszu czerwonych odmian była blisko siedmiokrotnie niższa w porównaniu do skórki. Średnia zawartość dla wszystkich odmian wynosiła 3,35 mg/kg śm. Znacząco odbiegała tutaj odmiana Acolon, w której stężenie fenolokwasów wynosiło 15,28 mg/kg śm. i było porównywalne z zawartością fenolokwasów w skórcie. Dwukrotnie wyższą zawartością kwasów fenolowych w porównaniu do średniej charakteryzowały się odmiany Wiszniowyj Rannij (6,24 mg/kg śm.), Cabernet Corsa (4,60 mg/1kg śm.) oraz Marquette (4,51 mg/kg śm.). Najniższą zawartość stwierdzono w odmianie Frontenac (0,67 mg/kg śm.). Odsetek poszczególnych związków wchodzących w skład profilu fenolokwasów w mięszu prezentował się odmiennie niż w skórcie. Udział kwasu kawowo-winowego był mniejszy niż w skórcie i stanowił średnio 55% sumarycznej zawartości fenolokwasów w mięszu. Wyraźnie odstawała tutaj odmiana Wiszniowyj Rannij, w której pochodna ta stanowiła ponad 90% całkowitej zawartości fenolokwasów. Również odmiany: Sabrevoice, Marquette, Cabernet Dorsa i DeChaunac, charakteryzowały się większym stężeniem tego związku w całkowitej zawartości kwasów fenolowych w mięszu, który wynosił ok. 80%. Najniższy procent tego związku, podobnie jak w skórcie, stwierdzono w odmianach Rondo i Regent, odpowiednio 20% i 30% sumarycznej zawartości fenolokwasów w mięszu. Zawartość kwasu kumarowo-winowego była znacznie mniejsza niż w skórcie i stanowiła niecałe 7% całkowitej zawartości fenolokwasów. Bardzo znacząco wzrósł za to poziom kwasu galusowego, którego odsetek w sumarycznej zawartości fenolokwasów wyniósł średnio ok. 35%. W odmianach Regent, Rondo i Heridan był nawet związkiem dominującym, stanowiącym blisko 70% sumarycznej zawartości fenolokwasów w mięszu czerwonych odmian winogron. Wśród pozostałych kwasów zaobserwowano również ponad dwukrotny wzrost udziału kwasu protokatechowego. Udział pochodnych kwasu hydroksybenzoowego był również większy w ogólnej zawartości fenolokwasów i wynosił średnio 38%. Odmiany Wiszniowyj Rannij i Sabrevoice charakteryzowały się podobnym stosunkiem obu rodzajów pochodnych, jak to miało miejsce w skórcie. Tutaj zdecydowanie dominowały pochodne kwasu hydroksycynamonowego, których zawartość wynosiła ponad 90% całkowitej zawartości fenolokwasów w mięszu.

W skórcie białych odmian winogron stwierdzono wyższe stężenie fenolokwasów (tabela 21); mieściło się ono w zakresie od 26,35 mg/kg śm. w odmianie Muscaris do 43,14 mg/kg śm. w odmianie Sibera. Średnia zawartość dla wszystkich odmian wynosiła 33,22 mg/kg śm. Muscat i Hibernál należały do odmian, w których stwierdzono niższe stężenie kwasów fenolowych w stosunku do średniej, natomiast w odmianach Aurora i Ortega było ono większe. Pozostałe odmiany charakteryzowały się dość wyrównanym poziomem stężenia fenolokwasów, nieznacznie odbiegającym od średniej. Wynoszący ponad 80% udział w ogólnej zawartości fenolokwasów w skórcie białych odmian miały obie po-

chodne kwasu winowego, których wzajemny stosunek wyniósł blisko 1 : 1. W odmianie Grosso zaobserwowano większy odsetek estru kawowo-winowego, natomiast w odmianie Hiberna kwas kumarowo-winowy był związkiem dominującym, w obu przypadkach ich stężenie stanowiło 60% sumarycznej zawartości fenolokwasów w skórce. Kwas protokatechowy stanowił trzeci związek pod względem stężenia, jego średni udział w sumarycznej zawartości fenolokwasów wynosił blisko 7%. Wyjątek stanowi tutaj odmiana Prairie Star, gdzie kwas protokatechowy był związkiem dominującym, a jego odsetek w całkowitej zawartości fenolokwasów w skórce wynosił 1/3. W porównaniu do skórki odmian czerwonych również stężenie kwasu kumarowego było większe, wynoszące średnio ok. 4% całkowitej zawartości fenolokwasów. Największy jego udział odnotowano w odmianie Kristaly – 17%. Udział pozostałych kwasów: galusowego i ferulowego był podobny jak w skórce odmian czerwonych z wyjątkiem odmiany Kristaly, gdzie udział kwasu galusowego był zdecydowanie większy i stanowił 10% ogólnej zawartości fenolokwasów w skórce. Sumaryczny udział wszystkich pochodnych kwasu cynamonowego stanowił średnio ponad 90%.

Podobnie jak w mięszu odmian czerwonych, również w mięszu odmian białych stężenie fenolokwasów było mniejsze. Średnie stężenie dla wszystkich odmian wynosiło 5,63 mg/kg śm. Dwukrotnie wyższym stężeniem kwasów fenolowych w mięszu charakteryzowała się odmiana Jutrzenka (10,56 mg/kg śm.). Udział poszczególnych związków w całkowitym profilu również był podobny jak w mięszu odmian czerwonych. Największy odsetek stanowił kwas kawowo-winowy (50%), na drugim miejscu znalazł się kwas galusowy z 25% udziałem w całkowitej zawartości fenolokwasów. W porównaniu do czerwonych odmian kwas kumarowo-winowy stanowił większy odsetek wynoszący blisko 1/5 sumarycznej zawartości kwasów fenolowych. Średni udział pochodnych kwasu cynamonowego wynosił blisko 72% sumarycznej zawartości fenolokwasów w mięszu. Wyjątek stanowią tutaj odmiany: Adalmina, Ortega i Sibera, w których pochodne te stanowią ponad 90% całkowitej zawartości kwasów fenolowych.

Stężenie kwasów fenolowych jest w mniejszym stopniu zależne od panujących czynników zewnętrznych. Ich synteza zostaje zakończona jeszcze przed rozpoczęciem dojrzewania, w trakcie którego nie dochodzi do dużych wahań stężenia. Całkowita zawartość może zostać obniżona w trakcie wzrostu gron poprzez rozcieńczenie spowodowane akumulacją wody (Tian i in. 2009). Oszacowanie całkowitej zawartości kwasów fenolowych nie jest zadaniem łatwym ze względu na fakt, iż fenolokwasy tworzą liczne połączenia estrowe. Występują przeważnie w formie związanej, jako składowe lignin i tanin, w postaci estrów i glikozydów, dodatkowo niektóre mogą tworzyć acylowane pochodne z innymi grupami związków (np. antocyjanami). Na stężenie fenolokwasów zasadniczy wpływ mają czynniki genetyczne, a więc różni się ono w zależności od odmiany.

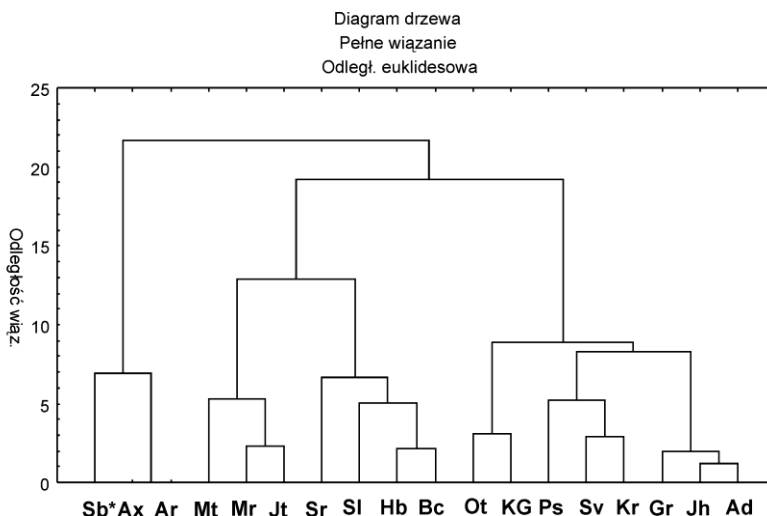
Tabela 21. Średnia zawartość fenolokwasów w odmianach o białych owocach mg/kg śm.
Table 21. Mean value of phenolic acids in white grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties																	
	Ad ^a	Ar	Ax	Bc	Gr	Hb	Hh	Jt	Kg	Kr	Mr	Mt	Ot	PS	Sv	Sb	Sr	SI
Skórka/Skin																		
1	0,32 ^b	0,18 ^d	0,07 ^f	0,11 ^e	0,27 ^{bc}	0,10 ^e	0,30 ^b	0,22 ^d	0,32 ^b	0,12 ^e	0,15 ^d	0,25 ^c	0,08 ^f	0,26 ^c	0,15 ^d	0,18 ^d	0,13 ^c	0,82 ^a
2	19,06 ^a	18,34 ^b	16,10 ^b	12,47 ^c	19,62 ^a	12,28 ^c	19,08 ^a	14,69 ^b	22,57 ^a	20,25 ^a	14,36 ^c	16,32 ^b	22,77 ^a	19,92 ^a	18,67 ^b	20,89 ^a	15,61 ^b	14,08 ^b
3	0,42 ^f	1,26 ^c	0,93 ^d	1,04 ^d	0,99 ^d	0,49 ^f	0,41 ^f	0,75 ^e	0,21 ^g	0,89 ^d	0,58 ^f	0,70 ^f	0,90 ^d	2,26 ^a	0,56 ^f	0,45 ^f	1,60 ^b	0,17 ^g
4	0,72 ^a	0,60 ^b	0,45 ^c	0,41 ^c	0,57 ^b	0,45 ^c	0,41 ^c	0,27 ^e	0,28 ^e	0,19 ^f	0,22 ^e	0,36 ^d	0,50 ^b	0,59 ^b	0,31 ^d	0,37 ^{cd}	0,23 ^c	0,27 ^d
5	14,89 ^c	18,04 ^b	15,81 ^c	14,36 ^c	14,13 ^c	15,14 ^c	14,34 ^c	11,97 ^d	11,51 ^d	10,47 ^d	10,93 ^d	9,48 ^c	13,11 ^d	12,20 ^d	10,21 ^e	20,97 ^a	13,73 ^c	16,43 ^b
6	0,06 ^g	0,14 ^f	0,80 ^a	0,84 ^a	0,19 ^{ef}	0,11 ^f	0,37 ^d	0,83 ^a	0,91 ^a	0,22 ^e	0,11 ^f	0,33 ^{de}	0,75 ^b	0,73 ^b	0,12 ^f	0,28 ^e	0,14 ^f	0,48 ^c
Suma	35,48^c	38,55^b	34,16^c	29,23^d	35,77^c	28,57^d	34,91^c	28,72^d	35,80^c	32,14^d	26,35^e	27,43^c	38,11^b	35,95^c	30,01^d	43,14^a	31,44^d	32,26^d
Total																		
Miąższ/Pulp																		
1	1,50 ^e	1,75 ^d	1,55 ^c	1,31 ^d	1,35 ^d	1,48 ^e	1,61 ^b	2,83 ^a	1,47 ^e	1,25 ^d	1,65 ^b	1,60 ^b	1,24 ^d	1,17 ^e	1,46 ^c	1,52 ^c	1,21 ^e	1,75 ^b
2	2,66 ^d	2,33 ^c	2,69 ^d	1,02 ^g	2,24 ^e	1,22 ^g	1,23 ^g	5,59 ^a	2,86 ^d	2,15 ^f	2,85 ^d	3,29 ^c	2,13 ^f	2,18 ^f	1,75 ^g	4,28 ^b	0,21 ⁱ	0,55 ^b
3	0,01 ^e	0,04 ^c	0,03 ^d	0,03 ^d	0,09 ^a	0,03 ^d	0,03 ^d	0,04 ^c	0,01 ^e	0,01 ^e	0,05 ^b	0,04 ^c	0,02 ^d	0,03 ^d	0,02 ^d	0,02 ^d	0,09 ^g	0,01 ^e
4	0,01 ^c	0,02 ^b	0,01 ^c	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^b	0,01 ^c	0,01 ^c	0,03 ^a	0,01 ^c	0,02 ^b	0,02 ^b	0,01 ^c	0,02 ^b	0,02 ^b	0,01 ^c	0,01 ^c
5	1,00 ^f	1,68 ^d	1,21 ^e	1,41 ^c	1,21 ^e	1,71 ^d	1,34 ^c	2,06 ^c	1,59 ^d	1,17 ^f	1,52 ^d	3,50 ^a	2,45 ^b	2,12 ^b	2,46 ^b	1,22 ^e	2,35 ^b	1,14 ^f
6	0,02 ^d	0,02 ^d	0,01 ^e	0,02 ^d	0,02 ^d	0,06 ^a	0,04 ^b	0,03 ^c	0,00	0,03 ^c	0,01 ^e	0,03 ^c	0,02 ^d	0,01 ^e	0,02 ^d	0,03 ^c	0,01 ^e	0,01 ^e
Suma	5,20^e	5,84^c	5,49^c	3,82^f	4,93^d	4,52^e	4,26^e	10,56^a	5,96^c	4,61^c	6,09^c	8,47^b	5,88^c	5,54^e	5,72^c	7,09^b	3,87^f	3,46^f
Total																		

* Ad – Adalmiina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernal, Jh – Johanniter, Jt – Jutrzenka, Kg – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena, SI – Solaris

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

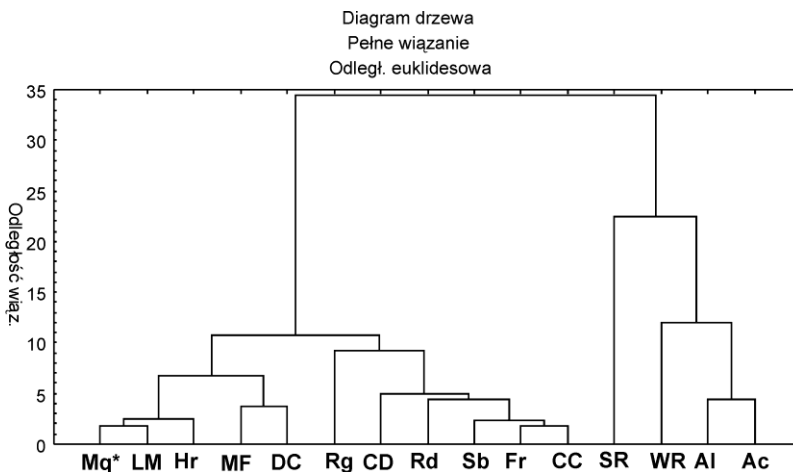
a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)



Rysunek 18. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla fenolokwasów w odmianach o białych owocach

Figure 18. Hierarchical cluster analysis applied to phenolic acids of white grapes

* Ad – Adalmiina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernial, Jh – Johanniter, Jt – Jutrzenka, KG – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena, Sl – Solaris



Rysunek 19. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla fenolokwasów w odmianach o czerwonych owocach

Figure 19. Hierarchical cluster analysis applied to phenolic acids of red grapes

* Ac – Acolon, Al – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij

Spośród 344 przebadanych europejskich odmian stężenie fenolokwasów zawierało się w przedziale od 66 mg/kg śm. w odmianie Thompson Seedless do 882 mg/kg śm. w odmianie Melon, ze średnią zawartością wynoszącą 194 mg/kg śm. (Liang i in. 2011). W niniejszym opracowaniu poziom fenolokwasów mieści się w przyjętym zakresie i nie różni się znacząco od winogron uprawianych w innych rejonach Europy. Zarówno skład jakościowy, jak i udział poszczególnych pochodnych znajdują potwierdzenie w innych opracowaniach.

Analizując dendrogramy uzyskane w wyniku analizy skupień zarówno w odmianach o owocach czerwonych, jak i białych (rys. 18 i 19) uzyskano grupowanie w oparciu o stężenie fenolokwasów występujące w poszczególnych odmianach. Nie stwierdzono innego kryterium podobieństwa.

4.2.5. Profil stilbenów

Zawartość stilbenów w skórce czerwonych odmian winogron została przedstawiona w tabeli 22. Wśród 15 analizowanych odmian stwierdzono bardzo dużą, dziesięciokrotną rozpiętość stężenia stilbenów, które mieściło się w zakresie od 9,10 mg/kg śm. do 95,24 mg/kg śm. Najmniejsze stężenie odnotowano w odmianie Cabernet Cortis, natomiast najwyższe w odmianie Regent. Średnie stężenie dla wszystkich odmian wynosiło 32,41 mg/kg śm. Dwukrotnie wyższe stężenie niż średnia występowało w odmianach Wiszniowyj Rannij (79,06 mg/kg śm.) i Marquette (72,37 mg/kg śm.). W pozostałych odmianach, z wyjątkiem Marechal Foch, ogólna zawartość stilbenów była mniejsza. Związkiem wyraźnie dominującym w skórce był *trans*-piceid, którego średnie stężenie wynosiło 26,02 mg/kg śm., co stanowiło 96,5% sumarycznej zawartości stilbenów. Największy udział tej pochodnej, wynoszący ponad 99%, odnotowano dla odmiany Regent. Zawartość stilbenów w miąższu czerwonych odmian była wyraźnie mniejsza i wynosiła średnio 1,70 mg/kg śm. Wyraźnie wyższe stężenie cechowało odmiany Heridan i Leon Millot, odpowiednio: 3,35 mg/kg śm. i 3,33 mg/kg śm., co stanowiło dwukrotność wartości średniej.

Najniższe stężenie występowało w odmianach Acolon, Alwood, Cabernet Cortis i Rondo – poniżej 1 mg/kg śm. Podobnie jak w skórce związkiem dominującym był *trans*-piceid, którego udział w całkowitej zawartości stilbenów wyniósł 97%.

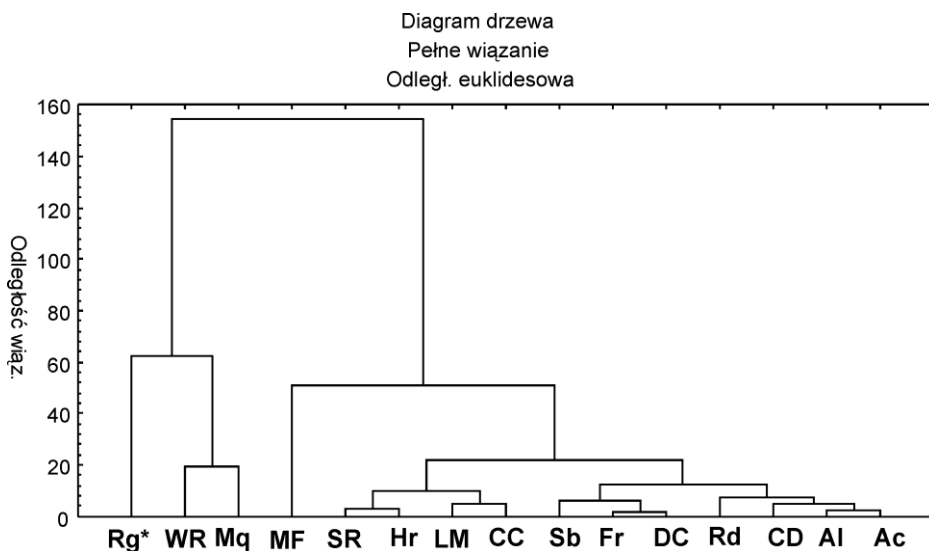
Tabela 22. Średnia zawartość stilbenów w odmianach o czerwonych owocach mg/kg śm.
Table 22. Mean value of stilbenes in red grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties														
	Ac*	Al	CC	CD	DC	Fr	Hr	LM	MF	Mq	Rg	Rd	Sb	SR	WR
	Skórka/Skin														
1	3,28 ^f	3,37 ^f	1,15 ^g	5,75 ^d	8,53 ^c	8,61 ^c	6,60 ^d	3,14 ^f	5,22 ^d	8,10 ^c	3,33 ^f	4,69 ^e	10,00 ^b	5,87 ^d	18,27 ^a
2	13,10 ^d	14,52 ^d	7,94 ^e	13,70 ^d	17,41 ^c	16,35 ^d	8,00 ^e	9,95 ^e	34,56 ^c	64,27 ^b	91,91 ^a	17,01 ^d	14,35 ^d	6,43 ^f	60,80 ^b
Suma	16,38^f	17,89^f	9,10^b	19,45^e	25,93^d	24,96^d	14,60^g	13,09^g	39,78^c	72,37^b	95,24^a	21,70^e	24,35^d	12,30^g	79,06^b
Total															
	Miąższ/Pulp														
1	0,07 ^e	0,05 ^f	0,03 ^g	0,03 ^g	0,28 ^a	0,14 ^c	0,08 ^d	0,11 ^d	0,20 ^b	0,04 ^f	0,03 ^g	0,03 ^g	0,11 ^d	0,02 ^g	0,09 ^d
2	0,70 ^f	0,74 ^f	0,78 ^a	3,08 ^a	1,03 ^e	2,22 ^b	3,27 ^a	3,22 ^a	1,01 ^c	1,10 ^d	1,55 ^{cd}	0,95 ^e	1,61 ^c	1,70 ^c	1,33 ^d
Suma	0,77^f	0,79^f	0,81^f	3,11^a	1,31^d	2,36^b	3,35^a	3,34^a	1,21^c	1,13^c	1,58^c	0,97^f	1,72^c	1,71^c	1,42^d
Total															

* Ac – Acolon, Al – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabbrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wyszniowyj Rannij

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)



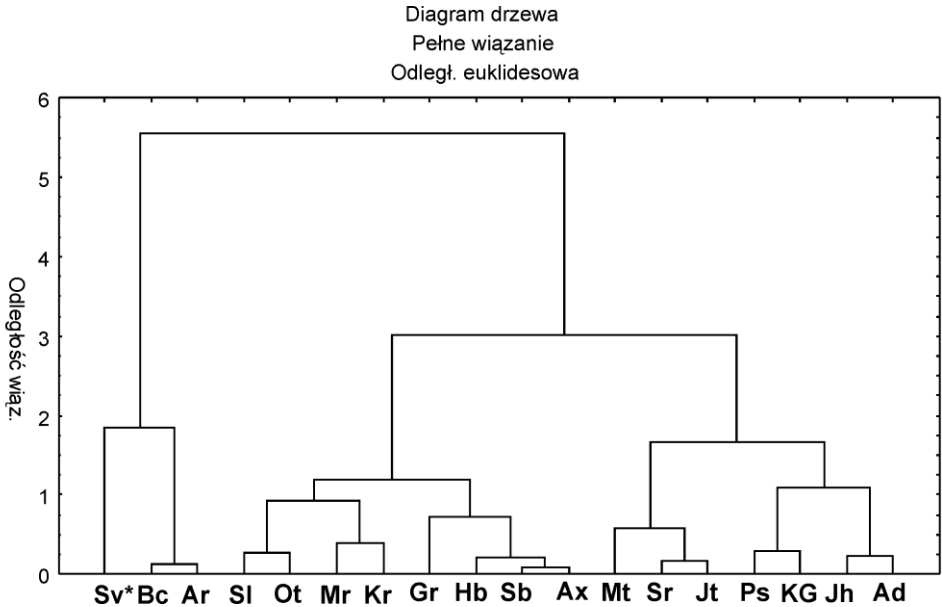
Rysunek 20. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla stilbenów w odmianach o czerwonych owocach

Figure 20. Hierarchical cluster analysis applied to stilbenes of red grapes

* Ac – Acolon, AI – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij

W skórce białych odmian winogron (tabela 23) stężenie stilbenów było wyraźnie mniejsze i mieściło się w zakresie od 0,27 mg/kg śm. w odmianie Kristaly do 4,02 mg/kg śm. w odmianie Seyval Blanc, średnie stężenie dla wszystkich odmian wynosiło 1,66 mg/kg śm. Stosunkowo niższym stężeniem charakteryzowały się odmiany: Muscaris, Ortega, Solaris i Grosso – poniżej 1 mg/kg śm. Odmiany Aurora, Bianca, Jutrzenka, Muscat i Serena wykazywały z kolei wyższe stężenie w stosunku do średniej, wynoszące ok. 2,5 mg/kg śm. Podobnie jak w odmianach czerwonych związkiem dominującym w skórce był *trans*-piceid, którego udział w sumarycznej zawartości stilbenów wynosił średnio ponad 90%.

Zawartość stilbenów w miąższu była 2,5 razy mniejsza i wynosiła średnio 0,67 mg/kg śm. Odmiany: Hiberna, Seyval Blanc i Jutrzenka charakteryzowały się najwyższą zawartością stilbenów, która mieściła się w zakresie pomiędzy 1,01 mg/kg śm. a 1,33 mg/kg śm. W pozostałych odmianach stężenie stilbenów było na wyrównanym poziomie, nieznacznie odbiegającym od średniej. Podobnie jak poprzednio *trans*-piceid był związkiem dominującym, którego udział w całkowitej zawartości tych pochodnych wynosił ok. 90%.



Rysunek 21. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla stilbenów w odmianach o białych owocach

Figure 21. Hierarchical cluster analysis applied to stilbenes of white grapes

* Ad – Adalmiina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernial, Jh – Johanniter, Jt – Jutrzenka, KG – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena, Sl – Solaris

Na uwagę zasługuje wysoka zawartość glikozydowej pochodnej *trans*-resweratrolu, jakim jest *trans*-piceid. Glikozylacja związków naturalnych jest generalnie uważana za proces mający na celu wzrost ich rozpuszczalności i w efekcie ułatwiający transport wewnątrz- i międzykomórkowy. Z drugiej jednak strony glikozylacja może być traktowana jako proces deaktywacji aktywnego biologicznie aglikonu i zabezpieczenia organelli komórkowych przed uszkodzeniem. Z licznych doniesień naukowych wynika, że glikozylacja prowadzi do znacznego obniżenia aktywności antygrzybowej, hemolitycznej, fitotoksycznej i antybakteryjnej (Oleszek 1993). W momencie pojawienia się zagrożenia ze strony patogenów system enzymatyczny rośliny jest w stanie przeprowadzić szybką hydrolizę mało aktywnych związków do bardziej aktywnych aglikonów. *Trans*-resweratrol jest powszechnie uważany za fitoaleksynę, która bierze czynny udział w obronie rośliny przed atakiem fitopatogenów, głównie grzybowych, tak więc *trans*-piceid jest prawdopodobnie formą zabezpieczenia przed uszkodzeniami własnych komórek.

Tabela 23. Średnia zawartość stilbenów w odmianach o białych owocach mg/kg śm.
Table 23. Mean value of stilbenes in white grapes in mg/kg of fresh weight

Odmiany/Varieties																			
Lp.	Ad ^a	Ar	Ax	Bc	Gr	Hb	Jh	Jt	KG	Kr	Mr	Mt	Ot	PS	Sv	Sb	Sr	Sl	
Skórka/Skin																			
1	0,23 ^f	0,15 ^g	0,52 ^d	0,11 ^g	0,70 ^c	0,47 ^{de}	0,11 ^g	0,85 ^{bc}	0,30 ^e	0,19 ^f	0,21 ^f	0,98 ^a	0,17 ^g	0,14 ^g	0,93 ^a	0,58 ^d	0,75 ^e	0,32 ^e	
2	1,76 ^c	2,52 ^b	0,62 ^f	2,46 ^b	0,27 ^g	0,60 ^f	1,71 ^c	1,57 ^d	1,21 ^{de}	0,08 ^h	0,30 ^g	1,39 ^d	0,56 ^f	1,17 ^e	3,09 ^a	0,63 ^f	1,62 ^{cd}	0,58 ^f	
Suma	1,99^e	2,68^b	1,14^d	2,57^b	0,96^e	1,07^e	1,82^c	2,40^b	1,51^c	0,27^g	0,51^f	2,37^b	0,72^f	1,31^d	4,02^a	1,20^d	2,38^b	0,90^e	
Total																			
Miąższ/Pulp																			
1	0,06 ^e	0,10 ^c	0,05 ^f	0,05 ^f	0,08 ^d	0,14 ^b	0,02 ^g	0,04 ^f	0,21 ^a	0,01 ^g	0,01 ^g	0,05 ^f	0,06 ^e	0,03 ^f	0,09 ^c	0,09 ^c	0,04 ^f	0,07 ^d	
2	0,54 ^d	0,80 ^c	0,37 ^f	0,49 ^e	0,49 ^e	1,18 ^a	0,48 ^e	0,97 ^b	0,33 ^f	0,40 ^{ef}	0,55 ^d	0,86 ^c	0,36 ^f	0,68 ^d	1,20 ^a	0,57 ^d	0,21 ^g	0,30 ^g	
Suma	0,60^e	0,90^b	0,42^f	0,54^e	0,58^e	1,33^a	0,50^e	1,01^b	0,54^e	0,41^f	0,56^e	0,91^b	0,42^f	0,72^c	1,28^a	0,66^d	0,24^g	0,37^g	
Total																			

* Ad – Adalmina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernal, Jh – Johanniter, Jt – Jutrzenka, KG – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena, Sl – Solaris

a, b, c... - te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... - the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Synteza stilbenów odbywa się ciągle, a ich stężenie przyrasta w trakcie dojrzewania winogron, osiągając stałą wartość w zależności od odmiany. Ich stężenie wzrasta w odpowiedzi na infekcję patogenów (Perrone i in. 2007; Jeandet i in. 1995) oraz na pojawienie się stresu abiotycznego (Pussa i in. 2006). Badania przeprowadzone na odmianie Cabernet Sauvignon, która jest szeroko uprawiana na całym świecie, wskazują, iż w chłodniejszych regionach (Ontario, Bordeaux) stężenie stilbenów, a w szczególności resweratrolu jest większe (Stecher i in. 2001).

4.2.6. Porównanie całkowitej zawartości związków polifenolowych w owocach winogron

Czerwone owoce pod względem całkowitej zawartości związków polifenolowych w skórce można podzielić na trzy grupy (tabela 24). Pierwsza grupa obejmuje owoce o najwyższym stężeniu, powyżej 2000 mg/kg śm., kolejna – o średnim stężeniu, pomiędzy 1000 a 2000 mg/kg śm., i ostatnia – o stężeniu najmniejszym, poniżej 1000 mg/kg śm. Całkowity zakres stężeń między tymi trzema grupami wyniósł od 587,76 mg/kg śm. do 2866,54 mg/kg śm. Do winogron o najwyższym stężeniu związków polifenolowych należały owoce odmian Regent, Rondo oraz Svenson Red, najniższym zaś Cabernet Cortis. Średnia zawartość polifenoli dla wszystkich odmian wynosiła 1767,03 mg/kg śm. Dominującą grupą były barwniki antocyjanowe, które stanowiły 75% sumarycznej zawartości polifenoli w skórce. Większy udział tych związków odnotowano w odmianach należących do pierwszej grupy, gdzie ich odsetek wynosił nawet 91%. W odmianach z grupy trzeciej udział antocyjanów w całkowitej zawartości polifenoli był najmniejszy; w odmianie Cabernet Cortis wynosił najmniej – 42%. Flawan-3-ole stanowiły średnio ok. 1/5 całkowitej zawartości polifenoli w skórce czerwonych odmian winogron. Ich udział był większy w odmianach, które charakteryzowały się mniejszym odsetkiem antocyjanów, w odmianie Cabernet Cortis stanowiły blisko połowę spośród wszystkich grup związków polifenolowych w skórce. Udział pozostałych grup był marginalny. Flawonole stanowiły średnio ok. 2,5% sumarycznej zawartości polifenoli. Fenolokwasy oraz stilbeny wynosiły łącznie ok. 3%, a ich wzajemne proporcje były zbliżone do 1 : 1.

Stężenie polifenoli w miąższu czerwonych odmian było blisko pięćdziesięciokrotnie mniejsze niż w skórce i wynosiło średnio 38,25 mg/kg śm. Najniższa całkowita zawartość polifenoli występowała w odmianie Cabernet Cortis (24,71 mg/kg śm.), najwyższa zaś w odmianie Wiszniowyj Rannij (90,06 mg/kg śm.). Do odmian o stosunkowo mniejszej zawartości należały jeszcze DeChaunac (26,17 mg/kg śm.), Alwood (27,51 mg/kg śm.) i Cabernet Dorsa (28,64 mg/kg śm.). Odmiany Marquette, Frontenac i Marechal Foch zaliczały się do odmian o najwyższym stężeniu polifenoli w miąższu, choć ich stężenie było blisko dwukrotnie mniejsze niż w odmianie Wiszniowyj Rannij.

Tabela 24. Całkowita zawartość związków polifenolowych w odmianach o czerwonych owocach mg/kg śm.
Table 24. Total phenolic content in red grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties														
	Ac ^a	Al	CC	CD	DC	Fr	Hr	LM	MF	Mq	Rg	Rd	Sb	SR	WR
	Skórka/Skin														
A ^{**}	1324,5 ^d	806,30 ^f	246,9 ^b	1702,4 ^c	1073,4 ^e	2106,1 ^b	875,71 ^f	734,11 ^g	804,95 ^f	1778,0 ^c	2491,4 ^a	2379,9 ^a	1360,3 ^d	2020,2 ^b	1108,1 ^c
F	37,17 ^b	30,81 ^c	32,48 ^c	27,48 ^d	36,62 ^b	34,02 ^b	34,86 ^a	44,36 ^a	35,09 ^b	33,40 ^{bc}	45,86 ^a	44,46 ^b	31,86 ^c	31,51 ^c	33,18 ^c
F3-ol	740,34 ^a	427,97 ^b	282,80 ^d	263,80 ^e	290,97 ^d	121,93 ^g	225,57 ^g	220,66 ^g	259,73 ^f	285,91 ^d	212,36 ^e	220,09 ^g	192,04 ^b	373,27 ^c	237,93 ^c
K	31,71 ^b	27,46 ^b	16,46 ^e	14,94 ^c	18,83 ^d	15,77 ^c	18,35 ^d	17,74 ^d	20,38 ^{cd}	16,50 ^e	21,60 ^d	18,65 ^d	17,67 ^d	39,51 ^a	22,44 ^c
S	16,38 ^e	17,89 ^e	9,10 ^f	19,45 ^{de}	25,93 ^d	24,96 ^d	14,60 ^f	13,09 ^f	39,78 ^c	72,37 ^b	95,24 ^d	21,70 ^d	24,35 ^d	12,30 ^f	79,06 ^b
Suma	2150,2^e	1310,4ⁱ	587,76^f	2028,1^f	1445,8^h	2302,8^d	1169,1^j	1029,9^b	1159,9^j	2186,1^e	2866,5^a	2684,8^b	1626,3^g	2476,8^c	1480,7^h
Total															
	Miąższ/Pulp														
A	7,67 ^f	6,30 ^f	0,86 ^b	5,81 ^{fg}	16,15 ^e	39,12 ^b	16,93 ^e	15,82 ^e	16,67 ^e	33,76 ^c	8,90 ^f	6,70 ^f	22,13 ^d	0,43 ^h	71,93 ^a
F	1,42 ^e	1,64 ^d	2,22 ^c	3,30 ^b	1,42 ^d	3,72 ^a	1,63 ^d	1,70 ^d	1,72 ^d	1,76 ^d	1,50 ^{de}	2,20 ^e	2,63 ^c	4,00 ^a	3,41 ^a
F3-ol	11,25 ^d	15,85 ^c	16,21 ^c	14,26 ^{cd}	5,76 ^f	5,14 ^f	8,42 ^e	14,96 ^e	23,87 ^a	11,31 ^d	18,10 ^b	19,35 ^b	10,60 ^d	12,34 ^d	7,05 ^c
K	15,29 ^a	2,93 ^d	4,60 ^c	2,16 ^c	1,52 ^f	0,66 ^g	1,37 ^f	2,01 ^e	1,37 ^f	4,52 ^c	1,96 ^e	3,06 ^d	1,52 ^f	1,07 ^{fg}	6,24 ^b
S	0,77 ^g	0,79 ^g	0,81 ^f	3,11 ^a	1,31 ^{de}	2,36 ^b	3,35 ^a	3,34 ^a	1,21 ^e	1,13 ^e	1,58 ^{cd}	0,97 ^f	1,72 ^c	1,71 ^c	1,42 ^d
Suma	36,40^d	27,51^f	24,71^f	28,64^f	26,17^f	51,00^b	31,70^e	37,84^d	44,84^c	52,48^b	32,03^e	32,28^e	38,60^d	19,55^g	90,06^c
Total															

* Ac – Acolon, Al – Aulwood, CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, DC – DeChaunac, Fr – Frontenac, Hr – Heridan, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Mq – Marquette, Rg – Regent, Rd – Rondo, Sb – Sabrevoice, SR – Svenson Red, WR – Wiszniowyj Rannij

** A – antocyjany/anthocynins, F – flawanole/flavanols, F3-ol – flawan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes
a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

Najliczniejszą grupą związków w mięszu czerwonych odmian były flawan-3-ole, stanowiące średnio ok. 60% całkowitej zawartości polifenoli, choć w niektórych odmianach ich odsetek był zdecydowanie mniejszy i zawierał się pomiędzy 20 a 30% całkowitej zawartości polifenoli w mięszu. Najmniejszy odsetek flawan-3-ole stanowiły w odmianach Wiszniowyj Rannij i Frontenac. Wynosił on poniżej 10% całkowitej zawartości polifenoli w mięszu. Średni udział antocyjanów w mięszu we wszystkich odmianach obejmował ok. 20% i był wyższy dla odmian, w których stwierdzono mniejszą zawartość flawan-3-oli. Odmiany Svenson Red oraz Cabernet Cortis zawierały bardzo małe ilości antocyjanów, ich udział sumaryczny kształtował się około 3% całkowitej zawartości polifenoli w mięszu. Wcześniej wspomniane odmiany Frontenac i Wiszniowyj Rannij zawierały największy odsetek tych pochodnych stanowiący ponad 40% całkowitej zawartości polifenoli. Spośród pozostałych owoców stosunkowo większy udział antocyjanów był charakterystyczny dla odmian: Marquette, DeChaunac, Sabrevoice i Heridan. Kwasy fenolowe stanowiły przeciętnie ok. 5% całkowitej zawartości polifenoli w mięszu. W odmianie Acolon ich udział był rekordowy – stanowił ponad 40% sumarycznej zawartości polifenoli w mięszu. Również odmiany Cabernet Cortis i Alwood charakteryzowały się większym udziałem tych pochodnych, odpowiednio 20% i 10%. Średnia zawartość flawonoli to ok. 6%. Ponadprzeciętny udział tych pochodnych charakteryzował odmiany Svenson Red (21%) i Cabernet Dorsa (11%). Udział stilbenów był zbliżony do flawonoli i flawan-3-oli.

Flawonole oraz kwasy fenolowe stanowiły łącznie ok. 4% całkowitej zawartości polifenoli w mięszu. W większości przypadków udział kwasów fenolowych był nieznacznie większy niż flawonoli. Odmiana Acolon wyraźnie różniła się od pozostałych poprzez ponadprzeciętny udział fenolokwasów wynoszący blisko 10% całkowitej zawartości polifenoli. Wyraźną dysproporcję można było również zaobserwować w odmianach Svenson Red i Frontenac, gdzie z kolei to flawonole stanowiły większy udział w porównaniu do fenolokwasów. Stilbeny, podobnie jak w skórce, występowały w najmniejszej ilości w całkowitej zawartości polifenoli w mięszu, ich odsetek w obu częściach owoców był na porównywalnym poziomie ok. 1,5%.

W skórce białych odmian winogron całkowita zawartość związków polifenolowych mieściła się w zakresie od 398,59 mg/kg śm. (tabela 25) w odmianie Sibera do 739,28 mg/kg śm. w odmianie Bianca. Średnia zawartość polifenoli w skórce białych odmian wynosiła 513,56 mg/kg śm. W przypadku trzech odmian: Auxerrois, Seyval Blanc i Prairie Star zaobserwowano wyraźnie mniejszą zawartość polifenoli, w pozostałych odmianach stężenie polifenoli było na dość wyrównanym poziomie, nieznacznie odbiegającym od wartości średniej. Związkami dominującymi były flawan-3-ole, które miały ponad 80% udział w całko-

witej zawartości polifenoli w skórce. Flawonole stanowiły średnio 10% sumarycznej zawartości polifenoli w skórce. Tylko w dwóch odmianach zaobserwowano wyraźną różnicę. W odmianie Auxerrois udział flawonoli był o połowę wyższy, natomiast w odmianie Bianca o blisko połowę niższy. Ta ostatnia odmiana charakteryzowała się również niższym udziałem fenolokwasów, których zawartość w całkowitym poziomie polifenoli wynosiła średnio dla wszystkich odmian ok. 7%. Stilbeny stanowiły zaledwie 0,3% całkowitej zawartości polifenoli w skórce białych odmian winogron. Odmiana Kristaly charakteryzowała się najniższym odsetkiem stilbenów w całkowitej zawartości polifenoli, zaledwie 0,05%. Natomiast najwięcej stilbenów występowało w odmianie Seyval Blanc – 1%. Zawartość polifenoli w odmianach o białych owocach była ponad dwudziestokrotnie mniejsza niż w skórce. Średnie stężenie polifenoli w miąższu odmian o białych owocach wynosiło 23,47 mg/kg śm. Najniższą zawartością charakteryzowały się odmiany Prairie Star oraz Serena, odpowiednio 16,04 mg/kg śm. i 17,09 mg/kg śm. Dwukrotnie większy poziom polifenoli zaobserwowany został w odmianach Grosso (35,14 mg/kg śm.) i Jutrzenka (32,19 mg/kg śm.). Pozostałe odmiany charakteryzowały się dość wyrównanym stężeniem polifenoli, nieznacznie odbiegającym od średniej. Podobnie jak w skórce, grupą dominującą były flawan-3-ole; ich udział w całkowitej zawartości polifenoli w miąższu wynosił średnio 65%. Najniższy udział flawan-3-oli, wynoszący 45%, charakteryzował odmianę Seyval Blanc, najwyższy natomiast odmiany Solaris (77%), Grosso (75%) i Muscaris (71%). Udział flawonoli w całkowitej zawartości polifenoli w odmianach o białych owocach stanowił średnio blisko 10%. Dwukrotnie wyższy udział tych pochodnych zaobserwowano w odmianach Kristaly i Seyval Blanc. Auxerrois, Adalmiina, KyGrey oraz Prairie Star należały do odmian o najmniejszym udziale flawonoli wynoszącym ok. 5%. Blisko 1/4 sumarycznej zawartości polifenoli w miąższu białych owoców stanowiły fenolokwasy. Większy udział fenolokwasów, stanowiący blisko 1/3 całkowitej zawartości polifenoli w miąższu, odnotowano w odmianach Jutrzenka, Muscat oraz Prairie Star. Stilbeny cechował najmniejszy odsetek w całkowitej zawartości polifenoli w miąższu wynoszący średnio ok. 3%. Dwukrotnie większy udział stilbenów odnotowano w odmianach Hibernal i Seyval Blanc. Mimo iż udział tej grupy polifenoli w miąższu był blisko 10-krotnie wyższy niż w skórce, to jednak ich stężenie było niższe i wynosiło średnio ok. 0,6 mg/kg śm.

Porównanie zawartości polifenoli w analizowanych odmianach z danymi dostępnymi w literaturze jest utrudnione z kilku względów. Po pierwsze, zawartość polifenoli zależy od wielu czynników, w tym odmiany winorośli, lokalnych uwarunkowań (gleby i klimatu), pogody panującej w danym regionie, jakości gron (chorób spowodowanych przez pleśnie lub owady) czy kondycji winnicy.

Tabela 25. Całkowita zawartość związków polifenolowych w odmianach o białych owocach mg/kg śm.
Table 25. Total phenolic content in white grapes in mg/kg of fresh weight

Lp.	Odmiany/Varieties																	
	Ad ^a	Ar	Ax	Bc	Gr	Hb	Jh	Jt	Kg	Kr	Mr	Mt	Ot	PS	Sv	Sb	Sr	Sl
	Skórka/Skin																	
F ^{**}	56,90 ^c	57,13 ^{bc}	65,39 ^b	49,40 ^d	53,22 ^c	49,65 ^d	47,97 ^d	51,55 ^d	56,60 ^c	48,11 ^d	43,05 ^e	57,91 ^b	74,04 ^b	54,97 ^c	44,40 ^d	45,31 ^d	63,31 ^b	48,88 ^d
F3-ol	461,3 ^c	432,4 ^d	305,6 ^e	658,1 ^a	355,6 ^f	454,5 ^e	481,9 ^b	404,1 ^e	449,1 ^e	438,2 ^d	463,2 ^e	470,7 ^c	423,2 ^d	335,2 ^f	348,3 ^f	308,9 ^e	466,0 ^e	391,6 ^e
K	35,48 ^c	38,55 ^b	34,16 ^c	29,23 ^d	35,77 ^b	28,57 ^c	34,91 ^c	28,72 ^c	35,80 ^b	32,14 ^c	26,35 ^e	27,43 ^e	38,11 ^b	35,95 ^b	30,01 ^d	43,14 ^a	31,44 ^d	32,26 ^c
S	1,99 ^e	2,68 ^b	1,14 ^e	2,57 ^b	0,96 ^f	1,07 ^f	1,82 ^c	2,40 ^b	1,51 ^d	0,27 ^f	0,51 ^b	2,37 ^b	0,72 ^e	1,31 ^d	4,02 ^a	1,20 ^e	2,38 ^b	0,90 ^f
Suma	555,7^c	530,8^d	406,3ⁱ	739,3^a	445,5^e	533,8^b	566,6^b	486,8^f	542,9^e	519,0^e	533,1^d	558,4^c	536,1^d	427,4^b	426,7^b	398,6^f	563,2^b	473,6^f
Total																		
	Miąższ/Pulp																	
F	1,15 ^e	1,70 ^f	1,09 ^f	1,76 ^f	3,33 ^c	1,60 ^f	1,69 ^f	2,25 ^d	1,02 ^b	4,11 ^a	2,21 ^d	2,24 ^d	2,37 ^d	1,03 ^b	4,70 ^b	1,90 ^c	1,89 ^c	1,55 ^e
F3-ol	13,49 ^d	13,96 ^d	18,01 ^b	14,53 ^c	26,30 ^a	14,08 ^d	14,14 ^c	18,37 ^b	14,82 ^c	10,79 ^e	19,98 ^b	15,10 ^c	18,11 ^b	9,80 ^e	9,43 ^e	15,12 ^c	10,04 ^e	15,56 ^c
K	5,20 ^d	5,84 ^d	5,49 ^d	3,82 ^f	4,93 ^c	4,52 ^e	4,26 ^e	10,56 ^a	5,96 ^d	4,61 ^c	6,09 ^e	8,47 ^b	5,88 ^d	5,54 ^d	5,72 ^d	7,09 ^c	3,87 ^f	3,46 ^f
S	0,60 ^e	0,90 ^b	0,42 ^f	0,54 ^e	0,58 ^e	1,33 ^a	0,50 ^f	1,01 ^c	0,54 ^e	0,41 ^f	0,56 ^f	0,91 ^b	0,42 ^f	0,72 ^d	1,28 ^a	0,66 ^e	0,24 ^b	0,37 ^e
Suma	20,44^d	22,40^d	25,01^c	20,65^d	35,14^a	21,53^d	20,60^d	32,19^a	22,35^d	19,92^e	28,83^b	26,72^b	26,78^b	17,09^f	21,14^d	24,77^c	16,04^f	20,94^d
Total																		

* Ad – Adalmina, Ar – Aurora, Ax – Auxerrois, Bc – Bianca, Gr – Grosso, Hb – Hibernial, Jh – Hibernial, Jt – Johanniter, Jt – Jutrzenka, Kg – KyGrey, Kr – Kristaly, Mr – Muscaris, Mt – Muscat, Ot – Ortega, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sr – Serena, Sl – Solaris

** F – flawanole/flavonols, F3-ol – flawan-3-ole/flawan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes

a, b, c... – te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... – the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Drugim ważnym czynnikiem utrudniającym bezpośrednie porównanie jest zakres stosowanych metod analitycznych. W większości prac wykorzystywana jest technika wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem fotodiodydowym, UV-Vis lub fluoroscencyjnym. Niemniej jednak sposób prezentacji wyników w tych pracach różni się znacząco. Niektórzy autorzy przy analizach ilościowych stosują ograniczoną ilość substancji wzorcowych, przez co wynik końcowy prezentowany jest jako ekwiwalent wybranych związków (np. kwercetyny, malwidyny bądź kwasu galusowego). Inni autorzy z kolei oznaczają tylko te związki, dla których mają dostępne wzorce, umożliwiające identyfikację w ekstraktach poprzez porównanie czasów retencji dla wybranych pików, bądź ograniczają się do wybranej grupy polifenoli (np. antocyjanów), co nie daje pełnego profilu analizowanych odmian. Głównym rezerwuarem związków polifenolowych w winogronach jest skórka, dlatego też wielu autorów ogranicza się do analizowania tylko i wyłącznie tej części, pomijając miąższ, przez co zawartość podawana jest w przeliczeniu na skórkę, a nie na całe owoce. Trudności w porównywaniu wyników powodowane są również przez sposób wyrażenia w przeliczeniu na suchą bądź na świeżą masę lub wielkość analizowanej próbki (mg/kg, g/kg, mg/100g itp.). W niektórych, szczególnie starszych pracach stosowane są metody spektrofotometryczne, które prezentują jedynie całkowitą zawartość polifenoli w analizowanych próbkach. Wiele jest również prac, w których autorzy stosują hydrolizę kwaśną bądź zasadową, a analiza ograniczona jest jedynie do uwolnionych aglikonów. Kolejnym czynnikiem utrudniającym interpretację wyników jest niewystarczająca ilość pracowań dotyczących owoców winogron, zdecydowanie większa część artykułów dotyczy bowiem gotowych win. Dzięki rozwojowi nowoczesnych technik chromatograficznych sprzężonych z detektorem mas i tandemowej spektrometrii mas w ostatnich kilkunastu latach opublikowano wiele prac, w których analizowany jest szeroki profil związków polifenolowych obejmujący kilkadziesiąt różnego rodzaju pochodnych występujący w różnych odmianach uprawianych w różnych częściach świata. Mimo dużych rozbieżności w profilu ilościowym pomiędzy odmianami autorzy są zgodni, iż decydujący wpływ na zawartość polifenoli w winogronach odgrywają uwarunkowania lokalne oraz pochodzenie filogenetyczne poszczególnych odmian. Informacje dotyczące zawartości polifenoli w odmianach winogron opisanych w niniejszym opracowaniu są szczątkowe, dlatego też bezpośrednie porównanie nie jest możliwe. Niemniej jednak, dokonując porównania z innymi odmianami uprawianymi w innych częściach świata, można stwierdzić, iż zawartość polifenoli w analizowanych odmianach mieści się w pewnym przyjętym zakresie obejmującym szeroką gamę odmian.

4.3. Właściwości fizykochemiczne win

Analizę właściwości fizykochemicznych przeprowadzono dla win pochodzących z dwóch kolejnych roczników: 2013 i 2014. Wśród analizowanych próbek znalazły się wina gatunkowe, wyprodukowane z owoców jednej odmiany winorośli, oraz wina kupażowane, otrzymane z połączenia owoców kilku odmian. W ramach tego kryterium oznaczono profil związków polifenolowych, podstawowe parametry enologiczne oraz dokonano pomiaru barwy w systemie CIELab.

4.3.1. Występowanie i zawartość związków polifenolowych w winie

W gotowych winach oznaczono jakościowo i ilościowo związki polifenolowe, które wcześniej analizowano w winogronach.

4.3.1.1. Antocyjany

W tabelach 26 i 27 przedstawiono zawartość antocyjanów w winach czerwonych gatunkowych oraz kupażowanych. W winach gatunkowych z rocznika 2013 średnia całkowita zawartość antocyjanów wynosiła 630,26 mg/L. Najmniejsza zawartość antocyjanów występowała w winach Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa, odpowiednio 212,56 mg/L i 379,19 mg/L; najwięcej antocyjanów zawierały wina Regent i Rondo, odpowiednio 925,71 mg/L oraz 855,34 mg/L. Średnia zawartość antocyjanów w winach z rocznika 2014 była o ok. 10% niższa i wynosiła 576,98 mg/L. Porównując poszczególne wina, podobnie jak w poprzednim roku najmniejsza ilość antocyjanów występowała w winach Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa, a najwyższa w winach Regent i Rondo. Wina kupażowane w kolejnych dwóch latach charakteryzowały się większą zawartością antocyjanów w porównaniu do win gatunkowych. W winach z rocznika 2013 średnia zawartość antocyjanów wynosiła 784,54 mg/L, natomiast w kolejnym roku 628,4 mg/L. Na stężenie antocyjanów w tych rodzajach wina decydujący wpływ miał udział owoców pochodzących z różnych odmian. W winach z rocznika 2013, oznaczonych jako C2, C3, C4, C5, C6, znaczący udział miały odmiany Regent i Rondo, które charakteryzowały się najwyższym stężeniem antocyjanów w skórce. Wino C3 mimo dużego udziału wspomnianych odmian charakteryzowało się obniżonym stężeniem antocyjanów, spowodowanym udziałem owoców odmiany Cabernet Cortis. Odmiana ta charakteryzowała się najmniejszym stężeniem antocyjanów w skórce spośród wszystkich odmian o czerwonych owocach. Wino C1 charakteryzowało się najwyższą zawartością antocyjanów, wynoszącą 943,15 mg/L, wynikającą z udziału owoców odmiany Frontenac. Podobnie było w winach kupażowanych z rocznika 2014, wina C3 i C4, które sporządzono z udziałem owoców odmiany Cabernet Cortis, również charakteryzo-

Tabela 26. Średnia zawartość antocyaninów w winach czerwonych z rocznika 2013 mg/L
Table 26. Mean value of antocyanins in red wine from 2013 in mg/L

		Rocznik 2013/Year 2013												
		Wina gatunkowe/Quality wine						Wina kupazowane/Cuvee						
Lp.	CC ^a	CD	LM	MF	Rg	Rd	CI	C2	C3	C4	C5	C6		
1	2,95 ^f	0,43 ^g	22,78 ^b	21,07 ^b	8,75 ^c	12,12 ^d	17,02 ^c	29,42 ^a	9,46 ^e	11,79 ^d	8,97 ^e	8,51 ^e		
2	6,60 ^b	11,32 ^f	18,03 ^d	1,21 ⁱ	23,42 ^b	25,46 ^a	8,30 ^g	23,84 ^b	16,53 ^a	25,17 ^a	19,58 ^d	21,39 ^c		
3	19,01 ⁱ	3,90 ⁱ	56,02 ^g	78,16 ^d	71,98 ^e	112,81 ^c	136,1 ^b	145,35 ^a	50,55 ^b	65,18 ^f	73,14 ^d	68,98 ^e		
4	66,54 ^f	13,43 ^g	403,76 ^a	213,07 ^d	195,65 ^d	259,24 ^a	216,59 ^a	156,38 ^a	140,20 ^e	217,23 ^d	247,74 ^c	268,65 ^b		
5	1,15 ^f	1,66 ^d	1,31 ^e	0,23 ^e	2,33 ^c	2,52 ^c	1,35 ^e	5,90 ^a	2,38 ^e	3,21 ^b	1,78 ^d	1,88 ^d		
6	10,60 ^b	22,72 ^g	40,12 ^d	4,84 ⁱ	59,46 ^a	44,18 ^d	27,35 ^f	49,19 ^c	33,83 ^e	51,35 ^b	44,69 ^d	52,00 ^b		
7	6,25 ^f	29,84 ^b	2,68 ^g	0,89 ^b	35,60 ^a	24,27 ^c	10,77 ^e	23,61 ^c	12,57 ^e	24,74 ^c	20,30 ^d	24,90 ^c		
8	65,83 ⁱ	216,61 ^e	158,74 ^b	274,29 ^c	317,00 ^b	198,70 ^f	402,15 ^a	400,62 ^a	216,52 ^e	247,21 ^d	170,89 ^g	181,19 ^f		
9	0,09 ^f	0,24 ^c	0,06 ^g	0,05 ^g	0,16 ^c	0,88 ^e	0,33 ^d	5,94 ^a	0,06 ^g	0,19 ^e	4,36 ^f	0,08 ^f		
10	2,83 ^f	4,83 ^d	6,55 ^b	0,19 ^g	5,59 ^c	12,85 ^a	0,03 ^b	2,15 ^f	3,06 ^e	5,69 ^c	2,68 ^f	5,31 ^c		
11	0,50 ^b	0,19 ^g	5,19 ^b	2,23 ^f	4,39 ^d	2,44 ^f	3,00 ^e	1,94 ^g	4,83 ^c	6,29 ^a	1,68 ^g	4,44 ^d		
12	0,75 ^b	0,94 ^g	1,99 ^f	0,10 ⁱ	7,85 ^b	11,06 ^a	1,82 ^f	2,46 ^e	4,20 ^d	6,87 ^c	6,79 ^c	7,55 ^b		
13	12,77 ^d	41,39 ^a	14,48 ^d	1,85 ^g	35,57 ^b	39,42 ^a	10,79 ^e	6,13	10,33 ^e	20,85 ^c	11,18 ^e	32,59 ^b		
14	4,91 ^h	1,53 ⁱ	20,94 ^f	41,79 ^b	42,90 ^b	26,30 ^e	51,87 ^a	14,39 ^f	31,71 ^d	38,78 ^e	23,59 ^f	41,80 ^b		
15	0,71 ^f	0,23 ^g	1,08 ^e	3,03 ^c	5,81 ^b	6,22 ^b	7,06 ^a	2,39 ^g	2,81 ^d	3,75 ^c	3,80 ^c	5,71 ^b		
16	0,33 ^f	0,55 ^e	0,20 ^g	0,02 ^h	2,74 ^b	3,77 ^a	1,06 ^e	0,82 ^d	0,99 ^d	1,91 ^c	2,85 ^b	2,56 ^b		
17	1,05 ^b	1,26 ^b	1,95 ^g	0,10 ⁱ	12,32 ^a	10,24 ^b	3,96 ^e	2,88 ^d	5,21 ^d	8,55 ^c	7,90 ^c	11,41 ^b		
18	0,83 ^h	5,32 ^c	0,25 ⁱ	0,12 ^h	9,50 ^a	9,79 ^a	3,54 ^e	1,73 ^g	2,30 ^f	4,44 ^d	6,94 ^b	7,89 ^b		
19	8,86 ^e	22,81 ^d	7,70 ^e	1,79 ^f	84,67 ^a	53,07 ^b	39,96 ^c	7,47 ^e	24,02 ^d	44,69 ^c	39,27 ^c	77,10 ^a		
Suma	212,56^b	379,19^g	763,76^d	645,01^e	925,71^a	855,34^b	943,15^a	882,61^b	571,55^f	787,88^e	698,11^e	823,93^c		
Total														

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

Tabela 27. Średnia zawartość antocyjanów w winach czerwonych z rocznika 2014 mg/L
Table 27. Mean value of antocyanins in red wine from 2014 in mg/L

Wina gatunkowe/Quality wine													
Lp.	CC ^a	CD	LM	MF	Rg	Rd	CI	C2	C3	C4	C5		
1	2,83 ^e	3,07 ^e	20,72 ^b	8,72 ^d	14,35 ^e	12,23 ^c	13,14 ^c	8,47 ^d	31,38 ^a	6,81 ^d	13,75 ^e		
2	5,94 ^f	7,13 ^e	20,81 ^b	0,57 ^f	26,48 ^a	16,26 ^c	10,03 ^d	9,13 ^d	8,98 ^e	14,34 ^c	22,66 ^b		
3	11,58 ^f	20,27 ^e	57,68 ^d	58,16 ^d	96,53 ^b	124,62 ^a	119,58 ^a	92,82 ^b	81,94 ^c	59,42 ^d	93,24 ^b		
4	72,23 ^b	83,23 ^e	313,11 ^b	181,56 ^d	207,07 ^c	338,20 ^a	147,21 ^f	173,68 ^d	130,04 ^f	96,77 ^e	162,83 ^c		
5	1,06 ^e	0,92 ^e	1,12 ^e	0,52 ^g	3,23 ^b	2,41 ^c	0,29 ^b	0,51 ^g	0,70 ^f	1,39 ^d	6,92 ^a		
6	8,24 ^f	15,73 ^c	43,19 ^b	6,25 ^f	66,22 ^a	23,77 ^d	16,65 ^e	20,44 ^d	20,79 ^d	23,97 ^d	32,67 ^c		
7	2,43 ^e	13,54 ^c	5,76 ^d	3,94 ^e	27,31 ^a	16,22 ^b	6,43 ^d	6,52 ^d	2,86 ^e	12,07 ^c	13,54 ^c		
8	50,85 ^g	166,57 ^e	153,84 ^e	225,33 ^d	279,76 ^b	115,16 ^f	239,67 ^c	244,66 ^c	235,92 ^c	147,52 ^c	388,49 ^a		
9	0,20 ^f	0,04 ^b	0,01 ^h	0,06 ^h	1,45 ^b	0,97 ^c	0,54 ^e	0,13 ^f	0,07 ^g	0,71 ^d	8,91 ^a		
10	1,41 ^d	1,32 ^d	7,76 ^a	0,99 ^e	5,18 ^c	7,80 ^a	5,82 ^b	4,18 ^c	0,95 ^e	7,17 ^a	5,28 ^b		
11	1,18 ^f	0,60 ^g	6,42 ^a	1,15 ^f	3,72 ^c	4,95 ^b	3,35 ^c	3,77 ^c	1,60 ^e	1,91 ^d	1,16 ^f		
12	0,75 ^f	0,20 ^g	3,75 ^d	0,10 ^g	10,22 ^a	4,05 ^c	3,13 ^d	4,68 ^c	1,39 ^e	6,85 ^b	1,54 ^e		
13	4,44 ^f	12,36 ^c	18,53 ^c	23,23 ^b	21,18 ^c	26,99 ^a	17,24 ^d	16,61 ^d	2,94 ^f	20,99 ^c	19,13 ^c		
14	8,56 ^g	5,71 ^b	24,05 ^c	37,11 ^c	33,60 ^d	50,93 ^a	28,95 ^c	41,27 ^b	12,74 ^f	16,70 ^f	25,28 ^c		
15	0,63 ^g	0,58 ^g	2,27 ^e	8,83 ^b	6,81 ^c	10,59 ^a	6,32 ^c	6,03 ^c	1,33 ^f	3,91 ^d	3,46 ^d		
16	0,19 ^h	0,02 ^h	0,63 ^f	0,08 ^h	4,33 ^a	1,22 ^c	0,79 ^e	1,03 ^d	0,32 ^g	2,13 ^b	0,57 ^f		
17	0,96 ^f	0,33 ^g	3,41 ^d	0,24 ^g	11,77 ^a	4,61 ^c	3,32 ^d	6,26 ^b	1,52 ^e	6,73 ^b	1,85 ^e		
18	0,30 ^h	0,57 ^h	1,01 ^g	1,01 ^g	10,33 ^a	4,28 ^c	2,38 ^e	3,40 ^d	0,65 ^h	5,63 ^b	1,53 ^f		
19	4,95 ^f	3,35 ^g	12,39 ^e	12,34 ^e	60,41 ^a	25,77 ^c	17,17 ^d	33,59 ^b	6,58 ^f	30,69 ^b	11,35 ^c		
Suma	178,72^b	335,53^g	696,44^d	570,19^e	889,96^a	791,04^b	642,01^d	677,18^d	542,70^e	465,73^f	814,36^c		
Total													

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo

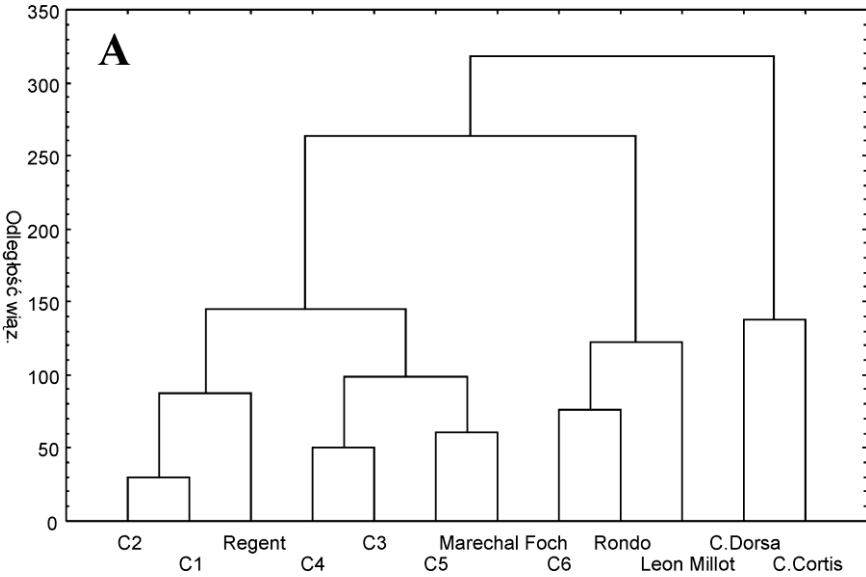
a, b, c... – te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... – the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

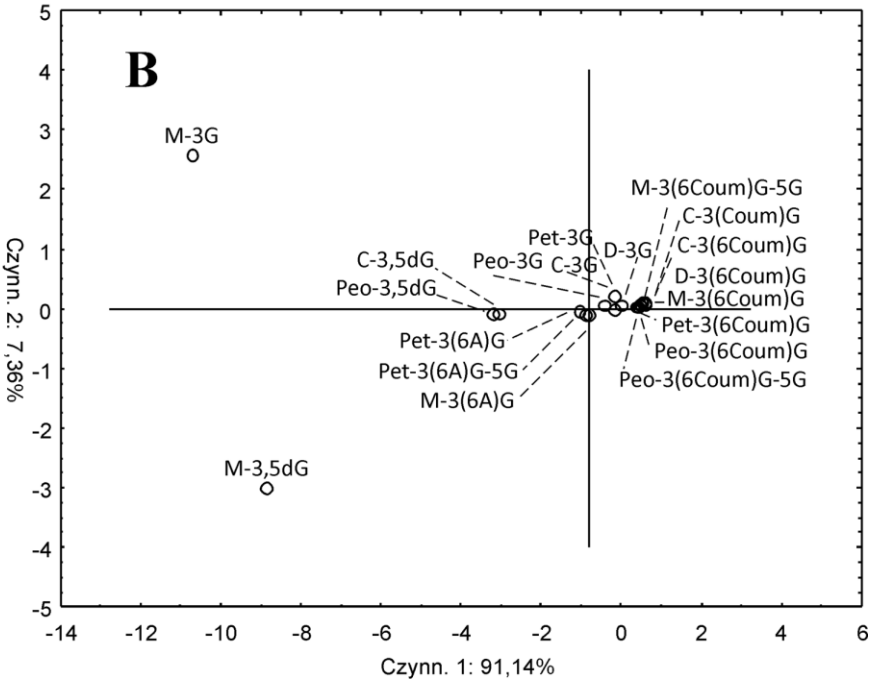
wały się niższą zawartością antocyjanów w porównaniu z pozostałymi winami. Prawie we wszystkich rodzajach win spośród wszystkich antocyjanów związkami dominującymi były 3-*O*-glukozyd malwidyny oraz 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny; ich średni udział wynosił odpowiednio 34% i 27% sumarycznej zawartości antocyjanów w czerwonym winie. Wyjątek stanowi wino uzyskane z owoców odmiany Cabernet Dorsa, gdzie 3-*O*-glukozyd malwidyny sięga ponad 50%, a 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny poniżej 5% sumarycznej zawartości antocyjanów. Kolejnym związkiem o stosunkowo dużym udziale był 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd peonidyny. Jego średni udział w całkowitej zawartości antocyjanów wynosił ok. 10%. W winach kupażowanych związek ten stanowił większy odsetek. Udział pozostałych związków nie przekraczał 5% całkowitej zawartości antocyjanów, przy czym zwiększony udział charakteryzował acylowane pochodne 3-*O*-glukozydu malwidyny oraz 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny. Pochodne malwidyny stanowiły największy odsetek wynoszący średnio ok. 75% sumarycznej zawartości antocyjanów. Udział pochodnych peonidyny był mniejszy w winach gatunkowych i wynosił średnio 12%, natomiast w winach kupażowanych ok. 15%. Pochodne petunidyny stanowiły średnio 7%, natomiast cyjanidyny i delfinidyny ok. 3% całkowitej zawartości antocyjanów. Monoglukozydy stanowiły ok. 55% całkowitej zawartości antocyjanów, z wyjątkiem wina otrzymanego z owoców odmiany Cabernet Dorsa, gdzie monoglukozydy sięgały 95% sumarycznej ilości antocyjanów. Zdecydowaną większość stanowiły pochodne nieacylowane; ich odsetek to blisko 85% całkowitej zawartości antocyjanów w czerwonym winie.

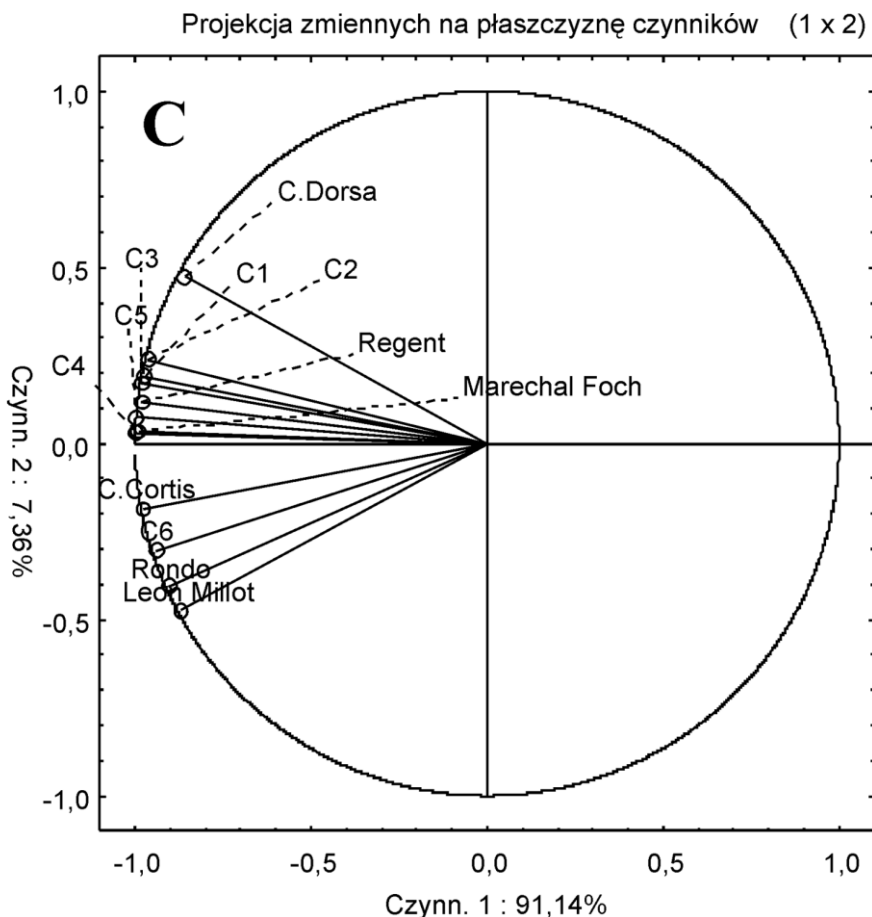
W wyniku przeprowadzonej analizy skupień uzyskano dendrogram grupujący analizowane wina w cztery względnie jednorodne klasy. Klaster pierwszy skupia wina charakteryzujące się najwyższym stężeniem antocyjanów oraz najwyższym odsetkiem 3-*O*-glukozydu malwidyny, wynoszącym powyżej 40%. W obrębie tej grupy wyróżniono wino gatunkowe Regent oraz 2 kupaże otrzymane z owoców odmian Frontenac, Regent i Rondo. Grupa druga skupia w przeważającej części wina kupażowane z dużym udziałem owoców odmian Leon Millot i Marechal Foch, jak również wino gatunkowe Marechal Foch. Wina te charakteryzują się niższym stężeniem antocyjanów w porównaniu do grupy pierwszej oraz niższym udziałem 3-*O*-glukozydu malwidyny. Grupę trzecią tworzą wina o najwyższej zawartości antocyjanów oraz najniższym odsetku 3-*O*-glukozydu malwidyny. Ostatnia, czwarta grupa, skupia dwa wina gatunkowe otrzymane z owoców odmian Cabernet Dorsa i Cabernet Cortis. Ich charakterystyczną cechą jest wyłącznie najniższe stężenie antocyjanów. Analiza głównych składowych wyjaśnia 98,5% wariancji międzygrupowych, przy czym pierwszy czynnik uzasadnia 91,14% zmienności wariancyjnej, a drugi 7,36 wariancji. Pod względem profilu antocyjanowego analizowane wina wykazują znaczne podobieństwo.

Diagram drzewa
 Pełne wiązanie
 Odległ. euklidesowa



Rzut przypadków na płaszczyznę czynników (1 x 2)
 Przypadki o sumie kwadratów cosinusów $\geq 0,00$





Rysunek 22. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla antocyjanów w czerwonym winie, B – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych

Figure 22. A – hierarchical cluster analysis applied to anthocyanins of red wines, B – scatter plot for the main sources of variations among anthocyanins in red wine, C – projection of variables on the factor plane (1x2)

Nie stwierdzono wyraźnych korelacji pomiędzy rodzajami win, można natomiast zauważyć zależność wynikającą z różnicy w udziale procentowym 3-*O*-glukozydu malwidyny i 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny. Po dokonaniu klasyfikacji przypadków metodą analizy składowych głównych otrzymano współrzędne czynnikowe wskazujące, iż różnice pomiędzy winami w grupie antocyjanów polegają w głównej mierze na poziomie stężenia dwóch głównych pochodnych, jakimi są 3-*O*-glukozyd malwidyny i 3-*O*-glukozyd-5-*O*-glukozyd malwidyny; oba związki są ze sobą ujemnie skorelowane.

Profil antocyjanowy w winie zależy nie tylko od oryginalnego profilu owoców, z których wyprodukowane zostało wino, ale również od zastosowanej techniki winiarskiej. Głównym procesem, w trakcie którego dochodzi do wzbogacenia wina w związki polifenolowe, jest maceracja. Podczas maceracji dochodzi do ekstrakcji polifenoli zawartych w skórce i nasionach w trakcie fermentacji. Po kilku dniach fermentacji antocyjany osiągają maksymalne stężenie, po czym ich poziom zaczyna się obniżać na skutek adsorpcji przez ściany komórkowe drożdży (Mazauric i Salomon 2006; Medina i in. 2005). Do pewnych strat antocyjanów dochodzi również w wyniku tworzenia soli z kwasem winowym oraz koloidami obecnymi w winie, które ulegają wytrącaniu i oddzielane są w czasie filtracji wina. Przemiany enzymatyczne zachodzące w winie (np. hydroliza) również w pewnym stopniu przyczyniają się do zmian jakościowych i ilościowych profilu antocyjanowego w winie. Antocyjany w winie łatwo ulegają reakcjom utleniania (Lopes i in. 2007) oraz kondensacji (Mazza i Francis 1995). Tempo tych zmian zależy od rodzaju antocyjanów oraz od sposobu przechowywania wina. Acylowane pochodne właściwie zanikają całkowicie w krótkim czasie po zakończeniu fermentacji. Nie bez znaczenia pozostaje również sposób przechowywania wina; w winie dojrzewającym w beczkach wspomniane przemiany są spowolnione w porównaniu do wina butelkowanego (Wrolstad i in. 2005; Monagas i in. 2005a). Mimo tych wszystkich procesów antocyjany w winie, podobnie jak w skórce owoców, uważane są za główne kryterium chemotaksonomiczne używane do określenia różnic w gatunkach wina, pochodzenia wina, jak również określenia zastosowanej techniki winiarskiej (Etievant i Schilich 1988; Gonzalez-San Jose i in. 1990; Almela i in. 1996; Arozarena i in. 2000).

Analizowany profil jakościowy antocyjanów w winach znajduje potwierdzenie w opracowaniach innych autorów, niemniej jednak profil ilościowy jest trudny do porównania z kilku względów. Po pierwsze, tak samo jak w przypadku owoców brak jest wystarczających opracowań opisujących wina z tej części Europy oraz wyprodukowanych z tych konkretnych odmian winogron. Po drugie, ciężko jest zweryfikować zastosowaną technikę winiarską (np. czas maceracji) lub wiek analizowanego wina. Z licznych opracowań wynika, że stężenie antocyjanów w winie, w zależności od zastosowanej techniki, miejsca pochodzenia oraz wieku mieści się w określonym zakresie wynoszącym od 40 mg/L do 800 mg/L. Stężenie antocyjanów w winach wyprodukowanych z odmian szlachetnych wynosi odpowiednio 316–337 mg/L w winie Cabernet Sauvignon, 338–371 mg/L w winie Merlot oraz 171–273 mg/L w winie Pinot noir (Mazza i in. 1999). W winach wyprodukowanych z owoców będących hybrydami międzygatunkowymi zawartość antocyjanów jest wyższa i mieści się w zakresie 400–700 mg/L (Kelebek i in. 2010). Zawartość antocyjanów w analizowanych

winach w większości przypadków przekracza ten zakres. Trudno jest jednoznacznie określić, czy cecha ta jest charakterystyczna dla chłodniejszego klimatu, niemniej jednak w winach z innych, cieplejszych regionów stężenie antocyjanów również było niższe (Kallithraka i in. 2001; Revilla i Gonzales-Sanjose 2001; Sun i in. 2001; Spranger i in. 2004; Echeverry i in. 2005). Przyczyną tych rozbieżności może być wiek analizowanych win. W niniejszym opracowaniu analizy zostały przeprowadzone na winach młodych, w których wyżej opisane procesy zaszły w mniejszej skali.

4.3.1.2. Flawonole

Zawartość flawonoli w gatunkowych i kupażowanych winach czerwonych została przedstawiona w tabelach 28 i 29. W winach gatunkowych z rocznika 2013 średnia zawartość flawonoli wynosi 69,45mg/L. Najniższe stężenie tych pochodnych odnotowano w winie wyprodukowanym z owoców odmiany Cabernet Cortis – 56,17 mg/L, natomiast najwyższe w winie z odmiany Regent 83,11 mg/L. Wina uzyskane z odmian Rondo i Marechal Foch charakteryzowały się wyższą zawartością flawonoli w porównaniu do średniej; ich zawartość była zbliżona i wynosiła odpowiednio 76,20 mg/L i 73,13 mg/L. Pozostałe dwie odmiany – Cabernet Dorsa i Leon Millot, również charakteryzowały się podobnym stężeniem flawonoli, które wynosiło odpowiednio 63,03 mg/L oraz 65,05 mg/L i było niższe od przyjętej wartości średniej. Wina z rocznika 2014 cechowały takie same proporcje, jednak całkowita zawartość flawonoli w porównaniu z rocznikiem wcześniejszym była nieznacznie mniejsza. Średnia zawartość flawonoli dla tych win wynosiła 66,42 mg/L. Podobna zawartość flawonoli występowała w winach kupażowanych z rocznika 2013 – 67,57 mg/L. Większe stężenie w porównaniu do średniej zaobserwowano w winach C1, C2 oraz C6, w pozostałych winach kupażowanych z tego rocznika zawartość flawonoli była mniejsza. Analizując udział poszczególnych odmian w tworzeniu tych win, widać, iż dodatek odmian takich, jak: Leon Millot, Marechal Foch oraz Cabernet Dorsa wpływał na obniżenie zawartości flawonoli. Najwyższą zawartością flawonoli charakteryzowało się wino C1 wyprodukowane z odmian Frontenac i Heridan. Wina wytworzone w następnym roku charakteryzowały się niższą zawartością flawonoli w porównaniu do roku 2013. Średnia zawartość tych pochodnych wynosiła 56,87 mg/L. Najwyższa zawartość flawonoli występowała w winie C5 wyprodukowanym z odmian Regent i Rondo i wynosiła 66,09 mg/L. Pozostałe wina charakteryzują się niższą zawartością flawonoli, która wynika z udziału innych odmian, w szczególności Cabernet Cortis. We wszystkich rodzajach win związkiem dominującym stanowiącym blisko połowę wszystkich flawonoli był 3-*O*-glukozyd myricetyny. Jego średni udział wynosił ok. 45% całkowitej zawartości flawonoli w winach czerwonych. Kolejnym związkiem

wykazującym znaczny udział w sumarycznej zawartości tych pochodnych był 3-*O*-glukozyd kwercetyny. Jego średni odsetek wynosił ok. 25%. Łącznie oba te związki stanowiły ponad 70% wszystkich flawonoli w czerwonym winie. Spośród pozostałych pochodnych najwyższym udziałem, wynoszącym ok. 6% całkowitej zawartości flawonoli w winie czerwonym charakteryzowały się 3-*O*-ramnozyd kwercetyny i 3-*O*-ramnozyd dihydroksykwercetyny. Udział pozostałych związków nie przekraczał łącznie 10%. Proporcje te z niewielkimi wyjątkami były zbliżone we wszystkich rodzajach win zarówno gatunkowych, jak i kupażowanych, i nie różniły się znacząco w kolejnych latach. Pochodne kwercetyny oraz mirycetyny stanowiły łącznie 90% wszystkich flawonoli, a ich wzajemne proporcje wynosiły 1 : 1. Udział pozostałych pochodnych wynosił łącznie 10%, z czego dihydroksykwercetyna stanowiła połowę. Dominującym rodzajem pochodnych były 3-*O*-glukozydy, ich odsetek sięgał ok. 80%, 3-*O*-ramnozydy stanowiły ok. 10%, pozostałe pochodne łącznie nie przekraczały 5% całkowitej zawartości flawonoli w winie czerwonym. Niższy odsetek 3-*O*-glukozydów zaobserwowano zarówno w winach gatunkowych, jak i kupażowanych z rocznika 2014.

Zawartość flawonoli w winach białych została przedstawiona w tabelach 30 i 31. Stężenie flawonoli w winach otrzymanych z odmian o białych owocach było blisko trzykrotnie niższe niż w winach czerwonych. W winach gatunkowych średnie stężenie flawonoli wynosiło 22,64 mg/L oraz 20,19 mg/L odpowiednio w rocznikach 2013 i 2014. Wina wyprodukowane z owoców odmian Muscat oraz Prairie Star charakteryzowały się najwyższą zawartością flawonoli, natomiast Seyval Blanc, Sibera i Solaris najniższą. Wina kupażowane cechowała najniższa zawartość flawonoli. W winach z rocznika 2013 średnia zawartość flawonoli wynosiła 16,02 mg/L, natomiast z rocznika 2014 – 12,65 mg/L. Ta grupa win charakteryzowała się stosunkowo wyrównanym stężeniem flawonoli, które nieznacznie wahało się w stosunku do przyjętych wartości średnich. Udział poszczególnych pochodnych w całkowitej zawartości flawonoli przedstawiał się podobnie jak w winach czerwonych. Dwa związki: 3-*O*-glukozyd mirycetyny oraz 3-*O*-glukozyd kwercetyny stanowiły zdecydowaną większość, a ich udział wynosił odpowiednio 45% i 30%. Analizując pozostałe pochodne, odnotowano mniejszą ilość 3-*O*-ramnozydu dihydroksykwercetyny i większą 4'-*O*-glukozydu kwercetyny w porównaniu do win czerwonych. Udział procentowy poszczególnych aglikonów przedstawiał się podobnie jak w winach czerwonych, natomiast biorąc pod uwagę rodzaj glikozydowej pochodnej, stwierdzono większą zawartość glukozydów i mniejszą ramnozydów.

Tabela 28. Średnia zawartość flawonoli w winach czerwonych z rocznika 2013 mg/L
Table 28. Mean value of flavonols in red wines from 2013 in mg/L

Lp.	Rocznik 2013/Year 2013											
	Wina gatunkowe/Quality wine						Wina kupazowane/Cuvee					
	CC ^a	CD	LM	MF	Rg	Rd	C1	C2	C3	C4	C5	C6
1	0,30 ^c	0,35 ^b	0,30 ^c	0,38 ^b	0,40 ^a	0,29 ^c	0,44 ^d	0,43 ^a	0,28 ^c	0,31 ^c	0,27 ^c	0,17 ^d
2	0,46 ^c	0,49 ^c	0,23 ^e	0,35 ^c	0,47 ^c	1,05 ^a	0,67 ^b	0,60 ^b	0,22 ^e	0,29 ^d	0,31 ^d	0,98 ^a
3	0,28 ^d	0,38 ^c	0,34 ^c	0,21 ^d	0,66 ^a	0,67 ^a	0,41 ^b	0,46 ^b	0,32 ^c	0,17 ^e	0,44 ^b	0,63 ^a
4	23,69 ^d	28,40 ^c	28,80 ^c	33,10 ^b	32,60 ^b	35,29 ^a	34,69 ^a	34,71 ^a	27,02 ^c	26,75 ^c	21,60 ^d	32,97 ^b
5	1,40 ^e	2,30 ^d	3,55 ^b	2,26 ^d	4,01 ^a	2,49 ^d	2,04 ^d	2,81 ^c	3,33 ^b	1,83 ^e	2,66 ^c	2,32 ^c
6	1,88 ^e	1,87 ^e	1,33 ^f	4,21 ^a	4,78 ^a	4,00 ^a	2,75 ^d	2,29 ^d	1,24 ^f	3,40 ^b	3,17 ^c	3,74 ^b
7	18,46 ^c	21,36 ^b	20,22 ^b	20,96 ^b	25,44 ^a	16,81 ^d	27,03 ^a	26,11 ^a	18,98 ^c	16,94 ^d	16,86 ^d	15,71 ^d
8	3,14 ^c	2,53 ^d	3,88 ^b	3,78 ^b	4,45 ^a	4,72 ^a	4,59 ^a	3,09 ^c	3,64 ^b	3,06 ^c	2,95 ^c	4,41 ^a
9	1,04 ^d	0,65 ^e	0,91 ^d	2,41 ^c	4,81 ^a	3,70 ^b	1,52 ^e	0,80 ^f	0,85 ^f	1,95 ^a	3,19 ^b	3,46 ^b
10	2,54 ^c	1,44 ^d	3,20 ^b	3,68 ^b	2,59 ^c	5,96 ^a	3,71 ^b	1,76 ^d	3,00 ^b	2,98 ^b	1,72 ^d	5,57 ^a
11	1,42 ^c	1,15 ^d	1,29 ^c	0,52 ^e	1,77 ^b	0,44 ^e	2,07 ^a	1,40 ^e	1,21 ^d	0,42 ^e	1,17 ^d	0,41 ^e
12	1,57 ^b	2,12 ^a	1,00 ^e	1,26 ^b	1,11 ^c	0,78 ^d	2,31 ^a	2,59 ^a	0,94 ^e	1,02 ^c	0,74 ^d	0,53 ^d
Suma	56,17^e	63,03^d	65,05^d	73,13^b	83,11^a	76,20^b	82,25^a	77,04^b	61,04^d	59,11^e	55,07^e	70,89^c
Total												

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo

a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 29. Średnia zawartość flawonoli w winach czerwonych z rocznika 2014 mg/L.
Table 29. Mean value of flavonols in red wines from 2014 in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wine											
	CC ^a	CD	LM	MF	Rg	Rd	CI	C2	C3	C4	C5	
1	0,07 ^d	0,45 ^b	0,20 ^c	0,62 ^a	0,71 ^a	0,22 ^c	0,09 ^d	0,40 ^b	0,18 ^c	0,44 ^b	0,19 ^c	
2	0,16 ^c	0,22 ^d	0,37 ^c	0,45 ^b	0,40 ^b	0,56 ^a	0,19 ^d	0,20 ^d	0,33 ^c	0,32 ^c	0,47 ^b	
3	0,15 ^d	0,35 ^c	0,60 ^a	0,65 ^a	0,30 ^e	0,58 ^a	0,18 ^d	0,31 ^c	0,54 ^a	0,46 ^b	0,48 ^b	
4	26,65 ^c	26,57 ^c	31,38 ^a	27,63 ^b	34,35 ^a	34,99 ^a	31,36 ^a	23,42 ^c	28,39 ^b	19,62 ^d	29,23 ^b	
5	2,18 ^c	3,18 ^b	5,28 ^a	4,27 ^a	4,46 ^a	3,63 ^b	2,56 ^c	2,80 ^c	4,78 ^a	3,03 ^b	3,04 ^b	
6	1,78 ^f	2,93 ^c	1,64 ^f	4,08 ^a	2,95 ^c	3,63 ^b	2,09 ^e	2,58 ^d	1,49 ^f	2,90 ^c	3,03 ^c	
7	10,73 ^d	12,31 ^d	12,05 ^d	16,60 ^c	23,08 ^a	20,42 ^b	12,63 ^d	10,85 ^d	10,90 ^d	11,79 ^d	17,06 ^c	
8	2,96 ^c	2,87 ^c	4,28 ^a	4,04 ^a	3,50 ^b	4,66 ^a	3,48 ^b	2,53 ^c	3,87 ^b	2,87 ^c	3,89 ^b	
9	2,33 ^b	3,81 ^a	0,72 ^d	3,33 ^a	1,22 ^e	2,84 ^b	2,74 ^b	3,35 ^a	0,65 ^d	2,37 ^b	2,38 ^b	
10	3,02 ^c	5,58 ^a	3,05 ^c	4,47 ^a	3,68 ^c	4,87 ^a	3,56 ^c	4,92 ^a	2,76 ^d	3,18 ^c	4,07 ^b	
11	0,72 ^d	0,28 ^e	1,65 ^a	1,74 ^a	0,32 ^e	1,09 ^c	0,85 ^c	0,25 ^e	1,49 ^a	1,24 ^b	0,91 ^c	
12	0,30 ^f	0,53 ^e	1,90 ^b	1,13 ^c	2,21 ^a	1,61 ^b	0,35 ^f	0,46 ^c	1,72 ^b	0,80 ^d	1,34 ^c	
Suma	51,06^c	59,08^c	63,11^c	69,01^b	77,18^a	79,10^a	60,07^c	52,07^e	57,10^d	49,01^e	66,09^b	
Total												

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo

a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncana)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 30. Średnia zawartość flawonoli w winach białych z rocznika 2013 mg/L
Table 30. Mean value of flavonols in white wines from 2013 in mg/L

Lp.	Rocznik 2013/Year 2013													
	Wina gatunkowe/Quality wine						Wina kupażowane/Cuvee							
	Bc ^a	Hb	Jh	Jt	Mt	PS	Sv	Sb	Sl	C1	C2	C3	C4	C5
1	0,07 ^d	0,24 ^b	0,11 ^c	0,19 ^b	0,22 ^b	0,52 ^a	0,03 ^e	0,04 ^e	0,09 ^e	0,05 ^e	0,08 ^d	0,06 ^e	0,09 ^e	0,05 ^e
2	0,15 ^b	0,01 ^e	0,17 ^b	0,05 ^d	0,25 ^a	0,06 ^d	0,05 ^d	0,14 ^b	0,16 ^b	0,07 ^c	0,16 ^b	0,04 ^d	0,02 ^e	0,09 ^e
3	0,28 ^c	0,22 ^d	0,11 ^f	0,18 ^c	0,34 ^b	0,48 ^a	0,07 ^f	0,09 ^f	0,10 ^f	0,20 ^d	0,04 ^g	0,17 ^e	0,23 ^d	0,18 ^e
4	8,18 ^c	10,03 ^b	10,93 ^b	11,38 ^a	12,42 ^a	10,84 ^b	9,48 ^b	6,75 ^d	8,89 ^c	5,94 ^d	7,86 ^c	6,28 ^d	5,92 ^d	6,03 ^d
5	1,23 ^b	0,73 ^d	0,49 ^e	0,92 ^c	0,34 ^d	1,60 ^a	1,67 ^a	0,22 ^f	1,23 ^b	0,93 ^c	0,96 ^e	0,74 ^d	1,12 ^c	0,87 ^d
6	1,93 ^b	1,19 ^c	1,04 ^d	0,83 ^c	1,85 ^b	2,31 ^a	0,62 ^e	1,07 ^d	0,90 ^e	0,91 ^d	0,80 ^d	1,35 ^c	1,12 ^c	1,35 ^c
7	8,31 ^b	5,57 ^c	7,06 ^b	7,81 ^b	13,01 ^a	8,11 ^b	4,71 ^d	5,78 ^c	4,34 ^d	3,98 ^d	5,04 ^c	4,36 ^d	3,36 ^e	4,20 ^d
8	1,45 ^b	2,08 ^a	1,20 ^c	0,72 ^d	0,66 ^e	1,71 ^b	0,19 ^f	0,50 ^e	0,82 ^d	1,11 ^d	1,48 ^b	0,96 ^e	0,83 ^d	1,24 ^d
9	1,36 ^a	1,26 ^a	0,53 ^c	0,51 ^c	0,34 ^d	1,67 ^a	0,71 ^c	0,16 ^e	0,93 ^b	0,46 ^c	0,56 ^c	0,63 ^c	0,55 ^c	0,47 ^d
10	0,35 ^d	0,37 ^d	0,39 ^d	0,39 ^d	0,34 ^d	0,31 ^d	0,23 ^e	0,24 ^e	0,33 ^d	1,25 ^a	0,99 ^b	0,97 ^b	1,06 ^b	0,67 ^d
11	0,04 ^g	0,05 ^g	0,10 ^e	0,04 ^g	0,07 ^f	0,22 ^d	0,02 ^h	0,07 ^f	0,09 ^f	0,24 ^d	0,41 ^b	0,50 ^a	0,38 ^c	0,35 ^d
12	0,15 ^c	0,32 ^d	0,75 ^b	0,82 ^b	0,45 ^d	1,18 ^a	0,08 ^f	0,93 ^a	0,46 ^c	0,12 ^e	0,09 ^f	0,10 ^e	0,02 ^g	0,02 ^g
Suma	23,51^b	22,05^b	22,90^b	23,84^b	30,28^a	29,01^a	17,86^c	16,00^c	18,34^c	15,27^d	18,46^c	16,16^d	14,68^c	15,52^d
Total														

* Bc – Bianca, Hb – Hibernal, Jh – Johanner, Jt – Jutrzenka, Mt – Muscat, PS – Seyval Blanc, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sl – Solaris
a, b, c, ... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)
a, b, c, ... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 31. Średnia zawartość flawonoli w winach białych z rocznika 2014 mg/L
 Table 31. Mean value of flavonols in white wines from 2014 in mg/L

Lp.	Rocznik 2014/Year 2014													
	Wina gatunkowe/Quality wine						Wina kupazowane/Cuvee							
	Bc*	Hb	Jh	Jt	Mt	PS	Sv	Sb	Sl	C1	C2	C3	C4	C5
1	0,11 ^c	0,06 ^e	0,16 ^b	0,18 ^b	0,01 ^f	0,12 ^c	0,06 ^c	0,09 ^c	0,05 ^e	0,08 ^d	0,24 ^a	0,02 ^f	0,03 ^f	0,07 ^d
2	0,19 ^b	0,02 ^f	0,02 ^f	0,03 ^e	0,13 ^c	0,23 ^a	0,04 ^e	0,02 ^f	0,09 ^d	0,09 ^d	0,03 ^e	0,04 ^e	0,10 ^e	0,13 ^c
3	0,31 ^b	0,31 ^b	0,30 ^b	0,22 ^c	0,36 ^b	0,05 ^e	0,16 ^d	0,23 ^c	0,19 ^f	0,13 ^d	0,22 ^c	0,05 ^e	0,06 ^e	0,07 ^e
4	8,11 ^b	8,01 ^b	8,98 ^b	8,55 ^b	10,72 ^a	11,42 ^a	5,88 ^c	5,90 ^c	6,33 ^c	4,62 ^d	5,05 ^d	6,62 ^c	5,01 ^d	6,85 ^c
5	1,45 ^a	0,68 ^d	0,98 ^c	0,77 ^d	1,68 ^a	1,39 ^b	0,69 ^d	1,12 ^b	0,92 ^b	0,12 ^e	0,75 ^d	1,17 ^b	0,17 ^e	0,95 ^c
6	1,61 ^b	1,46 ^c	1,33 ^c	2,34 ^a	1,65 ^b	1,16 ^e	1,27 ^d	1,11 ^e	1,42 ^c	0,69 ^f	1,08 ^e	0,43 ^g	0,80 ^f	0,70 ^f
7	5,31 ^b	5,55 ^b	3,91 ^c	6,19 ^b	7,19 ^a	7,32 ^a	4,08 ^c	3,34 ^d	4,41 ^c	4,84 ^e	3,78 ^d	3,29 ^d	4,29 ^c	3,35 ^d
8	1,23 ^b	1,09 ^c	1,18 ^c	0,95 ^c	2,01 ^a	2,15 ^a	0,90 ^c	0,82 ^c	1,30 ^b	0,25 ^e	0,80 ^c	0,13 ^f	0,37 ^e	0,63 ^d
9	0,61 ^c	0,55 ^c	0,44 ^d	0,75 ^b	0,83 ^a	0,82 ^a	0,59 ^c	0,54 ^c	0,50 ^d	0,13 ^e	0,78 ^b	0,50 ^d	0,12 ^e	0,72 ^b
10	1,14 ^c	1,20 ^c	1,19 ^c	1,25 ^c	2,26 ^a	1,44 ^b	0,91 ^d	1,05 ^d	0,70 ^e	0,13 ^f	0,14 ^f	0,16 ^f	0,18 ^f	0,25 ^f
11	0,52 ^c	0,50 ^c	0,69 ^a	0,58 ^b	0,43 ^d	0,60 ^b	0,47 ^c	0,37 ^d	0,37 ^d	0,02 ^f	0,10 ^e	0,02 ^f	0,05 ^f	0,07 ^e
12	0,01 ⁱ	0,12 ^f	0,07 ^g	0,14 ^c	0,22 ^d	0,14 ^c	0,09 ^g	0,02 ⁱ	0,02 ⁱ	0,17 ^e	0,55 ^b	0,06 ^h	0,69 ^a	0,35 ^e
Suma	20,61^b	19,54^b	19,26^b	21,94^b	27,48^a	26,82^a	15,13^c	14,62^d	16,30^c	11,26^e	13,50^d	12,47^e	11,87^e	14,14^d
Total														

* Bc – Bianca, Hb – Hiberna, Jh – Johaniter, Jt – Jutrzenka, Mt – Muscat, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sl – Solaris

a, b, c... – te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... – the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Diagram drzewa
 Pełne wiązanie
 Odległ. euklidesowa

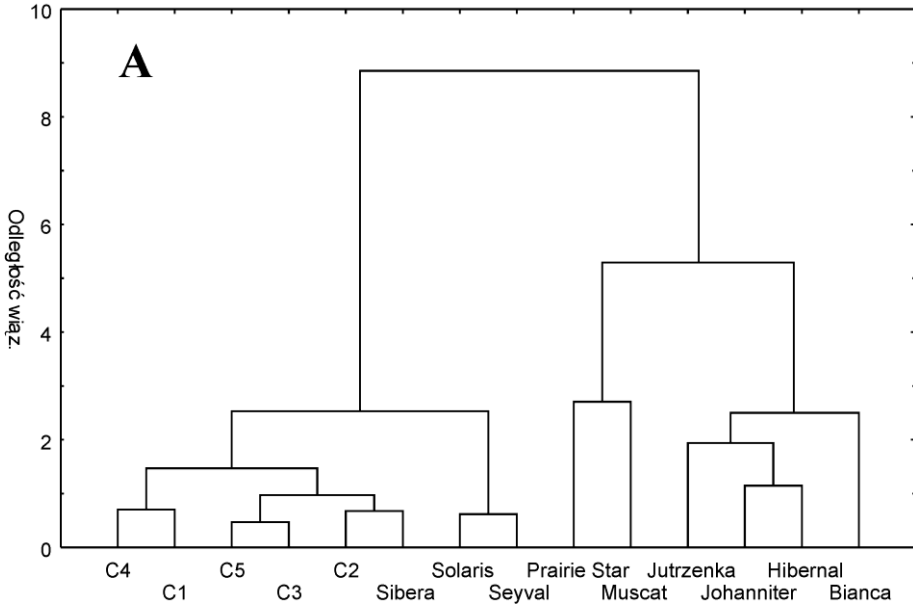
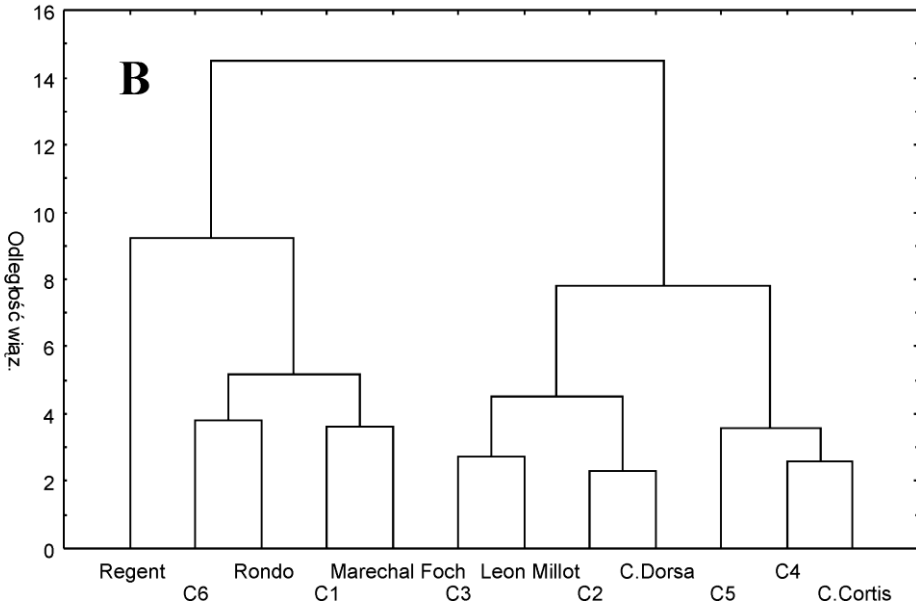
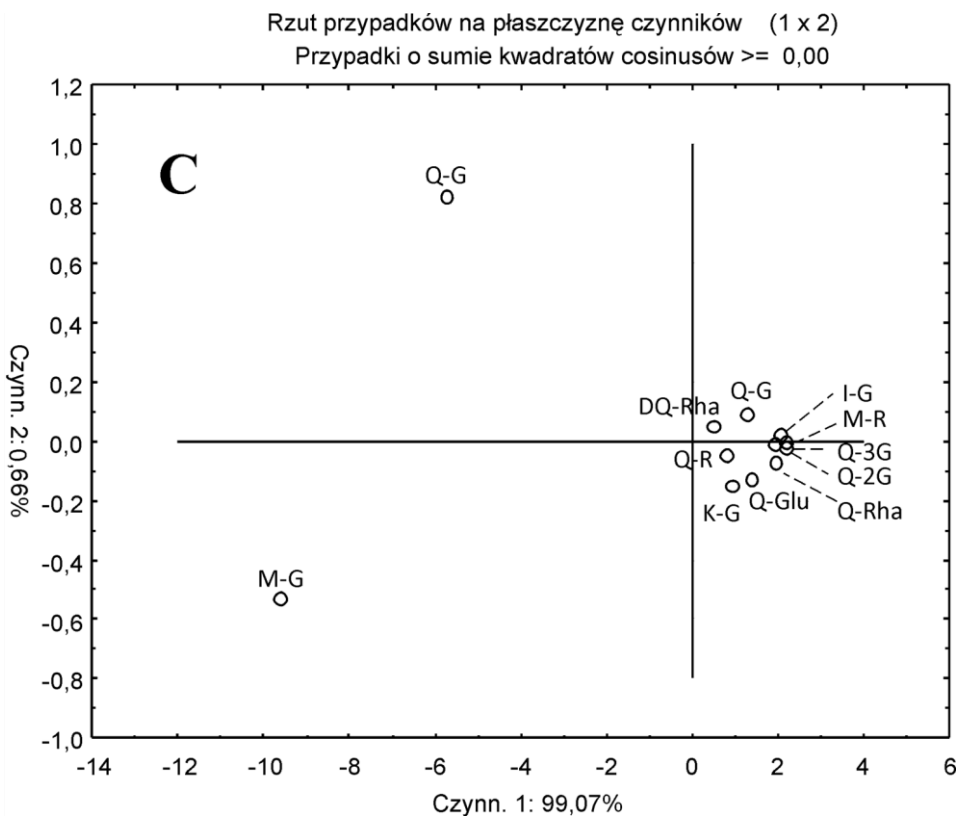


Diagram drzewa
 Pełne wiązanie
 Odległ. euklidesowa





Rysunek 23. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla flawonoli w białym winie, B – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla flawonoli w czerwonym winie, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków

Figure 23. A – hierarchical cluster analysis applied to flavonols of white wines, B – hierarchical cluster analysis applied to flavonols of red wines, C – scatter plot for the main sources of variations among flavonols in wines

Przeprowadzona analiza skupień profilu flawonolowego dla win czerwonych wyodrębniła cztery grupy. Wino wyprodukowane z owoców odmiany Regent wskazywało na wartość nietypową. Wino to charakteryzowało się najwyższym stężeniem flawonoli oraz najmniejszym odsetkiem 3-*O*-glukozydu mirycetyny – poniżej 40%. Grupa druga skupiała dwa wina kupażowane oraz dwa wina gatunkowe (Rondo i Marechal Foch), które odznaczały się wysoką zawartością flawanoli oraz najwyższym udziałem procentowym 3-*O*-glukozydu mirycetyny; jego udział pozostawał w stosunku 2 : 1 do 3-*O*-glukozydu kwercetyny. Wyodrębniona trzecia grupa zawierała wina wyprodukowane z odmian Cabernet Dorsa, Leon Millot oraz dwa wina kupażowane wytworzone z udziałem odmian Rondo i Regent. Wina te charakteryzowały się średnim stężeniem fla-

wonoli oraz wyższym udziałem 3-*O*-glukozydu kwercetyny w porównaniu do poprzednich grup.

Ostatnia, czwarta grupa skupiała wina o podobnym udziale glikozydów mirycetyny i kwercetyny, jednak sumaryczne stężenie flawonoli w tych winach było najniższe. W grupie tej znalazło się wino wyprodukowane z owoców odmiany Cabernet Cortis oraz wina kupażowane z udziałem tej odmiany. Ta sama analiza wykonana dla win białych pozwoliła wydzielić dwa główne skupiska o podobnych cechach. W pierwszym skupisku znalazły się prawie wyłącznie wina kupażowane, które charakteryzowały się najniższym stężeniem flawonoli, oraz skupienie dwóch win gatunkowych Sibera i Seyval Blanc o średnim stężeniu flawonoli. Druga główna gałąź zawierała wina gatunkowe charakteryzujące się wyższą zawartością flawonoli. Innym kryterium podobieństwa, przyjętym przy wydzieleniu mniejszych skupień, był udział dwóch głównych pochodnych – 3-*O*-glukozydu mirycetyny oraz 3-*O*-glukozydu kwercetyny. W grupie win gatunkowych udział tej drugiej pochodnej był niższy. Po dokonaniu klasyfikacji przypadków metodą analizy składowych głównych otrzymano współrzędne czynnikowe wskazujące, iż różnice pomiędzy winami w grupie flawonoli polegają w głównej mierze na poziomie stężenia dwóch głównych pochodnych, jakimi są 3-*O*-glukozyd mirycetyny i 3-*O*-glukozyd kwercetyny; oba związki są ze sobą ujemnie skorelowane.

Analizowany profil flawonolowy zawiera znacznie więcej pochodnych niż podają inne opracowania dostępne w literaturze, w których autorzy ograniczają się wyłącznie do kilku dominujących związków. Przeważnie są to glikozydy mirycetyny, kwercetyny, rzadziej kempferolu. Dla przykładu w winie Riesling profil ograniczony został do dwóch pochodnych – 3-*O*-glukuronidu kwercetyny oraz 3-*O*-glukozydu kempferolu (Betes-Saura i in. 1996; Baderschneider i Winterhalter 2001). Rozwój i dostępność dokładniejszych metod analitycznych pozwoliły w ostatnim czasie na rozszerzenie analizowanego profilu flawonolowego w winach o kolejne pochodne. Profil flawonolowy w winach produkowanych w naszym rejonie nie odbiega znacząco pod względem jakościowym, a udział procentowy poszczególnych pochodnych jest zbliżony do win produkowanych w innych częściach świata. Różnica pojawia się w profilu ilościowym, szczególnie w winach białych, gdzie stężenie flawonoli jest wyższe. Analiza win białych wyprodukowanych z różnych odmian, uprawianych w różnych rejonach, wskazuje, że zawartość flawonoli mieściła się w przedziale 2–7 mg/L (Simonetti i in. 1997; Goldberg i in. 2000; Majo i in. 2008; Makris i in. 2006; Mateus i in. 2001; Tsanova i Ribnarova 2002). W niniejszym opracowaniu średnia zawartość flawonoli jest blisko dwukrotnie wyższa niż w winach z innych regionów. Zjawisko to jest trudne do interpretacji ze względu na brak danych literaturowych dotyczących win z tej części Europy, nie bez znaczenia jest też wiek analizowa-

nego wina, jak również zastosowane metody analityczne, które mogły wpływać na wynik końcowy. Zawartość flawonoli w winach czerwonych jest porównywalna z winami z cieplejszych rejonów. Stężenie tych pochodnych zależy jest od użytej odmiany oraz zastosowanej techniki winiarskiej. Analizując dane literaturowe, można stwierdzić, że stężenie flawonoli w winach czerwonych mieści się w zakresie od 5 mg/L do ponad 100 mg/L (Chamkha i in. 2003; Vines i in. 2000; Orban i in. 2006; Pellegrini i in. 2000). Pod tym względem analizowane wina zbliżone są do win pochodzących z Włoch (Minussi i in. 2003; Teissedre i in. 2000), Sycylii (La Torre i in. 2006), Chorwacji (Rastija i in. 2009) oraz Grecji (Kallithraka i in. 2006), a więc rejonów o klimacie śródziemnomorskim.

4.3.1.3. Flawan-3-ole

Zawartość flawan-3-oli w winach wyprodukowanych z czerwonych owoców została przedstawiona w tabeli 32. W winach gatunkowych z rocznika 2013 całkowita zawartość flawan-3-oli mieściła się w zakresie od 166,30 mg/L do 290,83 mg/L, ze średnią wartością 225,80 mg/L. Najniższa zawartość występowała w winach wyprodukowanych z odmiany Cabernet Cortis, natomiast najwyższa z owoców odmiany Regent. Wyższą zawartością w stosunku do średniej charakteryzowały się jeszcze wina wytworzone z odmiany Cabernet Dorsa (250,59 mg/L), w pozostałych winach całkowita zawartość flawan-3-oli była niższa od przyjętej wartości średniej. W winach z rocznika 2014 całkowita zawartość flawan-3-oli była niższa i wynosiła średnio 192,04 mg/L. W tym roczniku wina otrzymane z owoców odmian Regent i Rondo charakteryzowały się najwyższą zawartością flawan-3-oli, najniższą zaś wyprodukowane z odmian Cabernet Cortis i Leon Millot, podobnie jak w roczniku poprzednim. W obu rocznikach związkiem dominującym była (+)katechina; jej udział wynosił średnio ok. 45% sumarycznej zawartości flawan-3-oli. W winach otrzymanych z odmiany Rondo w dwóch kolejnych latach zaobserwowano wyższy udział tej pochodnej wynoszący odpowiednio 52% w roku 2013 i 58% w roku 2014. W winach wyprodukowanych z owoców odmiany Leon Millot udział (+)katechiny był najniższy i wynosił 25% i 32%, również w winie otrzymanym z owoców Cabernet Cortis z rocznika 2014 zaobserwowano niższy odsetek tej pochodnej w całkowitej zawartości flawan-3-oli. Drugim związkiem pod względem stężenia była (-)epikatechina. Jej udział w całkowitej zawartości flawan-3-oli wynosił średnio ok. 30% i był niższy w winach, w których zaobserwowano większy odsetek (+)katechiny. Udział procyanidyny B1 i procyanidyny B2 był mniej więcej wyrównany w winach z rocznika 2013, natomiast z rocznika 2014 udział procyanidyny B2 był zauważalnie mniejszy. W winach otrzymanych z owoców odmiany Regent i Rondo oraz w winie otrzymanym z owoców Marechal Foch z rocznika 2014 zaobserwowano mniejszy udział procyanidyny B2.

Udział 3-*O*-galusanu (-)epikatechiny we wszystkich winach był marginalny i wynosił poniżej 1%. Zawartość flawan-3-oli w winach kupażowanych była wyższa w porównaniu do win gatunkowych. Średnia zawartość flawan-3-oli w tych winach wynosiła 244,48 mg/L oraz 227,67 mg/L, odpowiednio w latach 2013 i 2014. Najwyższa zawartość tych pochodnych charakterystyczna była dla win otrzymanych z owoców odmian Regent, Rondo oraz Frontenac. Domieszka owoców innych odmian, w szczególności Cabernet Cortis, Cabernet Dorsa i Leon Millot, powodowała obniżenie zawartości flawan-3-oli w tych winach. Związkiem dominującym była (+)katechyna, jej udział był większy w porównaniu do win gatunkowych i wynosił ponad 50%. Zawartość była tym większa, im większą ilość w wyprodukowanym winie stanowiły owoce odmian Regent i Rondo. W winie wytworzonym z połączenia tych dwóch odmian udział (+)katechiny był najwyższy i wynosił ok. 60%. Udział (-)epikatechiny wynosił średnio 23% i 28% w kolejnych latach i podobnie jak w winach gatunkowych był niższy tam, gdzie stwierdzono wyższy udział (+)katechiny. Zawartość procyanidyny B1 była wyższa w winach z rocznika 2013 i wynosiła blisko 17% całkowitej ilości flawan-3-oli, w kolejnym roczniku jej udział wynosił średnio 11%. Udział procyanidyny B2 w obu rocznikach win kupażowanych był porównywalny i wynosił średnio ok. 8%. Zawartość tych dwóch pochodnych pozostawała w stosunku bliskim 2 : 1.

W porównaniu do win gatunkowych udział 3-*O*-galusanu (-)epikatechiny był dwukrotnie wyższy, niemniej jednak nie stanowił on znacznego udziału w całkowitej zawartości flawan-3-oli. W tabeli 33 przedstawiona została zawartość flawan-3-oli w winach białych. W porównaniu z winami czerwonymi zawartość flawan-3-oli w winach wyprodukowanych z odmian o białych owocach była średnio blisko pięciokrotnie mniejsza. W winach gatunkowych z rocznika 2013 średnia całkowita zawartość flawan-3-oli wynosiła 54,32 mg/L. Najwyższa zawartość flawan-3-oli charakteryzowała wina wyprodukowane z owoców odmian Johanniter i Jutrzenka; całkowita zawartość flawan-3-oli wynosiła odpowiednio 64,03 mg/L oraz 60,89 mg/L. Najmniejsza ilość tych pochodnych występowała w odmianach Solaris (44,32 mg/L) oraz Seyval Blanc (47,19 mg/L). W pozostałych odmianach zawartość flawan-3-oli utrzymywała się na dość wyrównanym poziomie, nieznacznie odbiegającym od wartości średniej. W winach z rocznika 2014 zawartość flawan-3-oli była mniejsza i wynosiła średnio 49,12 mg/L. Podobnie jak we wcześniejszym roczniku najmniejsza zawartość flawan-3-oli była charakterystyczna dla wina otrzymanego z owoców odmiany Solaris (37,60 mg/L), natomiast najwyższa dla wina z owoców odmiany Johanniter (53,18 mg/L). W winach kupażowanych z rocznika 2013 całkowita zawartość flawan-3-oli była zbliżona do win gatunkowych i wynosiła średnio 52,01 mg/L, natomiast z rocznika 2014 była znacznie mniejsza i wynosiła średnio 39,63 mg/L.

Tabela 32. Średnia zawartość flawan-3-oli w winach czerwonych mg/L
 Table 32. Mean value of flavan-3-ols in red wines in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wine					Wina kupażowane/Cuvee						
	CC ^a	CD	LM	MF	Rg	Rd	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Rocznik 2013/Year 2013												
1	22,99 ^e	41,69 ^b	34,87 ^c	36,63 ^c	41,29 ^b	32,29 ^c	29,35 ^d	21,00 ^e	89,62 ^a	35,85 ^c	22,17 ^e	41,89 ^b
2	77,55 ^f	107,80 ^c	54,12 ^e	95,15 ^e	133,83 ^b	115,98 ^c	158,85 ^a	159,79 ^a	96,53 ^d	98,98 ^d	102,89 ^d	129,23 ^b
3	20,00 ^d	34,37 ^b	46,64 ^a	27,70 ^f	28,07 ^c	18,79 ^d	19,50 ^d	14,71 ^e	17,98 ^d	24,80 ^f	23,67 ^e	12,76 ^e
4	45,76 ^d	66,40 ^c	81,21 ^a	49,01 ^c	85,46 ^c	51,23 ^c	78,63 ^b	58,06 ^c	18,10 ^f	79,27 ^b	82,89 ^a	35,27 ^e
5	0,01 ^b	0,32 ^f	0,68 ^e	0,05 ^b	2,18 ^d	2,74 ^d	4,36 ^b	6,26 ^a	3,25 ^c	0,38 ^f	0,17 ^g	0,72 ^e
Suma Total	166,30^e	250,59^b	217,51^d	208,53^e	290,83^a	221,02^d	290,69^a	259,83^b	225,47^c	239,28^c	231,79^c	219,86^d
Rocznik 2014/Year 2014												
1	19,61 ^e	31,12 ^b	25,21 ^d	34,48 ^a	35,21 ^a	28,56 ^c	20,78 ^e	15,60 ^f	19,57 ^e	30,85 ^c	42,70 ^a	42,70 ^a
2	68,94 ^f	70,01 ^f	54,05 ^g	81,81 ^c	120,38 ^b	112,30 ^c	170,22 ^a	126,26 ^b	122,08 ^b	79,77 ^c	96,07 ^d	96,07 ^d
3	18,17 ^d	20,32 ^c	31,01 ^a	17,01 ^e	22,91 ^c	18,19 ^d	4,10 ^h	8,46 ^g	10,19 ^f	25,43 ^b	27,89 ^b	27,89 ^b
4	42,40 ^c	59,15 ^b	58,92 ^b	45,13 ^c	78,12 ^a	52,95 ^c	48,29 ^b	80,28 ^a	62,94 ^b	49,14 ^c	81,17 ^a	81,17 ^a
5	0,61 ^d	0,55 ^c	0,70 ^d	0,65 ^d	2,44 ^c	2,55 ^c	7,47 ^a	5,65 ^b	2,48 ^c	0,24 ^f	0,75 ^d	0,75 ^d
Suma Total	148,52^c	181,15^d	169,89^d	179,08^d	259,07^a	214,56^c	250,85^a	236,25^b	217,26^c	185,44^b	248,58^b	248,58^b

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

Tabela 33. Średnia zawartość flawan-3-oli w winach białych mg/L
Table 33. Mean value of flavan-3-ols in white wines in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wine										Wina kupżowane/Cuvee				
	Bc*	Hb	Jh	Jt	Mt	PS	Sv	Sb	Sl	C1	C2	C3	C4	C5	
Rocznik 2013/Year 2013															
1	1,51 ^e	4,92 ^b	7,59 ^a	0,98 ^f	1,48 ^c	0,74 ^f	3,15 ^c	4,47 ^b	4,83 ^b	3,72 ^c	2,25 ^d	3,82 ^c	3,38 ^c	1,38 ^c	
2	23,85 ^c	21,15 ^c	31,17 ^a	22,51 ^c	23,40 ^f	23,32 ^c	26,00 ^b	16,33 ^d	20,59 ^e	23,83 ^c	23,39 ^e	21,49 ^e	28,21 ^b	21,88 ^c	
3	1,22 ^d	0,79 ^e	3,36 ^b	2,84 ^c	1,20 ^d	1,30 ^d	0,92 ^e	9,48 ^a	0,11 ^f	3,17 ^c	8,02 ^a	3,91 ^b	3,01 ^c	1,12 ^d	
4	31,05 ^a	24,87 ^b	19,00 ^c	28,74 ^a	30,46 ^b	24,20 ^b	16,31 ^d	15,42 ^d	17,84 ^d	25,56 ^b	13,29 ^e	16,78 ^d	15,75 ^d	27,96 ^a	
5	0,52 ^e	1,05 ^c	2,91 ^b	5,81 ^a	0,51 ^e	3,91 ^b	0,82 ^d	5,30 ^a	0,95 ^d	0,38 ^e	3,53 ^b	3,10 ^b	0,65 ^c	0,47 ^e	
Suma	58,14^b	52,78^c	64,03^a	60,89^a	57,05^b	53,46^c	47,19^d	51,01^c	44,32^d	56,65^b	50,48^c	49,09^c	51,00^c	52,81^c	
Total															
Rocznik 2014/Year 2014															
1	2,38 ^d	4,28 ^b	5,93 ^a	4,32 ^b	3,06 ^c	1,62 ^e	2,33 ^d	5,42 ^a	3,86 ^c	1,83 ^c	4,25 ^b	3,82 ^c	4,06 ^c	2,62 ^d	
2	29,77 ^b	25,49 ^c	24,37 ^c	25,29 ^c	33,47 ^a	28,92 ^b	25,81 ^c	26,60 ^c	23,38 ^d	22,96 ^d	17,44 ^e	15,69 ^e	17,46 ^e	27,34 ^b	
3	3,47 ^a	3,72 ^a	0,08 ^f	0,48 ^d	0,04 ^f	0,30 ^e	1,10 ^c	0,57 ^d	3,08 ^a	2,68 ^b	1,88 ^c	0,05 ^f	0,65 ^d	1,38 ^c	
4	13,72 ^c	14,18 ^c	21,13 ^a	18,72 ^b	15,15 ^c	18,09 ^b	19,42 ^a	15,33 ^c	5,21 ^e	10,58 ^d	10,63 ^d	13,60 ^c	20,54 ^a	12,99 ^c	
5	2,04 ^a	0,82 ^d	1,68 ^b	2,09 ^a	0,68 ^c	0,44 ^e	1,13 ^c	1,12 ^c	2,07 ^a	1,57 ^b	1,63 ^b	1,08 ^c	0,87 ^d	0,58 ^e	
Suma	51,38^a	48,48^b	53,18^a	50,90^b	52,38^a	49,37^b	49,79^b	49,04^b	37,60^d	39,62^c	35,81^d	34,25^d	43,58^c	44,90^c	
Total															

* Bc – Bianca, Hb – Hiberna, Jh – Johaniter, Jt – Jutrzenka, Mt – Muscat, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sl – Solaris

a, b, c... te same litery w rzęдах oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności p < 0,05 (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

We wszystkich kupażach z rocznika 2013 zawartość flawan-3-oli była wyrównana, tylko w jednym winie C1 nieznacznie przewyższała wartość średnią. W kolejnym roczniku – 2014, całkowita zawartość flawan-3-oli wykazywała większe zróżnicowanie. Udział poszczególnych pochodnych w profilu flawan-3-oli w winach białych różnił się nieznacznie w porównaniu do win czerwonych. W winach gatunkowych z rocznika 2013 zauważalne były największe różnice. Łączny udział monomerów (+)katechiny i (-)epikatechiny w całkowitej zawartości flawan-3-oli wynosił blisko 85%, w większości przypadków (+)katechyna stanowiła związek dominujący, niemniej jednak w winach otrzymanych z owoców odmian Bianca i Jutrzenka związkiem dominującym była (-)epikatechyna. Procyjanidyna B1 i procyjanidyna B2 stanowiły mniejszy odsetek w porównaniu do win czerwonych, który łącznie wynosił 10% całkowitej zawartości flawan-3-oli. Największą rozbieżnością charakteryzował się 3-*O*-galusan (-)epikatechiny, którego udział wahał się od 1% w winach Bianca i Muscat do ok. 10% w winach Sibera i Jutrzenka; średni udział dla tej pochodnej wynosił ponad 4% całkowitej zawartości flawan-3-oli. Wina gatunkowe z rocznika 2014 charakteryzowały się mniejszymi rozbieżnościami w ilości poszczególnych pochodnych, niemniej jednak niektóre wina, takie jak Solaris i Muscat, charakteryzował stosunkowo większy udział (+)katechiny. Wina kupażowane pochodzące z obu roczników również charakteryzował większy udział monomerów kosztem mniejszego odsetka dimerów procyjanidynowych, oraz większym udziałem 3-*O*-galusanu (-)epikatechiny w porównaniu do win czerwonych.

W wyniku przeprowadzonej analizy skupień dla profilu flawan-3-oli wina czerwone zostały podzielone na wyraźne dwa skupienia. Pierwsze skupienie obejmowało w większości wina kupażowane oraz dwa wina gatunkowe wyprodukowane z owoców odmian Regent i Rondo. Wina kupażowane w obrębie tej grupy również zostały wytworzone z dużym udziałem wspomnianych odmian. Cechą charakterystyczną, dla której wyodrębniono to skupienie, było wysokie stężenie flawan-3-oli. Druga grupa skupiała wina o niższej zawartości flawan-3-oli i reprezentowana była przez wina gatunkowe; wśród nich znalazło się wino kupażowane z udziałem owoców odmian Cabernet Cortis. Podobna klasyfikacja występowała w winach białych. Uzyskany dendrogram na podstawie kryterium, jakim było stężenie flawan-3-oli w tych winach, podzielił je na trzy jednorodne grupy różniące się całkowitą zawartością flawan-3-oli. W porównaniu do win czerwonych nie stwierdzono wyraźnego rozgraniczenia pomiędzy winami gatunkowymi a kupażowanymi. Dodatkowym kryterium wpływającym na wyodrębnienie mniejszych grup w obrębie gałęzi był procentowy udział poszczególnych pochodnych, w szczególności (+)katechiny i (-)epikatechiny. W winach o większym stężeniu flawan-3-oli wyższy odsetek stanowiła (+)katechyna. Analiza głównych składowych wyjaśnia 98,5% wariacji międzygrupowych w winach

Diagram drzewa
 Pełne wiązanie
 Odległ. euklidesowa

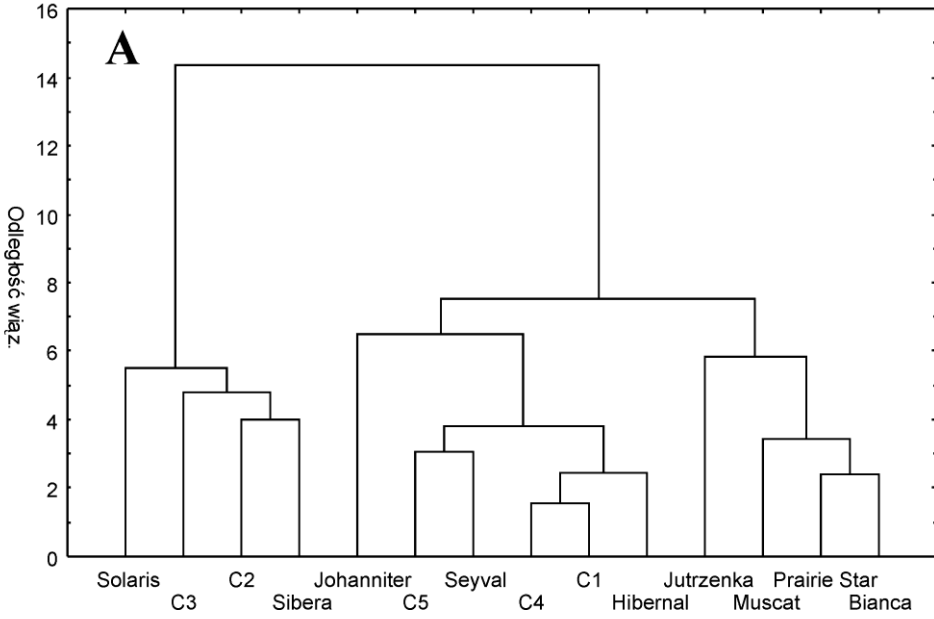
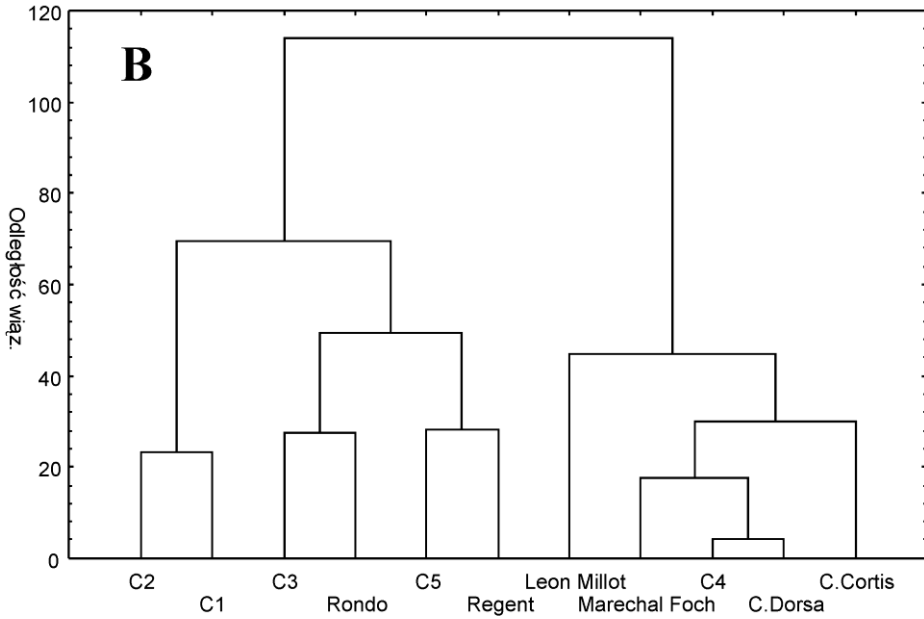
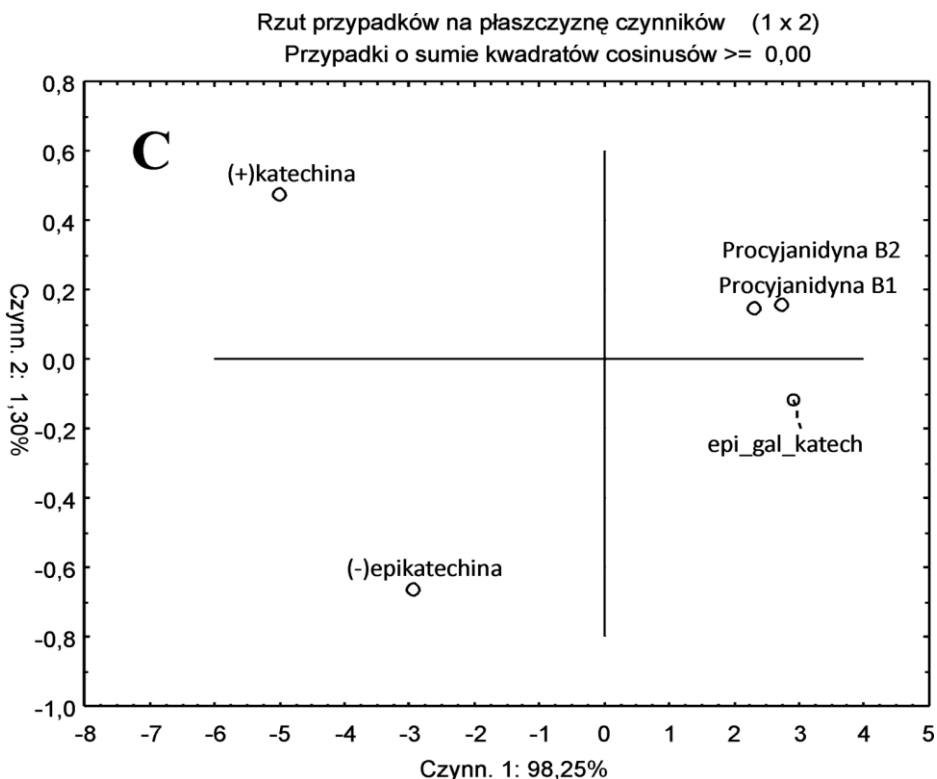


Diagram drzewa
 Pełne wiązanie
 Odległ. euklidesowa





Rysunek 24. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla flawan-3-oli w białym winie, B – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla flawan-3-oli w czerwonym winie, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków

Figure 24. A – hierarchical cluster analysis applied to flavan-3-ols of white wines, B – hierarchical cluster analysis applied to flavon-3-ols of red wines, C – scatter plot for the main sources of variations among flavan-3-ols in wines

czerwonych, przy czym pierwszy czynnik wyjaśnia 92,56% zmienności wariancyjnej, a drugi 5,99 wariancji. Pod względem profilu flawan-3-oli analizowane wina wykazują znaczne podobieństwo, nie stwierdzono wyraźnych korelacji pomiędzy rodzajami win. Można natomiast zauważyć pewne odstępstwo wina wyprodukowanego z owoców odmiany Leon Millot, które charakteryzuje się najniższym udziałem (+)katechiny. Po dokonaniu klasyfikacji przypadków metodą analizy składowych głównych otrzymano współrzędne czynnikowe wskazujące, iż różnice pomiędzy winami w grupie flawan-3-oli, polegają w głównej mierze na poziomie stężenia dwóch głównych pochodnych jakimi są (+)katechina i (-)epikatechina, oba związki są ze sobą ujemnie skorelowane we wszystkich rodzajach wina, podobną korelację wykazują dimery procyjanidynowe, ale tylko w winach czerwonych.

Flawan-3-ole obecne w winie nadają mu charakterystycznego cierpkiego smaku. Ich stężenie zależy od odmiany winogron oraz od zastosowanej technologii produkcji wina. Stosowanie maceracji w przypadku produkcji win czerwonych powoduje, iż wina te są o wiele bogatsze, jeżeli chodzi o zawartość flawan-3-oli. Podobnie jak antocyjany flawan-3-ole ulegają licznym przemianom w trakcie maceracji i fermentacji, co w efekcie wpływa na końcowe stężenie tych pochodnych w winie. Monomery (+)katechina i (-)epikatechina łatwo ulegają reakcjom utlenienia oraz kondensacji, tworząc kompleksy procyjanidynowe. Siarkowanie może w pewnym stopniu opóźnić te procesy i przyczynić się do wzbogacenia wina w te pochodne (Yokotstuka 1990). Do podniesienia stężenia flawan-3-oli w białym winie może również dochodzić w trakcie krótkiej maceracji, mającej na celu nadanie właściwego charakteru, typowego dla danej odmiany poprzez ekstrakcje substancji aromatycznych ze skórki (Cheynier i in. 1989). W winach czerwonych w przeciwieństwie do antocyjanów, które osiągają maksymalne stężenie na początku fermentacji (Nagel i Wulf 1979), flawan-3-ole ekstrahowane są w trakcie całego procesu maceracji i fermentacji, przy czym ekstrakcja z nasion postępuje wolniej niż ze skórki (Singelton i Draper 1964). Stężenie etanolu w niewielkim stopniu wpływa na tempo ekstrakcji flawan-3-oli ze skórki, natomiast w znacznym stopniu przyspiesza przechodzenie tych pochodnych z nasion do wina (Canals i in. 2006). Związane jest to z chemiczną naturą tych związków – procyjanidyny obecne w nasionach są mniej hydrofilne, dlatego też więcej procyjanidyn ekstrahowanych jest w trakcie pofermentacyjnej maceracji (Cheynier i in. 2006).

Analizowany profil jakościowy, w którym oznaczono 5 pochodnych flawan-3-oli, jest zgodny z profilem win pochodzących z innych regionów. Według licznych autorów w winach białych stężenie tych pochodnych mieści się w przedziale od 10 do 50 mg/L, natomiast w winach czerwonych ich stężenie może wynosić nawet 1500 mg/L. (+)katechina oraz (-)epikatechina są związkami dominującymi, a udział pozostałych pochodnych, w szczególności dime-rów procyjanidynowych, uzależniony jest od rodzaju wina. Bezpośrednie porównanie stężenia flawan-3-oli w analizowanych winach jest utrudnione z powodu braku doniesień opisujących te wina. Niemniej jednak zawartość tych pochodnych mieści się w przyjętym zakresie. W szczególności wina białe charakteryzują się wysokim stężeniem flawan-3-oli, wina czerwone natomiast wykazują stosunkowo mniejsze stężenie tych pochodnych w porównaniu do win wyprodukowanych w innych regionach. Trudno jest określić, co wpływa na wystąpienie tych rozbieżności. Bez wątpienia czynnikiem takim może być klimat, ale również zastosowana technika winiarska (w szczególności długość procesu maceracji).

4.3.1.4. Fenolokwasy

W tabeli 34 przedstawiono zawartość fenolokwasów w winach wyprodukowanych z odmian o czerwonych owocach. W winach gatunkowych średnie stężenie fenolokwasów wynosiło 93,34 mg/L oraz 84,35 mg/L odpowiednio w latach 2013 i 2014. W obu rocznikach największym stężeniem charakteryzowały się wina wyprodukowane z owoców odmian Regent i Rondo, najmniejszym zaś z owoców odmian Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa. Pochodne kwasu hydroksybenzoesowego stanowiły największy odsetek w całkowitej zawartości fenolokwasów. Kwas galusowy był związkiem dominującym. Jego średni udział różnił się w poszczególnych latach, w winach z rocznika 2013 wynosił ok. 70%, natomiast z rocznika 2014 był większy i sięgał 75%. Kolejnym związkiem o wyraźnie większym udziale był kwas kawowo-winowy, którego zawartość różniła się w zależności od rocznika, większy jego udział odnotowano w winach z rocznika 2013; wynosił blisko 20%. Udział pozostałych fenolokwasów w czerwonych winach obejmował łącznie ok. 10% całkowitej zawartości tych pochodnych, spośród których kwas kumarowo-winowy stanowił największy odsetek. W czerwonych winach kupażowanych zawartość fenolokwasów była niższa w porównaniu do win gatunkowych i wynosiła w kolejnych latach odpowiednio 77,69 mg/L oraz 64,88 mg/L. Wyższe stężenie fenolokwasów odnotowano w winach z większym udziałem owoców odmian Heridan, Regent i Rondo, udział pozostałych odmian powodował mniejsze stężenie tych pochodnych w winie. Podobnie jak w poprzedniej grupie win kwas galusowy był tutaj związkiem dominującym, a jego udział wynosił blisko 3/4 całkowitej zawartości fenolokwasów.

Zawartość fenolokwasów w winach wyprodukowanych z białych odmian winogron przedstawiono w tabeli 35. Ich stężenie w tych winach było blisko czterokrotnie mniejsze w porównaniu do win czerwonych. W winach gatunkowych z rocznika 2013 średnia zawartość fenolokwasów wynosiła 26,80 mg/L. Najwyższym stężeniem tych pochodnych charakteryzowały się wina wyprodukowane z odmian Sibera, Prairie Star oraz Johanniter, najmniejszą zaś z odmian Jutrzenka i Hiberna. Podobne proporcje występowały w winach z rocznika 2014, z tą jednak różnicą, iż całkowita zawartość fenolokwasów w tych winach była mniejsza i wynosiła średnio 20,99 mg/L. Wina kupażowane charakteryzowały się podobnym stężeniem fenolokwasów wynoszącym średnio 27,71 mg/L i 23,50 mg/L, odpowiednio w rocznikach 2013 oraz 2014. Oprócz różnicy w całkowitym stężeniu fenolokwasów wina białe, w odróżnieniu od czerwonych, charakteryzował inny udział poszczególnych pochodnych. Związkiem dominującym był tutaj kwas kawowo-winowy, który stanowił średnio ponad 50% udział w sumarycznej zawartości fenolokwasów w winach białych. Kwas kumarowo-winowy był drugim pod względem stężenia związkiem, a jego zawartość wynosiła średnio 30%. Udział pozostałych pochodnych wynosił około 10%, z czego połowę stanowił kwas galusowy.

Tabela 34. Średnia zawartość fenolokwasów w winach czerwonych mg/L
Table 34. Mean value of phenolic acids in red wines in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wine						Wina kupazowane/Cuvee					
	CC*	CD	LM	MF	Rg	Rd	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Rocznik 2013/Year 2013												
1	47,15 ^f	46,89 ^f	77,48 ^a	74,66 ^b	79,06 ^a	66,16 ^c	51,80 ^f	59,48 ^d	44,20 ^f	42,53 ^f	56,79 ^e	48,44 ^f
2	22,92 ^b	24,87 ^a	6,61 ^f	10,16 ^e	14,70 ^d	24,52 ^a	17,91 ^c	15,32 ^d	18,77 ^c	16,77 ^d	1,87 ^g	18,03 ^c
3	1,22 ^c	1,23 ^c	4,01 ^b	1,71 ^d	2,15 ^c	1,08 ^c	3,54 ^b	2,19 ^c	1,82 ^d	2,71 ^c	5,71 ^a	0,77 ^d
4	0,76 ^f	2,92 ^c	1,48 ^e	3,78 ^b	1,88 ^d	0,19 ^g	6,54 ^a	0,20 ^g	1,35 ^e	1,30 ^e	5,64 ^a	0,13 ^g
5	4,33 ^e	7,47 ^c	3,59 ^e	5,67 ^d	7,43 ^c	12,64 ^a	8,58 ^b	6,71 ^d	7,84 ^c	8,19 ^b	0,94 ^f	9,28 ^b
6	0,13 ^e	0,61 ^a	0,11 ^f	0,10 ^f	0,07 ^g	0,30 ^a	0,19 ^d	0,02 ^h	0,31 ^a	0,06 ^g	0,24 ^e	0,01 ^h
Suma Total	76,51^e	83,99^d	93,28^b	96,07^b	105,30^a	104,89^a	88,55^c	83,90^d	74,29^f	71,57^g	71,20^g	76,65^e
Rocznik 2014/Year 2014												
1	52,08 ^d	50,56 ^d	66,02 ^b	68,96 ^b	73,84 ^a	70,07 ^a	36,72 ^f	54,96 ^d	45,71 ^e	49,54 ^e	60,05 ^c	
2	14,23 ^b	13,76 ^b	9,57 ^c	4,48 ^e	9,87 ^c	7,84 ^d	19,48 ^a	0,28 ^g	12,44 ^b	5,13 ^e	1,98 ^f	
3	2,01 ^d	1,76 ^e	4,77 ^b	3,78 ^c	1,61 ^e	5,52 ^a	0,96 ^f	3,26 ^c	1,59 ^e	2,61 ^d	1,84 ^e	
4	0,75 ^g	1,68 ^f	2,09 ^e	6,45 ^a	3,86 ^c	5,24 ^b	2,28 ^e	3,04 ^d	1,52 ^f	3,23 ^d	2,32 ^e	
5	3,49 ^b	6,10 ^a	3,42 ^b	2,01 ^e	5,58 ^a	4,05 ^b	5,85 ^a	0,07 ^h	5,52 ^a	0,89 ^e	1,24 ^d	
6	0,05 ^g	0,07 ^g	0,11 ^e	0,16 ^e	0,10 ^f	0,16 ^e	0,48 ^b	0,77 ^a	0,06 ^g	0,34 ^c	0,25 ^d	
Suma Total	72,62^e	73,93^c	85,96^b	85,83^b	94,86^a	92,89^a	65,78^d	62,38^e	66,84^d	61,74^e	67,68^d	

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo

a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncana)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 35. Średnia zawartość fenolokwasów w winach białych mg/L
Table 35. Mean value of phenolic acids in white wines in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wine										Wina kupazowane/Cuvee				
	Bc*	Hb	Jh	Jt	Mt	PS	Sv	Sb	Sl	C1	C2	C3	C4	C5	
Rocznik 2013/Year 2013															
1	0,49 ^e	0,75 ^d	1,23 ^b	1,32 ^b	0,70 ^d	1,14 ^c	1,23 ^b	1,31 ^b	0,73 ^d	2,43 ^a	2,41 ^a	1,11 ^c	1,14 ^c	2,33 ^a	
2	12,01 ^d	12,02 ^d	15,63 ^c	10,04 ^e	12,48 ^d	16,38 ^c	15,80 ^c	21,72 ^a	17,93 ^b	13,46 ^d	11,02 ^d	11,28 ^d	18,57 ^b	12,01 ^d	
3	0,27 ^h	0,47 ^f	0,39 ^g	1,14 ^d	2,66 ^a	2,52 ^a	0,50 ^f	0,74 ^e	0,53 ^f	1,68 ^b	1,02 ^d	0,32 ^g	0,76 ^e	1,25 ^e	
4	0,30 ^g	0,39 ^g	0,29 ^h	0,50 ^f	0,97 ^d	0,48 ^f	0,34 ^g	1,92 ^b	0,05 ^f	0,72 ^e	1,27 ^c	0,16 ^f	0,53 ^f	2,39 ^a	
5	9,61 ^b	6,31 ^d	13,64 ^a	5,55 ^d	6,20 ^d	13,70 ^a	10,29 ^b	10,20 ^b	5,86 ^d	13,78 ^a	11,36 ^b	9,25 ^b	10,02 ^b	7,26 ^c	
6	0,06 ^f	0,10 ^f	0,05 ^f	0,86 ^a	0,36 ^b	0,19 ^d	0,18 ^d	0,34 ^b	0,26 ^c	0,15 ^e	0,22 ^d	0,09 ^f	0,20 ^d	0,38 ^b	
Suma	22,74^e	20,05^e	31,23^b	19,42^f	23,38^e	34,41^a	28,35^c	36,23^a	25,35^d	32,22^b	27,30^e	22,21^c	31,20^b	25,63^d	
Total															
Rocznik 2014/Year 2014															
1	0,97 ^b	0,90 ^b	1,18 ^b	0,73 ^c	0,53 ^d	0,87 ^c	0,39 ^e	0,82 ^c	0,29 ^e	0,62 ^d	1,46 ^d	1,42 ^a	1,58 ^a	0,56 ^d	
2	10,82 ^d	10,72 ^d	17,87 ^b	7,70 ^e	12,13 ^c	21,36 ^a	16,24 ^b	21,16 ^a	8,35 ^e	15,25 ^c	17,53 ^b	10,77 ^d	16,76 ^b	10,07 ^d	
3	0,27 ^e	0,24 ^e	0,35 ^d	0,12 ^f	0,29 ^e	0,13 ^f	0,43 ^d	0,19 ^f	0,87 ^c	0,35 ^d	0,39 ^d	1,23 ^b	0,26 ^e	2,14 ^a	
4	0,08 ^f	0,23 ^e	0,28 ^e	0,24 ^e	0,06 ^f	0,10 ^f	0,74 ^b	0,39 ^d	1,66 ^a	0,38 ^d	0,38 ^d	0,53 ^c	0,52 ^c	0,78 ^b	
5	6,58 ^b	2,56 ^e	6,72 ^b	2,76 ^e	5,56 ^e	6,02 ^b	5,70 ^b	6,70 ^b	5,85 ^e	12,19 ^a	4,18 ^d	5,95 ^b	6,01 ^b	5,00 ^f	
6	0,01 ^f	0,04 ^e	0,09 ^e	0,03 ^e	0,03 ^e	0,09 ^e	0,08 ^e	0,09 ^e	0,26 ^b	0,07 ^d	0,07 ^d	0,92 ^a	0,06 ^d	0,29 ^b	
Suma	18,73^a	14,68^f	26,50^b	11,58^g	18,61^c	28,57^a	23,59^c	29,35^a	17,30^e	28,86^b	24,01^c	20,82^d	25,20^b	18,85^e	
Total															

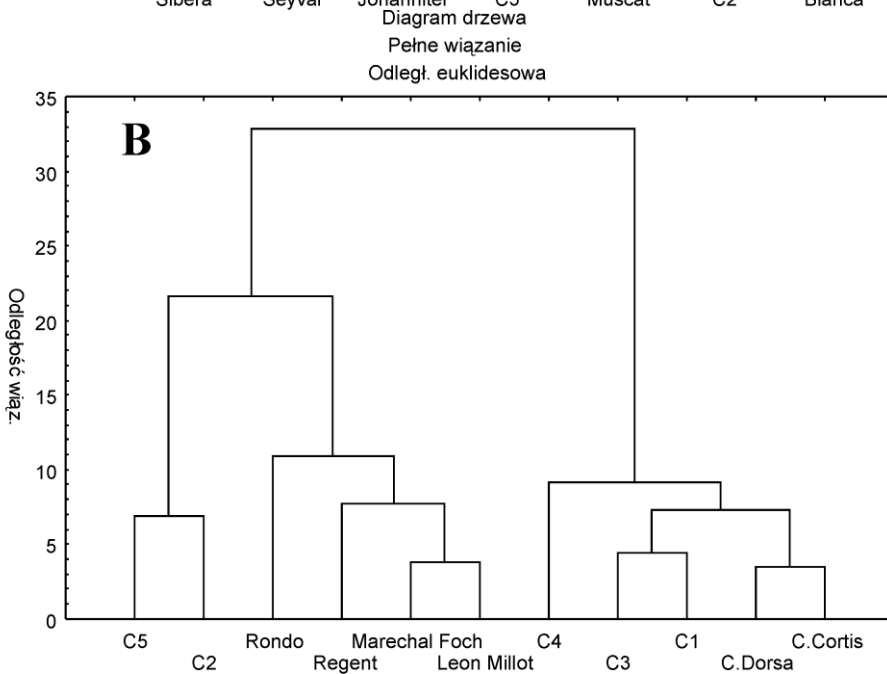
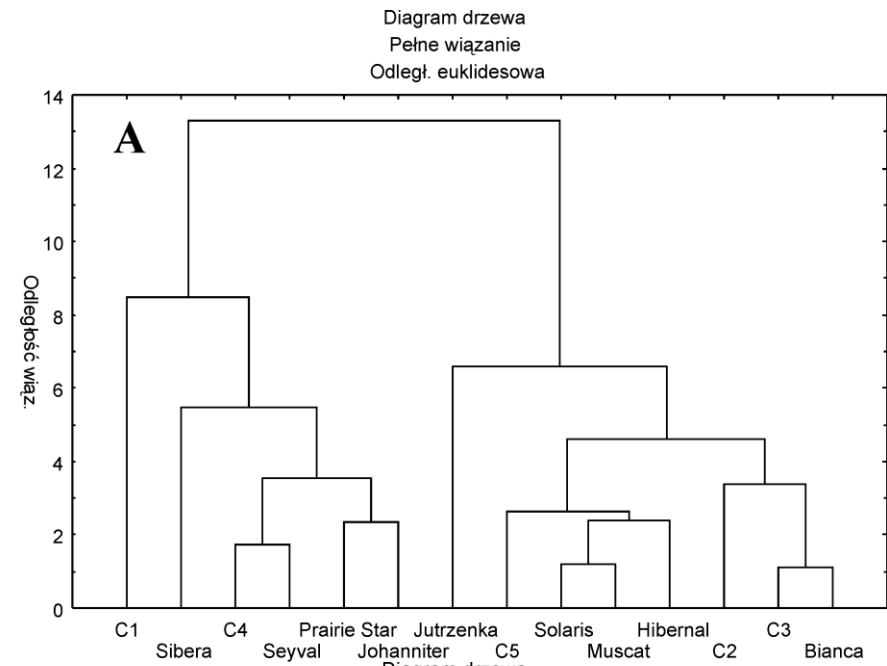
* Bc – Bianca, Hb – Hibernal, Jh – Johanner, Jt – Jutrzenka, Mt – Muscat, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sl – Solaris
a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności p < 0,05 (test Duncana)
a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

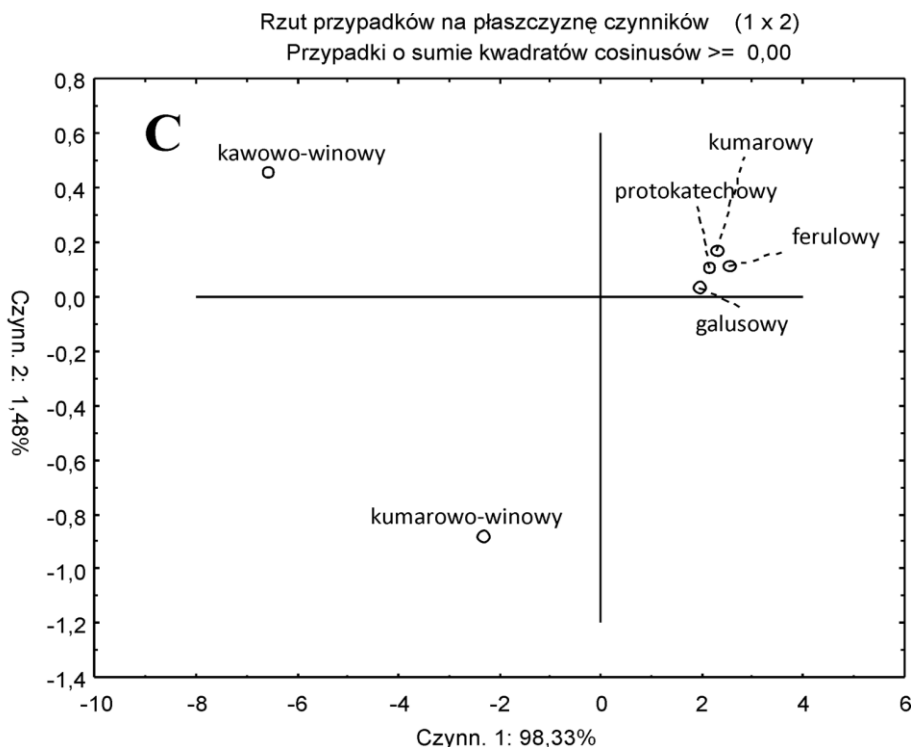
Podobnie jak we wcześniejszych przypadkach analiza skupień profilu fenolokwasów w winach doprowadziła do wyodrębnienia jednorodnych klas na podstawie różnicy stężeń tych pochodnych w poszczególnych winach. W winach czerwonych zaznaczało się wyraźne rozgraniczenie pomiędzy winami kupażowanymi i gatunkowymi, dodatkowym kryterium w podziale na odpowiednie klastry był udział kwasu galusowego, którego odsetek był wyższy w winach gatunkowych. W winach białych oprócz stężenia fenolokwasów decydował również udział estrów kwasu winowego. Udział kwasu kawowo-winowego był wyższy w grupie pierwszej, charakteryzującej się wyższą całkowitą zawartością fenolokwasów. W drugiej grupie, o niższym stężeniu ogólnym fenolokwasów, udział kwasu kawowo-winowego był zbliżony do grupy pierwszej, wyższym odsetkiem charakteryzował się z kolei kwas *p*-kumarowo-winowy.

Po dokonaniu klasyfikacji przypadków metodą analizy składowych głównych otrzymano współrzędne czynnikowe wskazujące proporcjonalność czynnika 1 i stężenia. W przypadku win czerwonych czynnik ten zależny był w głównej mierze od stężenia kwasu galusowego, natomiast w winach białych były to kwasy kawowo-winowy i *p*-kumarowo-winowy. Oba związki wykazują ujemną korelację.

Pochodne kwasu hydroksybenzoesowego występują w winie przeważnie w formie wolnej (Monagas i in. 2005b). Najwyższym stężeniem charakteryzuje się kwas galusowy, który pochodzi nie tylko od winogron, lecz również może powstawać na skutek hydrolizy tanin hydrolizujących i kondensujących (Vanhoenacker i in. 2001). Stężenie kwasów hydroksybenzoesowych zależne jest w dużej mierze od odmiany i warunków wzrostu winogron. W hiszpańskich winach musujących stężenie kwasu galusowego wynosi od 0,3 do 1,3 mg/L (Poza-Bayon i in. 2003). W winach pochodzących z regionu La Rioja zawartość kwasu protokatechowego mieściła się w granicach 0,5–0,93 mg/L, natomiast kwasu galusowego powyżej 2,5 mg/L (Pena-Neira i in. 2000). W winach czerwonych z tego rejonu stężenie kwasu galusowego wynosiło nawet 41,6 mg/L (Hernandez i in. 2007). Pochodne kwasu hydroksycynamonowego występują rzadziej w formie wolnej, częściej występują w formie estrów np. z kwasem winowym (Ong i Nagel 1978; Somers i in. 1987). Związkiem dominującym w tej grupie jest ester kwasu kawowo-winowego, którego udział może wynosić powyżej 50% całkowitej zawartości fenolokwasów w winie. Inne pochodne o znaczącym udziale to również kwas kumarowo-kawowy, kwas ferulowy oraz *p*-kumarowy. Podobnie jak w przypadku innych polifenoli również stężenie fenolokwasów w dużej mierze zależy od wielu czynników, takich jak: odmiana winogron, warunki klimatyczne, technologia winiarska, dlatego też w publikowanych danych stężenie fenolokwasów różni się znacząco. Generalnie można przyjąć, iż stężenie tej grupy pochodnych wynosi ok. 100 mg/L (Andres-Lacueva i in. 1996; Baldi i in. 1993; Boursiquot i in. 1986; Cheynier i in. 1989; Herrick i Nagel

1985; Herrmann 1989; Lao i in. 1996; Lee i Jaworski 1989; Okamura i Watanabe 1981; Ricardo da Silva i in. 1993; Singleton i in. 1986).





Rysunek 25. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla fenolokwasów w białym winie, B – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla fenolokwasów w czerwonym winie, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków

Figure 25. A – hierarchical cluster analysis applied to phenolic acids of white wines, B – hierarchical cluster analysis applied to phenolic acids of red wines, C – scatter plot for the main sources of variations among flavonols in wines

O ile stężenie fenolokwasów w analizowanych winach znajduje potwierdzenie w danych literaturowych, o tyle profil jakościowy przedstawia się nieco odmiennie. Zidentyfikowane pochodne są charakterystyczne dla regionów o cieplejszym klimacie (Socha i in. 2009; Paixo i in. 1999). Według niektórych autorów w winach z chłodniejszych regionów charakterystyczne jest występowanie w dużym stężeniu kwasów kawowego i chlorogenowego (Socha i in. 2015). W niniejszym opracowaniu nie stwierdzono występowania na poziomie oznaczalności wspomnianych pochodnych, co pozostaje w sprzeczności z wcześniejszymi doniesieniami. Na chwilę obecną brakuje więcej informacji mogących jednoznacznie potwierdzić postawioną przez cytowanych autorów hipotezę. Przyczyną tych rozbieżności może być zastosowana procedura analityczna, w której autorzy mogli nie podjąć próby oznaczenia innych pochodnych, szczególnie estrów kwasu winowego.

4.3.1.5. Stilbeny

Średnia zawartość stilbenów w winach gatunkowych wyprodukowanych z owoców czerwonych odmian wynosiła w dwóch kolejnych rocznikach odpowiednio 3,39 mg/L i 2,87 mg/L (tabela 36). Największą zawartością stilbenów charakteryzowały się wina wyprodukowane z odmian Regent, Rondo oraz Leon Millot, najmniejszą zaś z odmian Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa. W winach kupażowanych zawartość stilbenów była niższa i wynosiła odpowiednio 2,27 mg/L oraz 1,93 mg/L w rocznikach 2013 i 2014. Podobnie jak w przypadku poprzednich rodzajów polifenoli, tak i tutaj decydującą rolę odgrywał rodzaj owoców, z których zostały wyprodukowane poszczególne wina. Większą zawartością stilbenów charakteryzowały się wina z udziałem odmian Regent, Rondo i Frontenac. W obu rodzajach win związkiem dominującym był *cis*-piceid, którego udział różnił się między poszczególnymi rocznikami i rodzajami wina. Średni udział tej pochodnej wynosił ok. 60%, najwyższy to ok. 85%, a najniższy 50%. Kolejnym związkiem wykazującym dość znaczny udział w całkowitej zawartości stilbenów w winach czerwonych był *cis*-resweratrol. Jego zawartość stanowiła średnio ok. 25% wszystkich stilbenów i podobnie jak w przypadku jego glikozydowej pochodnej udział ten był wyraźnie zróżnicowany pomiędzy rodzajami i gatunkami wina. W niektórych winach stanowił związek dominujący. *Trans*-resweratrol oraz *trans*-piceid stanowiły średnio wyrównany odsetek wynoszący ok. 7% całkowitej zawartości stilbenów. Podobnie jak poprzednio udział ten był wyraźnie zróżnicowany i mieścił się w zakresie od poniżej 1% do nawet 17%.

Zawartość stilbenów w winach białych (tabela 37) była blisko dziesięciokrotnie mniejsza w porównaniu do win czerwonych. W winach gatunkowych wynosiła 0,28 mg/L oraz 0,29 mg/L odpowiednio w rocznikach 2013 i 2014. Wino wyprodukowane z owoców odmiany Hibernál z rocznika 2013 było jedynym, które charakteryzowało się wysoką zawartością stilbenów wynoszącą 1,15 mg/L. W pozostałych winach zawartość tych pochodnych była na dość zbliżonym poziomie. Również wina kupażowane charakteryzowały się zbliżonym stężeniem stilbenów. W tej grupie win całkowita średnia zawartość stilbenów wynosiła 0,30 mg/L oraz 0,23 mg/L odpowiednio w rocznikach 2013 i 2014. Udział poszczególnych pochodnych, podobnie jak w winach czerwonych, był wyraźnie zróżnicowany pomiędzy rodzajami wina.

W odróżnieniu od win czerwonych wina białe charakteryzowały się mniejszym odsetkiem izomerów *cis*- wynoszącym ok. 70%. Dominującą pochodną był *cis*-piceid, którego średni udział wynosił ok. 50%. Drugim związkiem pod względem stężenia był *cis*-resweratrol ze średnim udziałem wynoszącym ok. 20%. Udział izomerów *trans*-resweratrolu i *trans*-piceidu był wyższy niż w winach białych i wynosił średnio 10% i 15% całkowitej zawartości stilbenów w winach wyprodukowanych z białych odmian winogron.

Tabela 36. Średnia zawartość stilbenów w winach czerwonych mg/L
 Table 36. Mean value of stilbenes in red wines in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wine								Wina kupażowane/Cuvee					
	CC ^a	CD	LM	MF	Rg	Rd	C1	C2	C3	C4	C5	C6		
Rocznik 2013/Year 2013														
1	0,08 ^f	0,03 ^g	0,36 ^b	0,21 ^d	0,12 ^f	0,53 ^a	0,26 ^c	0,18 ^e	0,26 ^c	0,16 ^e	0,16 ^e	0,03 ^g		
2	0,37 ^f	0,17 ^g	1,63 ^a	0,80 ^c	0,64 ^d	1,85 ^a	0,98 ^b	0,72 ^e	0,52 ^e	0,40 ^f	0,51 ^e	0,17 ^g		
3	0,09 ^d	0,22 ^b	0,17 ^c	0,22 ^b	0,61 ^a	0,15 ^c	0,27 ^b	0,17 ^c	0,06 ^e	0,04 ^e	0,05 ^e	0,22 ^b		
4	0,96 ^c	1,85 ^c	2,17 ^b	1,67 ^c	3,68 ^a	1,78 ^c	2,06 ^b	1,78 ^c	1,45 ^d	1,56 ^d	1,25 ^d	1,85 ^c		
Suma Total	1,50^g	2,27^c	4,33^b	2,91^d	5,05^a	4,31^b	3,58^c	2,86^d	2,30^e	2,17^f	1,97^f	2,27^c		
Rocznik 2014/Year 2014														
1	0,05 ^d	0,14 ^b	0,19 ^b	0,16 ^b	0,12 ^c	0,39 ^a	0,18 ^b	0,04 ^d	0,05 ^d	0,02 ^d	0,04 ^d			
2	0,25 ^f	0,54 ^d	1,11 ^b	0,34 ^e	0,78 ^c	1,94 ^a	0,65 ^c	0,21 ^f	0,50 ^d	0,56 ^d	0,26 ^f			
3	0,02 ^f	0,26 ^c	0,03 ^f	0,36 ^b	0,47 ^a	0,10 ^e	0,17 ^d	0,02 ^f	0,14 ^d	0,15 ^d	0,03 ^f			
4	1,01 ^e	1,17 ^c	2,61 ^b	1,07 ^e	3,00 ^a	1,14 ^e	1,30 ^d	1,68 ^c	1,21 ^d	2,22 ^b	1,60 ^e			
Suma Total	1,31^c	2,10^c	3,94^b	1,92^d	4,37^a	3,57^b	2,29^c	1,95^d	1,91^d	2,95^b	1,93^d			

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo
 a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)
 a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 37. Średnia zawartość stilbenów w winach białych mg/L
Table 37. Mean value of stilbenes in white wines in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wine													
	Bc ^a	Hb	Jh	Jt	Mt	PS	Sv	Sb	Sl	C1	C2	C3	C4	C5
Rocznik 2013/Year 2013														
1	0,10 ^b	0,08 ^c	0,01 ^e	0,04 ^d	0,23 ^a	0,10 ^b	0,01 ^e	0,01 ^e	0,01 ^e	0,03 ^d	0,04 ^d	0,03 ^d	0,02 ^e	0,03 ^e
2	0,02 ^e	0,38 ^a	0,04 ^e	0,11 ^b	0,04 ^e	0,06 ^d	0,05 ^d	0,05 ^d	0,02 ^e	0,11 ^b	0,12 ^b	0,12 ^b	0,09 ^c	0,12 ^b
3	0,17 ^b	0,08 ^c	0,07 ^c	0,09 ^c	0,29 ^a	0,11 ^b	0,02 ^e	0,05 ^d	0,05 ^d	0,04 ^d	0,04 ^d	0,04 ^d	0,05 ^d	0,05 ^d
4	0,22 ^c	0,61 ^a	0,20 ^c	0,30 ^b	0,24 ^b	0,21 ^c	0,16 ^d	0,25 ^b	0,20 ^c	0,13 ^d	0,14 ^d	0,08 ^e	0,07 ^e	0,14 ^d
Suma	0,51^c	1,15^a	0,31^e	0,53^c	0,79^b	0,47^d	0,23^f	0,36^e	0,28^f	0,32^e	0,35^e	0,27^f	0,23^f	0,34^e
Total														
Rocznik 2014/Year 2014														
1	0,05 ^b	0,02 ^d	0,01 ^e	0,01 ^e	0,02 ^d	0,03 ^c	0,01 ^e	0,01 ^e	0,01 ^e	0,07 ^a	0,01 ^e	0,01 ^e	0,02 ^d	0,02 ^d
2	0,04 ^c	0,11 ^a	0,04 ^c	0,01 ^d	0,02 ^d	0,12 ^a	0,03 ^c	0,07 ^b	0,02 ^d	0,01 ^d	0,06 ^b	0,01 ^d	0,07 ^b	0,11 ^a
3	0,09 ^a	0,04 ^c	0,02 ^d	0,06 ^b	0,09 ^a	0,07 ^b	0,02 ^d	0,03 ^d	0,05 ^c	0,09 ^a	0,01 ^d	0,05 ^c	0,05 ^c	0,04 ^c
4	0,16 ^c	0,04 ^f	0,10 ^d	0,15 ^c	0,19 ^b	0,43 ^a	0,21 ^b	0,06 ^c	0,19 ^b	0,07 ^e	0,09 ^d	0,12 ^c	0,19 ^b	0,04 ^f
Suma	0,34^b	0,21^d	0,17^e	0,23^d	0,32^b	0,64^a	0,28^e	0,17^e	0,26^c	0,25^e	0,18^e	0,20^d	0,33^b	0,22^d
Total														

* Bc – Bianca, Hb – Hibernal, Jh – Johamiter, Jt – Jurzenka, Mt – Muscat, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sl – Solaris

a, b, c... te same litery w rządach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Diagram drzewa
 Pełne wiązanie
 Odległ. euklidesowa

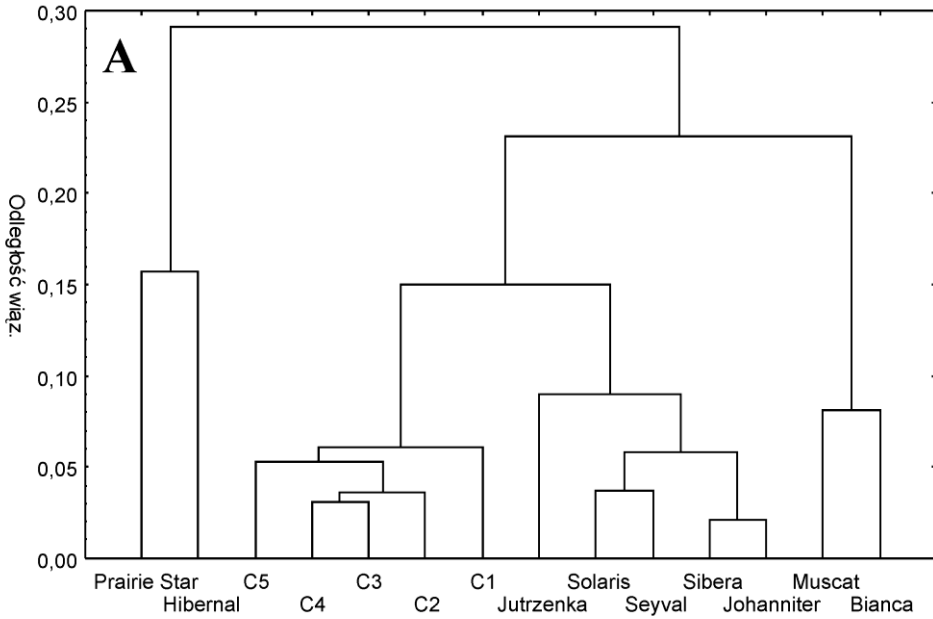
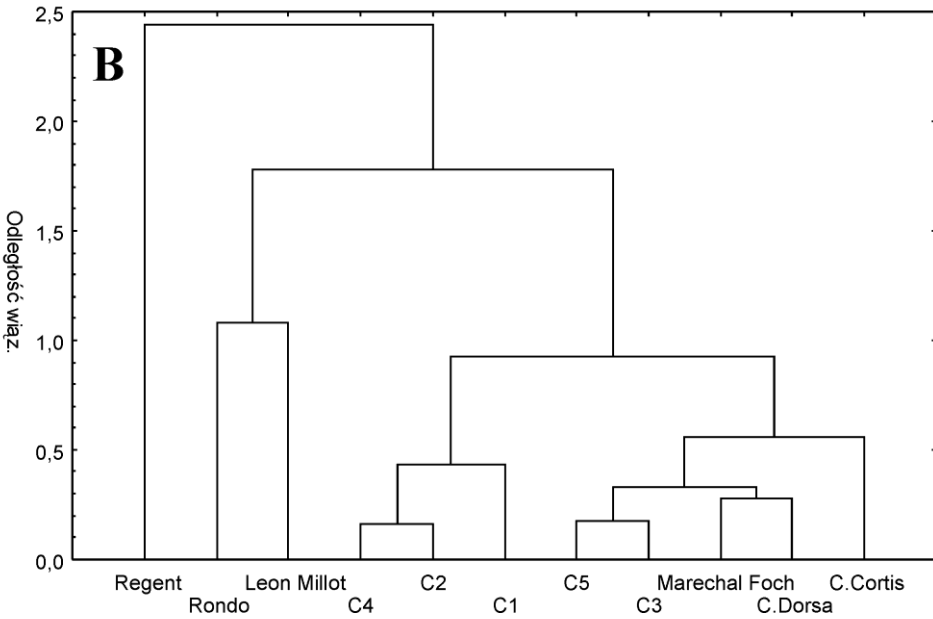
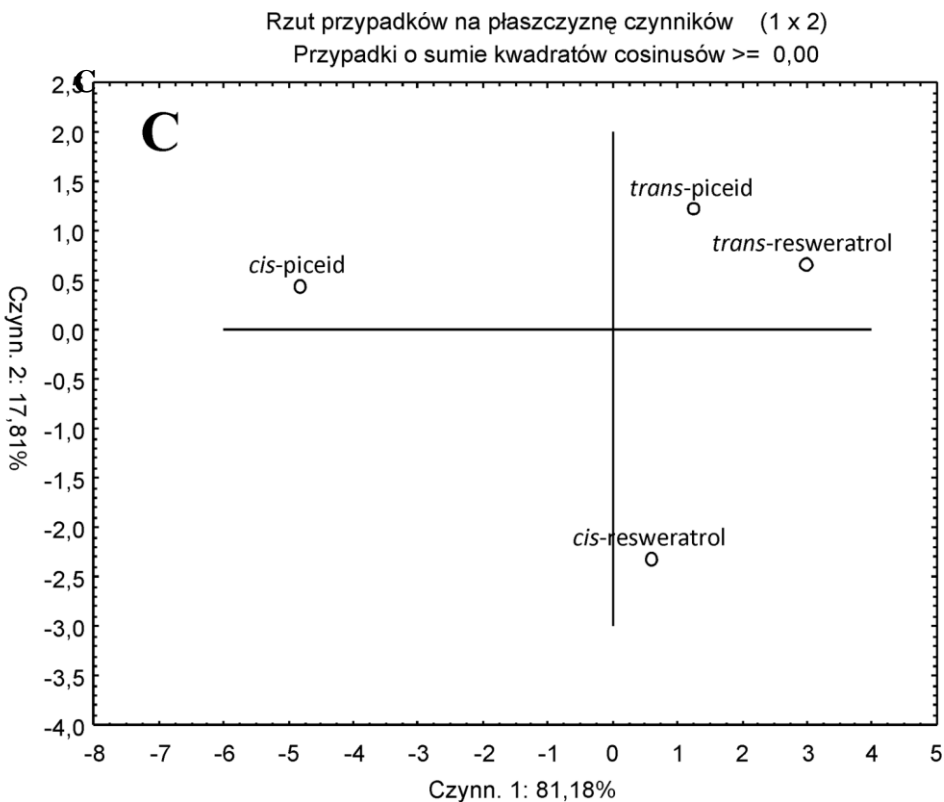


Diagram drzewa
 Pełne wiązanie
 Odległ. euklidesowa





Rysunek 26. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla stilbenów w białym winie, B – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla stilbenów w czerwonym winie, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków

Figure 26. A – hierarchical cluster analysis applied to stilbenes of white wines, B – hierarchical cluster analysis applied to stilbenes of red wines, C – scatter plot for the main sources of variations among stilbenes in wines

Dendrogram uzyskany dla profilu stilbenów w winach czerwonych wskazywał na wartość nietypową dla wina wyprodukowanego z owoców odmiany Regent. Wino to charakteryzowało się największym stężeniem stilbenów spośród wszystkich analizowanych gatunków wina. Kolejną, wyraźnie zarysowaną grupę tworzyły wina otrzymane z owoców odmian Rondo i Leon Millot, które także charakteryzowały się wysokim stężeniem tych pochodnych. W następnych klastrach stężenie stilbenów było mniejsze, z wyraźnym podziałem pomiędzy wina kupażowane i gatunkowe. Udział poszczególnych izomerów *cis*- i *trans*- w niewielkim stopniu wpływał na charakter tworzonych grup i był zauważalny w ostatniej, czwartej grupie; w winach skupionych w obrębie tego klastra odnotowano mniejszy udział *cis-piceidu*. W dendrogramie uzyskanym dla win białych powsta-

łe skupienia wyodrębnione zostały na podstawie stężenia stilbenów w poszczególnych winach. Wyraźnie zaznaczone zostały dwa klastry, z najwyższą (Prairie Star i Hibernial) oraz najniższą (Muscat i Bianca) całkowitą zawartością stilbenów. W pozostałych dwóch klastrach stężenie stilbenów było wyrównane, niemniej jednak zauważalne było rozgraniczenie pomiędzy winami kupażowanymi a gatunkowymi. Udział poszczególnych pochodnych również miał wpływ na tworzenie się mniejszych grup w obrębie danej gałęzi. W winach kupażowanych w obrębie klastra drugiego charakterystyczny był mniejszy udział *cis*-piceidu, natomiast w winach gatunkowych w obrębie klastra trzeciego stwierdzono większy udział *trans*-resweratrolu.

Analiza głównych składowych wyjaśnia ponad 99% wariacji międzygrupowych w obu rodzajach wina. Pod względem profilu stilbenów wina wykazują zauważalne zróżnicowanie w zakresie stężenia oraz udziału procentowego poszczególnych pochodnych. Po dokonaniu klasyfikacji przypadków metodą analizy składowych głównych otrzymano współrzędne czynnikowe wskazujące, podobnie jak w przypadku fenolokwasów, proporcjonalność czynnika 1 od stężenia. W obu rodzajach win zauważalna była zależność pomiędzy udziałem izomerów *-cis*.

Stężenie stilbenów w winie różni się znacząco w zależności od odmiany winogron, stosowanej technologii winiarskiej, a przede wszystkim od stopnia porażenia owoców przez patogeny roślinne, głównie grzyby (Cantos i in. 2003; Gambuti i in. 2004). Może również w dużym stopniu zależeć od aktywności enzymatycznej drożdży oraz bakterii fermentacji mlekowej (Poussier i in. 2003). Starzenie się wina wydaje się nie mieć dużego wpływu na stężenie stilbenów (Jeandet i in. 1995). Wina czerwone zawierają więcej stilbenów ze względu na dłuższy kontakt skórki z moszczem w trakcie fermentacji oraz ze względu na wyższą zawartość tych pochodnych w odmianach o czerwonych owocach (Perrone i in. 2007). Formy *cis*- i *trans*-resweratrolu występują w stężeniu 0,2–13,0 mg/L i 0,1–0,8 mg/L odpowiednio w winach czerwonych i białych. Stosunkowo więcej resweratrolu zawierają wina wyprodukowane w chłodniejszych regionach, co wynika z wyższego stężenia tych pochodnych w owocach (Stecher i in. 2001). Stężenie glikozydowej pochodnej resweratrolu – piceidu wynosi odpowiednio 0,3–9,0 mg/L oraz 0,1–2,2 mg/L w winach czerwonych i białych (Goldberg i in. 1995; Goldberg i in. 1996; Lamuela-Raventos i in. 1995; Sato i in. 1997; Naugler i in. 2007; Romero-Perez i in. 1996). W niektórych winach portugalskich odnotowano bardzo wysokie stężenie *trans*-piceidu, wynoszące 68 mg/L (Ribeiro de Lima i in. 1999). Profil jakościowy i ilościowy stilbenów w analizowanych winach nie odbiega istotnie od profilu win pochodzących z innych regionów. Stężenie stilbenów jest porównywalne i mieści się w pewnym zakresie wynikającym z analizy doniesień literaturowych.

4.3.1.6. Porównanie całkowitej zawartości związków polifenolowych w winach

Całkowitą zawartość związków polifenolowych w winach czerwonych przedstawiono w tabeli 38. W winach gatunkowych średnie całkowite stężenie polifenoli wynosiło 1022,18 mg/L oraz 922,69 mg/L, odpowiednio w rocznikach 2013 i 2014. W obu rocznikach największym stężeniem polifenoli charakteryzowały się wina wyprodukowane z odmian Regent (1410 mg/L) oraz Rondo (1261,76 mg/L). Najmniejsze z kolei stężenie było charakterystyczne dla win otrzymanych z odmian Cabernet Cortis oraz Cabernet Dorsa i było ono blisko dwukrotnie mniejsze w porównaniu do win o maksymalnej zawartości badanych związków. Wina otrzymane z owoców odmian Leon Millot i Marechal Foch charakteryzowały się zbliżonym stężeniem polifenoli, nieznacznie odbiegającym od przyjętej średniej. Największy udział w całkowitej zawartości polifenoli stanowiły antocyjany, których odsetek wynosił ok. 60%. Mniejszą zawartością antocyjanów charakteryzowały się wina wyprodukowane z odmian Cabernet Cortis oraz Cabernet Dorsa, udział tej grupy polifenoli sięgał tu odpowiednio 41% i 48%. Udział flawan-3-oli w winach gatunkowych wynosił średnio ok. 23% i był wyższy w winach, w których stwierdzono mniejszy odsetek antocyjanów. Kwasy fenolowe stanowiły średnio ok. 10% całkowitej zawartości polifenoli, a ich stężenie, podobnie jak w przypadku flawan-3-oli, było wyższe w winach o mniejszej zawartości antocyjanów. Pochodne flawonolowe charakteryzowały się średnio 7% stężeniem; większe stężenie było w winach otrzymanych z owoców odmian Cabernet Cortis oraz Cabernet Dorsa. Udział stilbenów był marginalny i wynosił ok. 0,3%. Wina kupazowane charakteryzowały się większym stężeniem polifenoli, ich średnia zawartość w kolejnych latach wynosiła odpowiednio 1176,81 mg/L oraz 980,03 mg/L. Najwyższe stężenie polifenoli występowało w winach wyprodukowanych z owoców odmian Regent, Rondo i Frontenac. Dodatek owoców innych odmian, w szczególności Cabernet Dorsa i Cabernet Cortis, powodował obniżenie stężenia polifenoli. W porównaniu do win gatunkowych udział poszczególnych klas polifenoli nie podlegał zauważalnemu zróżnicowaniu. Udział antocyjanów wynosił średnio 66% w winach z rocznika 2013 i 63% w winach z kolejnego rocznika i był nieznacznie niższy w winach z udziałem odmian Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa. Udział flawan-3-oli nie różnił się znacząco w poszczególnych winach; średni udział związków tej grupy wynosił ok. 20%. Flawonole oraz kwasy fenolowe charakteryzowały się podobnym udziałem, który wynosił ok. 6%, stilbeny natomiast stanowiły najmniejszy odsetek wynoszący ok. 0,2%.

Stężenie polifenoli w winach otrzymanych z odmian o białych owocach było ponad dziesięciokrotnie mniejsze niż w winach czerwonych (tabela 39). W winach gatunkowych średnie stężenie polifenoli wynosiło 104,28 mg/L (2013) i 90,60 mg/L (2014). Największe stężenie charakteryzowało wina otrzymane z owoców odmian Johanniter, Prairie Star, Muscat i Bianca, najniższe natomiast

Tabela 38. Całkowita zawartość związków polifenolowych w winach czerwonych mg/L
Table 38. Total phenolic content in red wines in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wine					Wina kupazowane/Cuvee						
	CC*	CD	LM	MF	Rg	Rd	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Rocznik 2013/Year 2013												
A**	212,20 ^b	379,19 ^g	763,76 ^d	645,01 ^e	925,71 ^a	855,34 ^c	943,15 ^a	882,61 ^b	571,55 ^f	787,88 ^d	698,11 ^e	823,93 ^c
F	56,17 ^e	63,03 ^d	65,05 ^d	73,13 ^c	83,11 ^a	76,20 ^b	82,25 ^a	77,04 ^b	61,04 ^d	59,11 ^e	55,07 ^e	70,89 ^c
F3-ol	166,30 ^e	250,59 ^b	217,51 ^d	208,53 ^d	290,83 ^a	221,02 ^d	290,69 ^a	259,83 ^b	225,47 ^c	239,28 ^c	231,79 ^e	219,86 ^d
K	76,51 ^e	83,99 ^d	93,28 ^b	96,07 ^b	105,30 ^a	104,89 ^a	88,55 ^c	83,90 ^d	74,29 ^e	71,57 ^f	71,20 ^f	76,65 ^c
S	1,50 ^e	2,27 ^d	4,33 ^b	2,91 ^d	5,05 ^b	4,31 ^b	3,58 ^c	2,86 ^d	2,30 ^d	2,17 ^d	1,97 ^e	2,27 ^d
Suma Total	512,67^g	779,07^f	1143,9^c	1025,6^d	1410,0^a	1261,7^b	1408,2^a	1306,2^b	934,66^e	1160,0^e	1058,1^d	1193,6^c
Rocznik 2014/Year 2014												
A	178,72 ⁱ	335,53 ^h	696,44 ^d	570,19 ^f	889,96 ^a	791,04 ^c	642,01 ^e	677,18 ^d	542,70 ^f	465,73 ^g	814,36 ^b	
F	51,06 ^e	59,08 ^c	63,11 ^c	69,01 ^b	77,18 ^b	79,10 ^a	60,07 ^c	52,07 ^e	57,10 ^d	49,01 ^f	66,09 ^b	
F3-ol	148,52 ^f	181,15 ^d	169,89 ^e	179,08 ^d	259,07 ^a	214,56 ^c	250,85 ^a	236,25 ^b	217,26 ^e	185,44 ^d	248,58 ^a	
K	72,62 ^c	73,93 ^c	85,96 ^b	85,83 ^b	94,86 ^a	92,89 ^a	65,78 ^d	62,38 ^e	66,84 ^d	61,74 ^e	67,68 ^d	
S	1,31 ^f	2,10 ^d	3,94 ^b	2,10 ^d	4,37 ^a	3,57 ^b	2,29 ^c	1,95 ^e	1,91 ^e	2,95 ^e	1,93 ^e	
Suma Total	452,23^b	651,79^g	1019,3^c	906,22^d	1325,4^a	1181,1^b	1021,0^c	1029,8^e	885,81^e	764,87^f	1198,6^b	

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo

** A – antocyjany/anthocyanins, F – flawonole/flavonols, F3-ol – flavan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes

a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 39. Całkowita zawartość związków polifenolowych w winach białych mg/L
 Table 39. Total phenolic content in white wines in mg/L

Lp.	Wina gatunkowe/Quality wines										Wina kupazowane/Cuvee				
	Bc*	Hb	Jh	Jt	Mt	PS	Sv	Sb	Sl	C1	C2	C3	C4	C5	
Rocznik 2013/Year 2013															
F*	23,51 ^b	22,05 ^b	22,90 ^b	23,84 ^b	30,28 ^a	29,01 ^a	17,86 ^c	16,00 ^d	18,34 ^c	15,27 ^d	18,46 ^c	16,16 ^d	14,68 ^d	15,52 ^d	
F3-ol	58,14 ^b	52,78 ^c	64,03 ^a	60,89 ^b	57,05 ^b	53,46 ^c	47,19 ^c	51,01 ^d	44,32 ^c	56,65 ^c	50,48 ^d	49,09 ^d	51,00 ^d	52,81 ^c	
K	22,74 ^d	20,05 ^d	31,23 ^b	19,42 ^c	23,38 ^d	34,41 ^a	28,35 ^c	36,23 ^a	25,35 ^c	32,22 ^b	27,30 ^c	22,21 ^d	31,20 ^b	25,63 ^c	
S	0,51 ^c	1,15 ^a	0,31 ^d	0,53 ^c	0,79 ^b	0,47 ^c	0,23 ^c	0,36 ^d	0,28 ^e	0,32 ^d	0,35 ^d	0,27 ^e	0,23 ^e	0,34 ^d	
Suma	104,90^c	96,04^d	118,48^a	104,69^c	111,50^b	117,36^a	93,62^d	103,61^c	88,30^e	104,46^c	96,59^d	87,73^e	97,11^d	94,31^d	
Total															
Rocznik 2014/Year 2014															
F	20,61 ^b	19,54 ^b	19,26 ^b	21,94 ^b	27,48 ^a	26,82 ^a	15,13 ^c	14,62 ^c	16,30 ^c	11,26 ^d	13,50 ^d	12,47 ^d	11,87 ^d	14,14 ^c	
F3-ol	51,38 ^a	48,48 ^b	53,18 ^a	50,90 ^b	52,38 ^a	49,37 ^b	49,79 ^b	49,04 ^b	37,60 ^d	39,62 ^d	35,81 ^d	34,25 ^d	43,58 ^c	44,90 ^c	
K	18,73 ^c	14,68 ^d	26,50 ^b	11,58 ^d	18,61 ^c	28,57 ^a	23,59 ^b	29,35 ^a	17,30 ^c	28,86 ^a	24,01 ^b	20,82 ^c	25,20 ^b	18,85 ^c	
S	0,34 ^b	0,21 ^d	0,17 ^e	0,23 ^c	0,32 ^b	0,64 ^a	0,28 ^c	0,17 ^e	0,26 ^c	0,25 ^c	0,18 ^e	0,20 ^d	0,33 ^b	0,22 ^d	
Suma	91,06^c	82,92^c	99,11^b	84,65^c	98,80^b	105,41^a	88,79^d	93,18^e	71,46^f	79,98^e	73,51^f	67,73^g	80,98^e	78,11^e	
Total															

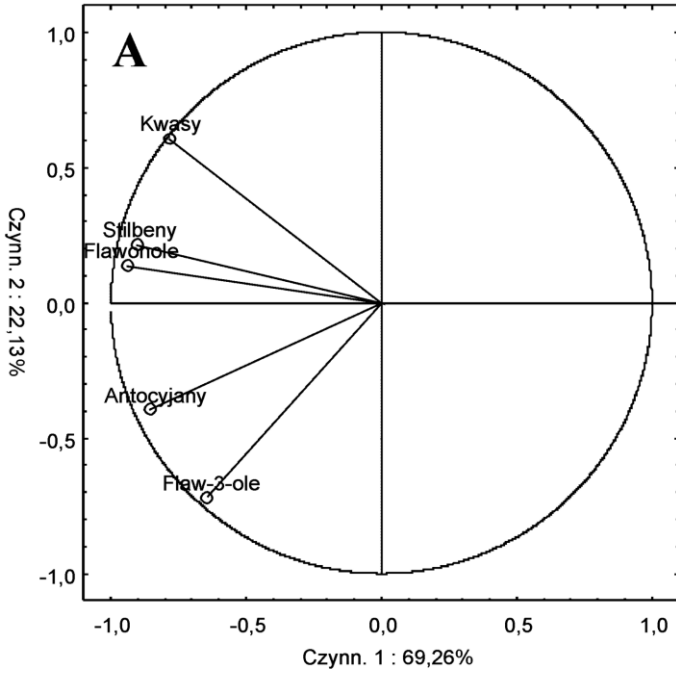
* Bc – Bianca, Hb – Hibernal, Jh – Johaniter, Jt – Jutrzenka, Mt – Muscat, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sl – Solaris

** F – flavonole/flavonols, F3-ol – flavan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbens

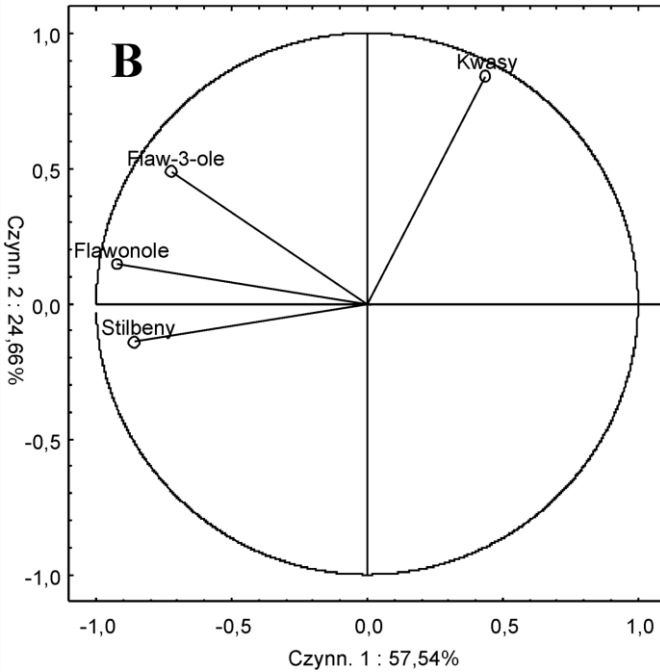
a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncana)

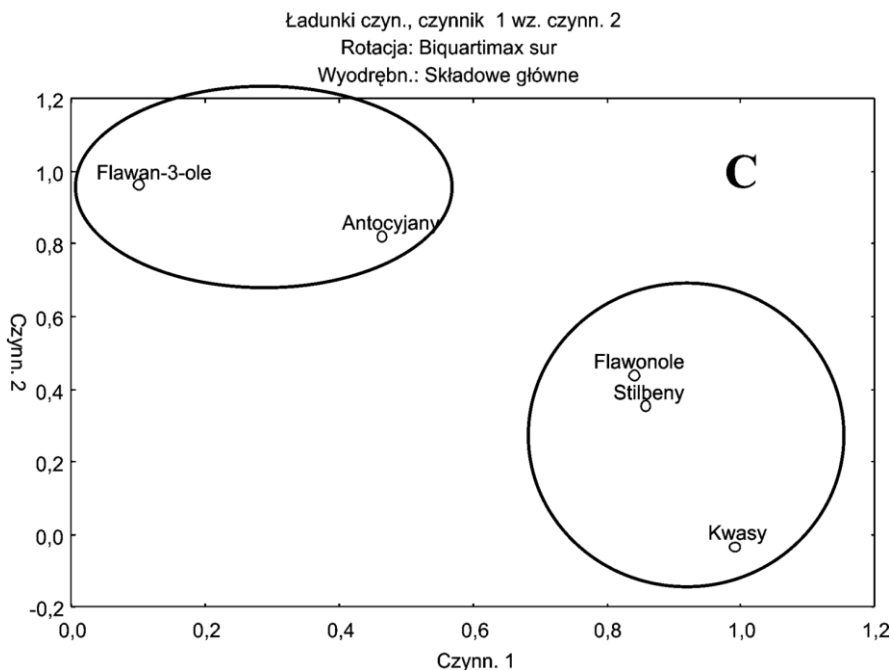
a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Projekcja zmiennych na płaszczyznę czynników (1 x 2)



Projekcja zmiennych na płaszczyznę czynników (1 x 2)





Rysunek 27. A – wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych w winach czerwonych, B – wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych w winach białych, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków w winach czerwonych

Figure 27. A – hierarchical cluster analysis applied to phenolics of red wines, B – hierarchical cluster analysis applied to phenolics of white wines, C – scatter plot for the main sources of variations among flavonols in wines

z owoców odmian Solaris, Hibernál oraz Seyval Blanc. Spośród wszystkich związków polifenolowych flawan-3-ole stanowiły dominującą grupę, której udział w sumarycznej zawartości wynosił blisko 55%. Z nielicznymi wyjątkami zawartość tych pochodnych była wyrównana we wszystkich gatunkach wina. Mniejszy udział flawan-3-oli charakteryzował jedynie wina otrzymane z owoców odmiany Prairie Star, natomiast wina z odmiany Jutrzenka wykazywały zwiększony udział tej grupy polifenoli. Udział flawonoli i fenolokwasów był stosunkowo wyrównany i średnio wynosił odpowiednio ok. 22% i 25%. Udział fenolokwasów był wyraźnie zróżnicowany pomiędzy poszczególnymi gatunkami wina. Większy odsetek tej grupy związków zaobserwowano w winach z owoców odmian Sibera, Seyval Blanc i Prairie Star, natomiast mniejszą zawartością charakteryzowały się wina z odmian Jutrzenka, Muscat i Hibernál. Flawonole stanowiły wyrównaną grupę; ich udział był porównywalny we wszystkich gatunkach wina z wyjątkiem win otrzymanych z owoców odmian Sibera i Seyval Blanc, gdzie był zauważalnie mniejszy. Ilość stilbenów nie przekraczała

0,5% całkowitej zawartości polifenoli w winach białych. Wina kupażowane charakteryzowały się mniejszą całkowitą zawartością polifenoli, które średnio wynosiło 96,04 mg/L i 76,06 mg/L odpowiednio w rocznikach 2013 oraz 2014. Udział flawan-3-oli w tych winach był najwyższy, wynoszący średnio ok. 55%, podobnie jak w winach gatunkowych. Niemniej jednak udział pozostałych grup pochodnych różnił się zauważalnie. Różnice dotyczyły przede wszystkim flawonoli; ich zawartość była mniejsza i wynosiła średnio ok. 16%, oraz fenolokwasów, których udział wzrósł znacząco do ok. 30%.

Tabela 40. Ładunki czynnikiowe zmiennych dla win czerwonych

Table 40. Factor loadings variables for red wines

	Czynnik – 1 Factor – 1	Czynnik – 2 Factor – 2
Antocyjany/Anthocyanins	0,462960	0,819915
Flawonole/Flavonols	0,841747	0,439448
Flawan-3-ole/Flavan-3-ols	0,101115	0,961027
Fenolokwasy/Phenolic acids	0,991363	-0,033025
Stilbeny/Stilbenes	0,858360	0,356097
War. wyj./Expl. Var.	2,652677	1,916844
Udział/Prp. Total	0,530535	0,383369

Analiza głównych składowych win pod względem całkowitej zawartości związków polifenolowych wyjaśnia 82,2% i 81,39% wariancji międzygrupowych odpowiednio w winach białych i czerwonych. W winach białych pierwszy czynnik wyjaśnia 57,54% zmienności wariancyjnej, a drugi 24,66 wariancji. Nie stwierdzono wyraźnych korelacji pomiędzy grupami związków (tabela 41). Wykres współrzędnych czynników dla win czerwonych odzwierciedla istnienie dwóch grup powiązanych ze sobą. Pierwsza grupa zawiera antocyjany oraz flawan-3-ole, w drugiej znajdują się pozostałe pochodne. W obrębie obu grup występują korelacje pomiędzy ich składowymi (tabela 40).

Tabela 41. Wartości korelacji pomiędzy poszczególnymi klasami związków polifenolowych w winie czerwonym

Table 41. Correlation coefficient between the different polyphenolic groups in red wines

	A*	F	F-3-ole	K	S
A	1,00	0,70	0,75	0,40	0,72
F	0,70	1,00	0,55	0,85	0,77
F-3-ole	0,75	0,55	1,00	0,09	0,40
K	0,40	0,85	0,09	1,00	0,80
S	0,72	0,77	0,40	0,80	1,00

* A – antocyjany/anthocyanins, F – flawonole/flavonols, F-3-ole – flawan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes

Porównanie całkowitej zawartości polifenoli w analizowanych winach z wynikami otrzymanymi przez innych autorów jest utrudnione z podobnych przyczyn, jakie zostały przedyskutowane przy okazji omawiania owoców. Do najważniejszych należą przede wszystkim brak dostępnej literatury dotyczącej win produkowanych w tej części Europy oraz rodzajów i gatunków analizowanych win. W przypadku win dochodzą jeszcze dodatkowe czynniki, jakimi są wiek analizowanych win, sposób przechowywania oraz zastosowana technologia produkcji. Wszystko to powoduje, że bezpośrednie porównanie nie jest możliwe, niemniej jednak, posługując się pewnymi zakresami stężeń prezentowanymi przez innych autorów, można dokonać orientacyjnego porównania. W tabeli 42 przedstawiono zestawienie całkowitego stężenia związków polifenolowych na podstawie danych literaturowych.

Tabela 42. Porównanie zawartości polifenoli w winach z innych rejonów świata
Table 42. Comparison of polyphenolics content in wines from different location

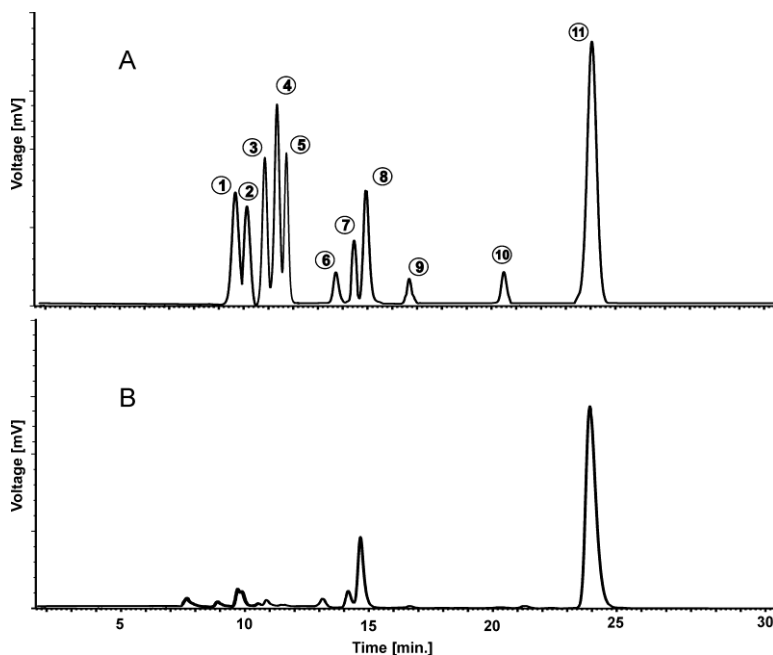
Pochodzenie Origin	Wino białe White wine mg/L	Wino czerwone Red wine mg/L	Literatura Literature
Czechy/Czech Republic	103–125	963–2262	Stratil i in. 2008
Hiszpania/Spain	178–293	1019–2446	Sanchez-Moreno i in. 1999
Finlandia/Finland	80–265	1390–1600	Heinonen i in. 1998
Kalifornia/California	20–163	1220–2390	Jewell i Ebeler 2001
Włochy/Italy	96–260	1365–3659	Stevanato i in. 2004
Portugalia/Portugal	40–146	938–1820	Schoonen i Sales 2002
Chorwacja/Croatia	54–134	642–3212	Katalinic i in. 2010
Grecja/Greece	44–360	1217–3772	Arnous i in. 2002
Chiny/China	24–186	681–2470	Zhu i in. 2012

Porównując uzyskane dane dla win produkowanych w południowo-wschodniej Polsce, widać, że zawartość polifenoli mieści się w przyjętych zakresach, na których wielkość wpływ mają różne czynniki. Niewątpliwie decydującym czynnikiem jest lokalizacja, która determinuje warunki klimatyczno-glebowe. Jak widać z porównania, wina produkowane w chłodniejszych rejonach zawierają stosunkowo mniejsze ilości związków polifenolowych. Zawartość polifenoli w winach analizowanych w niniejszym opracowaniu jest charakterystyczna dla chłodniejszych regionów, w szczególności wina białe odznaczają się mniejszą zawartością tych związków.

4.3.2. Parametry enologiczne analizowanych win

W ramach tego kryterium oznaczono zawartość: kwasów organicznych, cukru resztkowego, alkoholu, siarki oraz odczyn i gęstość wina. Na rysunku 28

przedstawiono chromatogram HPLC-RI, na podstawie którego dokonano oznaczenia zawartości kwasów organicznych, cukrów oraz alkoholi w winach. W tabelach 44–48 przedstawiono zestawienie podstawowych parametrów enologicznych analizowanych win.



Rysunek 28. Chromatogram HPLC-RI: A – mieszaniny wzorców, B – przykładowego wina
 Figure 28. HPLC-RI chromatogram: A – standards mixture, B – wine

Tabela 43. Czasy retencji zidentyfikowanych pików
 Table 43. Retention time of identified peaks

Lp.	Czas retencji Retention time [min]	Związek Compound
1.	9,91	Kwas cytrynowy/Citric acid
2.	10,43	Kwas winowy/Tartaric acid
3.	11,37	Glukoza/Glucose
4.	11,81	Kwas jabłkowy/Malic acid
5.	12,16	Fruktoza/Fructose
6.	14,61	Kwas bursztynowy/Succinic acid
7.	15,78	Kwas mlekowy/Lactic acid
8.	16,41	Glicerol/Glycerol
9.	18,84	Kwas octowy/Acetic acid
10.	23,23	Metanol/Methanol
11.	27,56	Etanol/Ethanol

Kwasy organiczne obecne w winie można podzielić na dwie kategorie: pierwotne – pochodzące z samych winogron, oraz wtórne, które powstały w wyniku fermentacji. W skład grupy pierwszej wchodzi kwas: winowy, jabłkowy oraz w niewielkich ilościach cytrynowy. Poziom tych kwasów zależny jest od odmiany winorośli, poziomu dojrzałości gron (przy kwasie jabłkowym) oraz od klimatu. Kwasy wytworzone w trakcie winifikacji to octowy, mlekowy oraz bursztynowy. Ilość kwasów organicznych w winie decyduje o kwasowości, jednej z najistotniejszych cech wina. Ma ona wpływ na jego stabilność mikrobiologiczną, przebieg fermentacji jabłkowo-mlekowej, kolor oraz proces dojrzewania. Przede wszystkim jednak kwasowość ma bezpośredni wpływ na smak wina (Ribereau-Gayonet i in. 1982; Jackson 1994). Zdecydowanie niepożądanym w winie jest kwas octowy, którego nadmiar może nawet dyskwalifikować dane wino; zawartość tego kwasu w winie określana jest jako kwasowość lotna.

Całkowita zawartość kwasów organicznych w analizowanych winach czerwonych wynosiła średnio 5,93 g/L i 5,60 g/L w dwóch kolejnych rocznikach win gatunkowych oraz 6,18 g/L i 6,22 g/L w dwóch kolejnych rocznikach win kupażowanych. Największym stężeniem charakteryzował się kwas mlekowy, którego udział w całkowitej zawartości kwasów wynosił średnio ok. 40%. Kolejnymi kwasami o znaczącym udziale były winowy i bursztynowy, ich średni udział wynosił odpowiednio 25% i 17%. Udział tych trzech kwasów stanowił łącznie ponad 80% całkowitej zawartości kwasów organicznych w czerwonym winie. Spośród pozostałych kwasów największy odsetek stanowił kwas jabłkowy – ok. 10%. Udział kwasu cytrynowego i octowego był bardzo zbliżony i nie przekraczał 4%. Wina białe charakteryzowały się wyższą kwasowością ogólną. Całkowita zawartość kwasów organicznych w winach gatunkowych wynosiła średnio 7,0 g/L oraz 7,1 g/L odpowiednio w rocznikach 2013 i 2014. W winach kupażowanych z rocznika 2014 kwasowość była porównywalna i wynosiła 7,2 g/L, natomiast w winach z rocznika 2013 była najmniejsza i wynosiła 6,7 g/L. Udział procentowy poszczególnych kwasów, składający się na kwasowość ogólną, był zbliżony w porównaniu do win czerwonych. Największa zauważalna różnica dotyczyła kwasów mlekowego i jabłkowego, których udział prezentował się odwrotnie niż w winach czerwonych, co wskazuje na ograniczony proces fermentacji malolaktycznej. Kwasowość analizowanych win jest charakterystyczna dla rejonów o chłodniejszym klimacie. Mniejsza ilość dni słonecznych powoduje mniejszą zawartość cukru w owocach, co przekłada się na wyższą zawartość kwasów w moszczu. Kwasowość ogólna win w zależności od rodzaju powinna mieścić się w zakresie pomiędzy 6 a 7 g/L dla win wytrawnych i 9–10 g/L dla win słodkich. Większość z analizowanych win przekracza poziom kwasowości dla win wytrawnych i wchodzi w zakres charakterystyczny dla win półwytrawnych i półsłodkich. Otrzymane wyniki są porównywalne z doniesieniami innych

Tabela 44. Parametry enologiczne czerwonych win z rocznika 2013
Tabela 44. Oenological parameters of red wines from 2013

	CC ^a	CD	LM	MF	Rg	Rd	C1	C2	C3	C4	C5	C6
	Kwasy/Acids (g/L)											
Cytrynowy/Citric	0,12 ^e	0,12 ^e	0,28 ^a	0,14 ^d	0,16 ^c	0,18 ^c	0,18 ^c	0,15 ^d	0,14 ^d	0,14 ^d	0,32 ^a	0,14 ^d
Winowy/Tartaric	1,76 ^c	1,56 ^d	1,03 ^g	1,94 ^a	1,26 ^f	1,36 ^f	1,83 ^b	1,84 ^b	1,87 ^b	1,40 ^e	1,55 ^d	1,42 ^e
Jablkowy/Malic	0,61 ^d	0,74 ^e	0,64 ^d	0,68 ^c	0,51 ^e	0,49 ^e	0,66 ^d	0,87 ^b	0,80 ^b	1,03 ^a	0,66 ^d	0,78 ^c
Bursztynowy/Succinic	1,27 ^b	0,85 ^b	0,81 ^d	1,03 ^c	1,17 ^c	1,09 ^f	1,25 ^b	1,25 ^b	1,92 ^a	1,57 ^e	0,79 ^d	0,79 ^d
Mlekowy/Lactic	2,59 ^a	2,37 ^b	2,20 ^c	2,35 ^b	2,59 ^a	2,26 ^c	1,64 ^d	1,67 ^d	2,38 ^b	1,63 ^d	2,11 ^c	1,87 ^d
Octowy/Acetic	0,29 ^e	0,26 ^d	0,15 ^e	0,21 ^e	0,33 ^c	0,20 ^d	0,24 ^d	0,34 ^c	0,56 ^a	0,58 ^a	0,40 ^b	0,35 ^c
Kwasy ogółem/Total	6,64^b	5,90^e	5,10^d	6,35^b	6,01^c	5,58^d	5,80^c	6,12^b	7,66^a	6,35^b	5,83^c	5,34^d
	Cukry/Sugars (g/L)											
Glukoza/Glucose	0,33 ^f	0,42 ^d	0,87 ^c	0,28 ^c	0,77 ^b	0,28 ^f	0,42 ^c	0,22 ^g	0,65 ^c	0,50 ^d	0,44 ^e	0,11 ^h
Fruktoza/Fructose	0,49 ^e	0,77 ^c	0,27 ^d	0,15 ^a	0,41 ^d	0,74 ^b	0,66 ^c	0,15 ^f	0,58 ^c	0,28 ^e	0,12 ^f	0,94 ^a
Cukry ogółem/Total	0,82^d	1,19^b	1,14^b	0,43^e	1,18^a	1,02^c	1,08^c	0,37^f	1,23^b	0,78^d	0,56^e	1,05^e
Glicerol/Glycerol	5,34 ^c	5,04 ^d	5,77 ^c	5,35 ^c	5,38 ^c	5,17 ^d	6,63 ^b	7,07 ^a	5,66 ^c	7,73 ^a	6,36 ^b	4,39 ^e
Metanol/Methanol	0,35 ^d	0,45 ^c	0,32 ^d	0,43 ^a	0,33 ^d	0,54 ^b	0,81 ^a	0,47 ^c	0,61 ^b	0,28 ^e	0,78 ^a	0,51 ^b
Etanol/Ethanol (%)	11,68 ^c	11,59 ^c	12,19 ^b	11,61 ^c	12,48 ^b	11,85 ^c	12,17 ^b	13,2 ^a	11,2 ^c	13,21 ^a	12,35 ^b	10,53 ^d
	Siarka/Sulfur (mg/L)											
Wolna/Free	36,54 ^d	59,26 ^b	25,41 ^e	45,76 ^c	17,73 ^f	35,01 ^d	63,04 ^b	120,26 ^a	22,66 ^e	5,44 ^h	15,81 ^f	9,66 ^g
Związana/Bond	45,44 ^g	51,58 ^f	26,87 ⁱ	27,01 ⁱ	31,55 ^b	26,56 ^j	99,25 ^b	85,89 ^c	98,81 ^b	60,35 ^e	73,8 ^d	104,67 ^a
Siarka ogółem/Total	81,98^e	110,84^d	56,12^h	72,77^f	49,28^d	61,57^g	162,29^b	206,15^a	121,47^c	65,79^g	89,61^e	114,33^d
pH	3,28 ^c	3,38 ^b	3,68 ^a	3,32 ^b	3,34 ^b	3,41 ^b	3,36 ^b	3,30 ^c	3,11 ^c	3,31 ^b	3,39 ^b	3,57 ^a
Gęstość/Density	0,994 ^a	0,992 ^d	0,993 ^c	1,087 ^d	1,102 ^a	0,993 ^c	1,091 ^a	1,092 ^a	0,993 ^c	1,089 ^b	0,993 ^c	0,994 ^a

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo, C1–C6 – Cuvee

a, b, c... – te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... – the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 45. Parametry enologiczne czerwonych win z rocznika 2014
Tabela 45. Oenological parameters of red wines from 2014

	CC ^a	CD	LM	MF	Rg	Rd	C1	C2	C3	C4	C5
Kwasy/Acids (g/L)											
Cytrynowy/Citric	0,13 ^g	0,14 ^g	0,22 ^e	0,30 ^d	0,32 ^c	0,17 ^f	0,20 ^e	0,11 ^h	0,42 ^b	0,71 ^a	0,36 ^c
Winowy/Tartaric	1,28 ^e	0,94 ^f	0,80 ^g	0,98 ^f	0,65 ^b	2,64 ^b	2,01 ^e	3,07 ^a	0,97 ^f	1,03 ^f	1,41 ^d
Jabłkowy/Malic	0,68 ^b	0,75 ^a	0,74 ^a	0,41 ^e	0,29 ^d	0,65 ^b	0,24 ^d	0,61 ^b	0,11 ^f	0,21 ^e	0,63 ^b
Burszynyowy/Succinic	0,57 ^e	0,75 ^d	0,48 ^e	0,89 ^e	0,87 ^c	1,75 ^a	1,40 ^b	1,79 ^a	0,89 ^c	0,89 ^c	0,79 ^d
Mlekowy/Lactic	1,72 ^e	2,61 ^b	2,39 ^e	2,11 ^d	2,89 ^b	2,13 ^d	2,38 ^e	2,12 ^d	1,97 ^d	1,97 ^d	3,12 ^a
Octowy/Acetic	0,40 ^e	0,48 ^b	0,42 ^e	0,22 ^e	0,65 ^a	0,23 ^e	0,12 ^f	0,37 ^d	0,51 ^b	0,62 ^a	0,14 ^f
Kwasy ogółem/Total	4,77^f	5,66^d	5,05^e	4,91^e	5,66^d	7,57^b	6,34^e	8,08^a	4,87^f	5,42^e	6,44^e
Cukry/Sugars (g/L)											
Glukoza/Glucose	0,23 ^e	0,24 ^e	0,17 ^f	0,45 ^e	0,12 ^f	0,43 ^c	0,30 ^d	0,56 ^a	0,13 ^f	0,50 ^b	0,42 ^c
Fruktoza/Fructose	0,59 ^b	0,17 ^f	0,44 ^d	0,64 ^b	0,19 ^e	0,52 ^c	0,12 ^f	0,24 ^a	0,72 ^a	0,19 ^e	0,75 ^a
Cukry ogółem/Total	0,82^b	0,41^d	0,61^c	1,09^a	0,31^e	0,96^a	0,42^d	0,80^b	0,85^b	0,68^e	1,16^c
Siarka/Sulfur (mg/L)											
Glicerol/Glycerol	4,27 ^f	5,59 ^d	6,46 ^c	4,71 ^e	7,75 ^b	6,82 ^c	6,28 ^c	6,59 ^c	7,65 ^b	8,87 ^a	5,06 ^e
Metanol/Methanol	0,27 ^e	0,33 ^e	0,19 ^f	0,70 ^c	0,51 ^d	0,32 ^e	0,48 ^d	0,94 ^a	0,29 ^e	0,30 ^e	0,80 ^b
Etanol/Ethanol (%)	12,18 ^c	12,01 ^c	12,66 ^b	11,42 ^d	13,87 ^a	12,77 ^b	11,05 ^e	11,92 ^d	11,47 ^d	11,43 ^d	11,36 ^c
Wolna/Free	3,64 ^h	99,90 ^a	74,94 ^b	56,51 ^e	20,03 ^f	49,98 ^d	14,59 ^g	6,21 ^h	5,82 ^h	51,9 ^e	38,08 ^e
Związana/Bond	33,53 ^d	63,29 ^b	60,1 ^b	89,53 ^a	47,75 ^c	16,96 ^f	33,86 ^d	20,87 ^f	30,14 ^e	83,84 ^a	88,77 ^a
Siarka ogółem/Total	37,17^e	163,19^a	135,04^e	146,04^b	67,78^c	66,94^e	48,45^f	27,08^g	35,96^g	135,74^e	126,85^d
pH	4,08 ^a	3,48 ^c	3,75 ^b	4,12 ^a	3,42 ^c	3,12 ^d	3,29 ^d	3,06 ^d	3,83 ^b	3,56 ^c	3,36 ^c
Gęstość/Density	0,995 ^b	0,995 ^b	0,994 ^c	0,992 ^e	0,993 ^d	0,994 ^c	0,994 ^c	0,992 ^e	0,993 ^d	0,992 ^e	0,999 ^a

* CC – Cabernet Cortis, CD – Cabernet Dorsa, LM – Leon Millot, MF – Marechal Foch, Rg – Regent, Rd – Rondo, C1–C6 – Cuvée

a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 46. Parametry enologiczne białych win z rocznika 2013
Table 46. Oenological parameters of white quality wine from 2013

	Bc*	Hb	Jh	Jt	Mt	PS	Sv	Sb	Sl
	Kwasy/Acids (g/L)								
Cytrynowy/Citric	0,43 ^a	0,03 ^c	0,20 ^e	0,17 ^d	0,24 ^c	0,17 ^d	0,30 ^b	0,32 ^b	0,24 ^c
Winowy/Tartaric	2,01 ^c	1,49 ^d	3,05 ^a	2,75 ^b	2,77 ^b	1,99 ^c	1,19 ^e	0,64 ^f	2,76 ^b
Jabłkowy/Malic	2,68 ^c	0,41 ^e	4,53 ^a	2,67 ^c	1,92 ^d	2,16 ^d	3,96 ^b	3,52 ^b	4,35 ^a
Bursztynowy/Succinic	1,09 ^b	1,02 ^b	0,77 ^c	0,69 ^c	1,23 ^a	0,92 ^b	1,25 ^a	0,77 ^c	0,65 ^c
Mlekowy/Lactic	0,10 ^d	2,56 ^a	0,26 ^c	0,07 ^d	0,10 ^d	1,55 ^b	0,06 ^e	0,08 ^d	0,07 ^d
Octowy/Acetic	0,29 ^b	0,24 ^c	0,23 ^c	0,15 ^d	0,13 ^d	0,12 ^d	1,36 ^a	0,15 ^d	0,10 ^e
Kwasy ogółem/Total	6,60^c	5,75^d	9,04^a	6,50^c	6,38^c	6,90^c	8,11^b	5,48^d	8,17^b
	Cukry/Sugars (g/L)								
Glukoza/Glucose	0,23 ^e	0,17 ^f	1,48 ^a	0,37 ^d	0,40 ^c	0,44 ^c	0,30 ^d	0,80 ^b	0,15 ^f
Fruktoza/Fructose	0,33 ^e	0,13 ^g	1,01 ^b	0,15 ^e	0,23 ^f	0,42 ^d	0,99 ^b	1,37 ^a	0,80 ^f
Cukry ogółem/Total	0,56^d	0,30^f	2,49^b	0,52^d	0,64^d	0,86^c	1,29^b	2,17^b	0,95^e
Glicerol/Glycerol	6,77 ^b	5,87 ^b	5,66 ^c	4,08 ^e	4,51 ^d	3,62 ^e	14,93 ^a	4,59 ^d	5,12 ^c
Metanol/Methanol	1,72 ^c	0,72 ^e	1,64 ^c	0,84 ^c	3,11 ^a	1,09 ^d	2,13 ^b	0,31 ^g	0,68 ^f
Etanol/Ethanol (%)	12,03 ^b	10,17 ^e	11,02 ^d	11,75 ^c	10,6 ^c	11,34 ^d	11,17 ^d	12,53 ^a	10,7 ^e
	Siarka/Sulfur (mg/L)								
Wolna/Free	59,2 ^b	28,8 ^d	3,46 ^g	10,43 ^e	68,8 ^d	3,07 ^e	37,31 ^c	58,43 ^b	6,21 ^f
Związana/Bond	50,01 ^c	51,13 ^c	23,09 ^f	31,23 ^e	59,65 ^a	61,5 ^d	65,14 ^a	49,03 ^c	47,06 ^d
Siarka ogółem/Total	109,21^b	79,93^d	26,55^b	41,66^g	128,45^a	64,57^e	102,45^c	107,46^b	53,27^f
pH	3,22 ^b	3,54 ^a	3,11 ^d	3,19 ^c	3,26 ^b	3,22 ^b	3,17 ^c	3,65 ^a	3,16 ^c
Gęstość/Density	0,99 ^d	0,992 ^c	0,991 ^c	0,996 ^b	0,997 ^a	0,992 ^c	0,991 ^c	0,998 ^a	0,998 ^a

* Bc – Bianca, Hb – Hibernal, Jh – Johanniter, Mt – Muscat, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, Sl – Solaris

a, b, c, ... – te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncana)

a, b, c, ... – the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 47. Parametry enologiczne białych win z rocznika 2014
Table 47. Oenological parameters of white quality wine from 2014

	Bc ^a	Hb	Jh	Jt	Mt	PS	Sv	Sb	SI
Kwasy/Acids (g/L)									
Cytrynowy/Citric	0,28 ^b	0,28 ^b	0,17 ^d	0,23 ^c	0,35 ^a	0,16 ^d	0,21 ^c	0,35 ^a	0,36 ^a
Winowy/Tartaric	1,28 ^f	2,60 ^b	1,96 ^d	1,72 ^e	2,21 ^c	2,47 ^b	2,34 ^c	2,94 ^a	2,96 ^a
Jabłkowy/Malic	3,28 ^a	3,32 ^a	2,91 ^b	2,96 ^b	3,02 ^b	2,88 ^c	3,12 ^b	2,95 ^b	2,98 ^b
Burszynowy/Succinic	0,77 ^d	1,07 ^c	0,82 ^d	1,65 ^a	1,50 ^b	1,72 ^a	1,44 ^b	0,90 ^c	0,87 ^d
Mlekowy/Lactic	0,08 ^e	0,10 ^d	0,06 ^f	0,08 ^e	0,07 ^e	0,27 ^a	0,17 ^c	0,22 ^b	0,08 ^e
Octowy/Acetic	0,10 ^f	0,05 ^f	0,13 ^e	0,14 ^e	0,51 ^a	0,25 ^c	0,25 ^c	0,35 ^b	0,18 ^d
Kwasy ogółem/Total	5,78^d	7,42^a	6,04^c	6,78^b	7,65^a	7,76^a	7,51^a	7,70^a	7,43^a
Cukry/Sugars (g/L)									
Glukoza/Glucose	0,73 ^a	0,23 ^d	0,26 ^d	0,51 ^b	0,24 ^d	0,23 ^d	0,43 ^c	0,19 ^e	0,23 ^d
Fruktoza/Fructose	0,86 ^a	0,09 ^f	0,24 ^e	0,31 ^d	0,26 ^e	0,40 ^c	0,60 ^b	0,46 ^c	0,63 ^b
Cukry ogółem/Total	1,59^a	0,32^f	0,50^e	0,82^e	0,50^e	0,64^d	1,03^b	0,66^d	0,86^e
Glicerol/Glycerol	4,00 ^e	4,81 ^d	3,73 ^c	5,47 ^b	6,60 ^a	5,10 ^c	5,87 ^b	2,13 ^f	4,74 ^d
Metanol/Methanol	0,25 ^d	0,88 ^a	0,49 ^c	0,43 ^c	0,59 ^b	0,54 ^b	0,42 ^c	0,41 ^c	0,45 ^c
Etanol/Ethanol (%)	12,69 ^a	11,84 ^b	12,50 ^a	11,70 ^b	11,38 ^c	11,43 ^c	11,58 ^c	12,78 ^a	12,48 ^a
Siarka/Sulfur (mg/L)									
Wolna/Free	26,94 ^c	5,06 ^f	42,69 ^a	29,77 ^c	14,98 ^d	18,11 ^d	10,43 ^e	28,48 ^c	33,47 ^b
Związana/Bond	44,29 ^f	53,12 ^e	20,87 ^b	32,32 ^g	137,22 ^b	95,36 ^c	189,7 ^a	71,48 ^d	81,15 ^d
Siarka ogółem	71,23^e	58,18^g	63,56^f	62,09^f	152,2^b	113,47^c	200,13^a	99,96^d	114,62^c
pH	3,76 ^a	3,23 ^c	3,53 ^b	3,15 ^e	3,19 ^d	3,17 ^c	3,20 ^d	3,21 ^d	3,29 ^c
Gęstość/Density	0,998 ^a	0,993 ^b	0,991 ^c	0,991 ^c	0,992 ^c	0,993 ^b	0,991 ^c	0,992 ^c	0,992 ^c

* Bc – Bianca, Hb – Hibernal, Jh – Johanniter, Mt – Muscat, PS – Prairie Star, Sv – Seyval Blanc, Sb – Sibera, SI – Solaris

a, b, c... te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c... the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 48. Parametry enologiczne białych win kupazowanych
Table 48. Oenological parameters of white cuvee

	2013					2014				
	C1	C2	C3	C4	C5	C1	C2	C3	C4	C5
	Kwasy/Acids (g/L)									
Cytrynowy/Citric	0,48 ^a	0,23 ^d	0,46 ^f	0,41 ^b	0,31 ^e	0,24 ^d	0,16 ^c	0,22 ^d	0,20 ^a	0,23 ^d
Winyowy/Tartaric	3,16 ^a	0,16 ^f	1,09 ^d	2,62 ^b	0,53 ^e	1,48 ^c	2,59 ^b	2,66 ^b	2,38 ^b	1,75 ^c
Jabłkowy/Malic	3,00 ^c	3,83 ^a	3,65 ^b	3,50 ^b	3,88 ^a	3,41 ^b	2,74 ^d	2,68 ^d	3,04 ^c	2,55 ^d
Burszynyowy/Succinic	1,12 ^c	0,57 ^e	0,72 ^d	1,31 ^b	0,86 ^d	1,30 ^b	2,34 ^a	1,44 ^b	1,07 ^c	1,06 ^c
Mlekowy/Lactic	0,32 ^a	0,08 ^c	0,10 ^c	0,03 ^d	0,17 ^b	0,07 ^c	0,13 ^b	0,31 ^a	0,08 ^c	0,33 ^a
Octowy/Acetic	0,13 ^c	0,19 ^d	0,12 ^c	0,16 ^c	0,10 ^f	0,53 ^a	0,14 ^c	0,44 ^b	0,12 ^c	0,27 ^c
Kwasy ogółem/Total	8,22^a	5,06^c	6,14^d	8,03^a	5,85^d	7,04^c	8,10^a	7,74^b	6,90^c	6,17^d
	Cukry/Sugars (g/L)									
Glukoza/Glucose	3,53 ^a	0,00	0,26 ^c	0,20 ^d	0,07 ^f	0,30 ^c	0,71 ^b	0,17 ^e	0,22 ^d	0,12 ^c
Fruktoza/Fructose	0,53 ^a	0,43 ^b	0,13 ^c	0,24 ^d	0,13 ^e	0,20 ^d	0,21 ^d	0,32 ^c	0,00	0,17 ^c
Cukry ogółem/Total	4,06^a	0,43^c	0,39^d	0,44^e	0,20^f	0,50^c	0,92^b	0,49^c	0,22^c	0,29^e
	Siarka/Sulfur (mg/L)									
Glicerol/Glycerol	6,33 ^a	4,70 ^b	6,17 ^a	5,07 ^b	4,27 ^c	5,90 ^b	5,59 ^b	4,18 ^c	4,07 ^c	6,32 ^a
Metanol/Methanol	1,47 ^a	0,51 ^d	0,94 ^b	0,63 ^c	0,25 ^f	0,55 ^d	0,36 ^e	0,47 ^d	0,42 ^e	0,52 ^d
Etanol/Ethanol (%)	12,93 ^b	13,06 ^b	13,05 ^b	13,43 ^a	11,87 ^c	11,05 ^e	11,71 ^d	11,36 ^d	11,97 ^c	12,10 ^c
	Siarka/Sulfur (mg/L)									
Wolna/Free	4,67 ^f	2,69 ^g	19,26 ^d	4,81 ^f	13,64 ^e	89,15	66,11 ^c	56,9 ^e	18,11 ^d	158,59 ^a
Związana/Bond	21,18 ^g	14,27 ^b	95,68 ^d	190,91 ^a	52,36 ^e	121,86 ^c	48,89 ^e	37,2 ^f	86,65 ^d	148,28 ^b
Siarka ogółem	25,85^f	16,96^g	114,94^e	195,72^b	66,00^e	211,01^b	115,00^c	94,11^d	104,76^c	306,87^a
pH	3,18 ^b	3,56 ^a	3,32 ^b	3,11 ^c	3,37 ^b	3,47 ^a	3,21 ^b	3,08 ^c	3,19 ^b	3,47 ^a
Gęstość/Density	0,996 ^b	0,997 ^b	1,079 ^a	1,08 ^a	1,09 ^a	0,991 ^d	0,997 ^b	0,993 ^c	0,991 ^d	0,992 ^d

a, b, c, ... - te same litery w rzędach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan)

a, b, c, ... - the same letters in rows mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

autorów, którzy wskazują na wyższą kwasowość win białych w porównaniu do czerwonych (Shellie 2007; Willershausen i in. 2009). Wyniki prezentowane w niniejszym opracowaniu tylko częściowo są zgodne z dostępnymi wynikami otrzymanymi dla polskich win (Dobrowolska-Iwanek i in. 2014; Tarko i in. 2010). Inni autorzy również wskazywali na wina Bianca oraz Seyval Blanc, które cechuje najwyższa kwasowość, niemniej jednak była ona niższa w porównaniu do analizowanych win. Przyczyną tych rozbieżności mogą być różnice wynikłe z zastosowanej metodyki analitycznej, w której cytowani autorzy podają kwasowość ogólną w przeliczeniu na kwas winowy, oraz różnice wynikające z użycia do badań win pochodzących z innego rocznika.

Po każdym prawidłowo przebiegającym procesie fermentacji w winie pozostaje pewna ilość cukru określana terminem „cukier resztkowy”. Zawartość cukru resztkowego może wynosić od 2 do 4 g/L w bardzo wytrawnym winie stołowym, aż do 50–150 g/L w winach typu porto lub w deserowych winach produkowanych ze zbotrytyzowanych winogron z późnego zbioru. Na cukier resztkowy składają się głównie nieprzefermentowane pentozy, w tym arabinoza i ramnoza, a czasem również pewna ilość nieprzefermentowanej fruktozy i glukozy (Dols-Lafaruge i in. 2007). Jeśli fermentacja zostanie zatrzymana, zanim wykorzystane zostaną wszystkie ulegające fermentacji cukry z grupy heksoz, zwykle w winie znajduje się więcej fruktozy niż glukozy, ponieważ glukoza ulega fermentacji nieco szybciej niż fruktoza (Vidal i in. 2003). Stężenie cukru w analizowanych winach, z wyjątkiem nielicznych przypadków, wynosiło poniżej 1g/L. W winach czerwonych wynosiło średnio 0,83 g/L oraz 0,73 g/L w kolejnych rocznikach 2013 i 2014. W winach białych z rocznika 2013 stężenie cukru było porównywalne z winami czerwonymi i wynosiło średnio 0,83 g/L, w winach z rocznika 2014 było najwyższe ze średnią wartością wynoszącą 1,1 g/L. Pod względem zawartości cukrów analizowane wina zaliczyć można do gatunku win wytrawnych.

Stężenie etanolu w analizowanych winach różniło się pomiędzy poszczególnymi rodzajami win oraz rocznikami. W winach czerwonych średnia zawartość etanolu wynosiła 12,19% i 11,77% kolejno w rocznikach 2013 oraz 2014, przy czym wina kupażowane charakteryzowały się mniejszym stężeniem alkoholu wynoszącym średnio 11,90% oraz 11,44%. Wina białe zawierały podobne stężenie etanolu wynoszące średnio w kolejnych dwóch rocznikach odpowiednio 12,08% oraz 11,81%. Podobnie jak w winach czerwonych wina kupażowane zawierały mniej alkoholu etylowego, odpowiednio 11,63% oraz 11,3%. Pod względem zawartości etanolu analizowane wina można zaliczyć do win średniomocnych.

Oprócz alkoholu etylowego, który jest głównym produktem fermentacji alkoholowej, w winie zawartych jest wiele produktów ubocznych tego procesu.

Niektóre z nich są pożądane i mają pozytywny wpływ na jakość wina, inne zaś są szkodliwe i mogą wpływać negatywnie na jego zapach i smak. Alkohol metylowy nie jest bezpośrednim produktem fermentacji alkoholowej. Podczas fermentacji produktów owocowych jego źródłem są zawarte w owocach pektyny, które ulegają hydrolizie pod wpływem pektynometyloesterazy (Revilla i Gonzalez-SanJose 1998). Pektyny są kopolimerami kwasu galakturonowego i jego estru metylowego, powstałymi poprzez połączenie kwasu z cząsteczkami estru wiązaniemi α -1-4-glikozydowymi. W wyniku hydrolizy estru metylowego powstaje alkohol metylowy. Enzymy hydrolityczne występują naturalnie w moszczu. Dodanie do moszczu niektórych enzymów pektynolitycznych dla lepszego klarowania również zwiększa zawartość alkoholu metylowego poprzez rozerwanie wiązań α -1-4-glikozydowych w polimerach pektynowych. Ponieważ w skórkach znajduje się więcej pektyn niż w soku, białe wina zawierają znacznie mniej alkoholu metylowego niż wina czerwone, które są fermentowane ze skórkami. Szeroko zakrojone badania dotyczące zawartości alkoholu metylowego w winach na całym świecie wykazały, że stężenie tego alkoholu wynosi średnio 60 mg/L w winach białych (od 40 do 120 mg/L) i 150 mg/L w winach czerwonych (od 120 do 250 mg/L) (Cabaroglu 2005). W skrajnych przypadkach stężenie to może dochodzić do kilkuset miligramów na litr. Temperatura fermentacji nie ma wpływu na zawartość alkoholu metylowego w winie, w przeciwieństwie do zabiegów takich, jak obróbka pektyn czy przedłużanie maceracji (Hou i in. 2008). Dopuszczalna zawartość alkoholu metylowego w winie w Stanach Zjednoczonych wynosi 1000 mg/L. Stężenie metanolu w analizowanych winach różni się zasadniczo pomiędzy rodzajami wina oraz rocznikami. Wina czerwone zawierają więcej metanolu i w przypadku tych win widać znaczącą różnicę pomiędzy rocznikami. Wina czerwone z rocznika 2013 zawierają najwięcej metanolu, którego średnie stężenie wynosi 1,4 g/L, co przekracza znacząco dopuszczalne stężenie tego alkoholu w winie. W kolejnym roku stężenie metanolu w tych winach jest trzykrotnie mniejsze i wynosi średnio 0,58 g/L. Wina białe zawierają mniej metanolu, w obu rocznikach stężenie tego alkoholu jest porównywalne i wynosi średnio odpowiednio 0,50 g/L i 0,46 g/L. Tak duże stężenie metanolu jest konsekwencją dużej zawartości pektyn w uprawianych owocach winorośli, które w chłodniejszym klimacie mają grubszą skórkę. W tym przypadku można stwierdzić, że wysokie stężenie metanolu jest charakterystyczne dla win produkowanych w chłodniejszych regionach.

Kolejnym analizowanym produktem ubocznym fermentacji był glicerol. Glicerol jest głównym alkoholem trihydroksylowym występującym w winie. Jest on produktem ubocznym fermentacji cukru, powstającym głównie na jej początku, w wyniku ubocznych reakcji łańcuchowych. Zawartość glicerolu w winie zależy od ilości wytworzonego alkoholu etylowego, temperatury fer-

mentacji oraz szczepu drożdży (Rankine i Bridson 1971; Nieuwoudt i in. 2002). W wyższych temperaturach powstaje więcej glicerolu, więc jego zawartość jest większa w winach czerwonych niż w winach białych. Podczas badania win kalifornijskich w winach białych i w winach różowych stwierdzono obecność glicerolu w ilości średnio 4,5 g/L, a w winach czerwonych – 6,5 g/L (Gawel i in. 2007). Zawartość glicerolu w różnych rodzajach win na całym świecie waha się od 4 do 12 g/L. Ogólnie można powiedzieć, że zawartość glicerolu w winie wynosi 6–12% zawartości alkoholu etylowego. Niższa wartość odpowiada winom białym, a wyższa – czerwonym. W winach wyprodukowanych z winogron z późnego zbioru lub ze zbotrytyzowanych gron zawartość glicerolu jest znacznie wyższa niż w standardowych winach stołowych. Może ona dochodzić do 15–25 g/L, a nawet więcej. W winach produkowanych ze zbotrytyzowanych gron glicerol jest syntetyzowany przez grzyby *Botrytis cinerea* i osiąga większe stężenia w suszonych jagodach. Pewną ilość glicerolu można znaleźć również w zdrowych winogronach (do 0,5 g/L). Ponieważ glicerol jest bardzo lepki i słodki (ok. 70% słodczy glukozy), ma on pozytywny wpływ na gęstość, czyli ekstraktywność i smak wina (Nurgel i Pickering 2005). Zawartość glicerolu w analizowanych winach mieści się w przyjętym zakresie charakteryzującym wina z różnych części świata. Stężenie glicerolu w winach czerwonych wynosi średnio 6,31g/L i 6,89 g/L, natomiast w winach białych 5,21 g/L i 5,93 g/L w kolejnych rocznikach 2013 i 2014.

Jednym z etapów produkcji wina jest siarkowanie. Zabieg ten polega na dodaniu do wina związków siarki na IV stopniu utlenienia w celach przeciwtleniających i konserwujących. Siarka może być dodana w postaci gazu (dinitlenek siarki), roztworu (kwas siarkowy IV) lub soli (pirosiarczyn sodu, siarczyn sodu lub potasu). Siarkowanie następuje w trzech etapach: przed rozpoczęciem fermentacji, po zakończonym procesie fermentacji oraz przed samym butelkowaniem. Siarkowanie moszczu powoduje zahamowanie rozwoju niepożądanych mikroorganizmów, siarkowanie po zakończeniu fermentacji neutralizuje aldehyd octowy, siarkowanie przed butelkowaniem służy do przedłużenia żywotności wina w butelce. Siarka zawarta w winie dzielona jest na siarkę wolną oraz związaną. Związana to siarka, która weszła w reakcje chemiczne z niektórymi zawartymi w winie związkami i nie spełnia swej roli jako środek przeciwdrobnoustrojowy i przeciwtleniacz. Tempo wiązania dwutlenku siarki zależy od jakości i wieku wina. Jest ono bardzo wysokie zaraz po dodaniu do moszczu (kilka minut) i maleje z czasem. Proces wiązania SO_2 trwa jednak nieprzerwanie, co powoduje ciągły spadek zawartości wolnego SO_2 w winie podczas jego dojrzewania i przechowywania. Po zakończeniu fermentacji w winie pozostaje jedynie niewielka ilość wolnego SO_2 (lub w ogóle go nie ma), niezależnie od początkowej dawki. Wino traci również większość zwią-

zanego SO_2 na skutek utleniania do siarczanów i wytrącania wraz z cząsteczkami miąższu i komórkami drożdży (chyba że na początku zastosowano wyjątkowo wysoką dawkę). Po zakończeniu fermentacji część każdej dawki akumuluje się jako całkowity SO_2 . Pozostała część znika (nie jest wykrywana podczas oznaczeń zawartości SO_2), przyjmując postać siarczanów (SO_4). Dozwolony w Europie poziom całkowitego SO_2 w przypadku win wytrawnych wynosi 160 mg/L dla win czerwonych i 210 mg/L dla win białych i różowych. W przypadku win słodkich limit ten wynosi od 260 do 400 mg/L, w zależności od kraju i regionu oraz zawartości cukru resztkowego, a dla win likierowych 200 mg/L. Dopuszczalny limit dla ditlenku siarki niezwiązanej wynosi 20–30 mg/L oraz 30–40 mg/L odpowiednio dla win wytrawnych i słodkich. Zawartość ditlenku siarki całkowitej w analizowanych winach w większości przypadków mieści się w dopuszczalnym limicie. Średnia zawartość ditlenku siarki całkowitej w winach czerwonych wynosiła odpowiednio 99,34 mg/L oraz 88,75 mg/L w kolejnych dwóch rocznikach. W winach białych było to odpowiednio 81,2 mg/L oraz 135,13 mg/L. Stężenie ditlenku siarki wolnej w większości przypadków analizowanych win przekraczało dozwolony poziom. Średnie wartości dla tego parametru wynosiły odpowiednio 38,01 mg/L i 37,07 mg/L oraz 21,26 mg/L i 50,54 mg/L dla win czerwonych i białych w kolejnych dwóch rocznikach. Umiejętność siarkowania wina w praktyce zależy od takich czynników, jak: stan zdrowotny winogron, odczyn pH oraz zastosowane technologie produkcji i dojrzewania wina. Im niższe jest pH i wyższa kwasowość wina, tym większy procent ditlenku siarki pozostaje w stanie wolnym i tym mniejszy może być całkowity dodatek SO_2 . Natomiast wszelkie zanieczyszczenia i osady, uszkodzenia winogron, obecność pleśni, dostęp tlenu oraz wysoka temperatura sprzyjają szybszemu wiązaniu się części SO_2 .

4.3.3. Ocena barwy win

Pomiar barwy analizowanych win dokonano w oparciu o instrumentalny pomiar barwy z wykorzystaniem metody CIELAB ($L^* a^* b^*$). W systemie tym jest możliwe określenie jasności obrazu za pomocą parametru L^* i chromatyczności za pomocą parametrów: a^* oraz b^* . W tabelach 49 i 51 przedstawiono uśrednione wartości parametrów barwy dla win czerwonych i białych pochodzących z dwóch kolejnych roczników 2013 i 2014.

Parametry barwy dla win białych wykazywały duże podobieństwo pomiędzy poszczególnymi rodzajami wina, natomiast dla win czerwonych różniły się znacząco. W winach czerwonych parametr L^* , odzwierciedlający jasność barwy, wykazywał wyraźnie niższe wartości w porównaniu do win białych.

Tabela 49. Parametry barwy dla win czerwonych
Table 49. Value of CIELab units of red wines

Wino/Wine	L*	a*	b*	C	h
Cabernet Cortis	71,03	18,43	22,87	29,38	51,13
Cabernet Dorsa	28,63	46,93	16,53	49,75	42,38
Leon Millot	27,94	43,03	18,61	53,54	36,52
Marechal Foch	29,03	43,32	29,96	52,67	34,67
Regent	17,17	45,67	24,7	51,92	28,4
Rondo	13,76	43,12	23,29	49,01	28,37
Cuvee 1	15,45	44	26,27	52,24	30,84
Cuvee 2	24,14	44,88	29,11	53,49	32,97
Cuvee 3	31,41	45,18	26,72	52,49	30,06
Cuvee 4	36,9	39,04	29,51	48,94	37,08
Cuvee 5	27,12	48,07	41,56	50,22	31,29

Tabela 50. Korelacje pomiędzy składowymi barwy oraz poszczególnymi grupami związków polifenolowych w winach czerwonych

Table 50. Correlation coefficient between CIELab units and different polyphenolic groups of red wines

	L*	a*	b*	C	h	A**	F	F3-ol	K	S
L*	1	-0,88	-0,08	-0,87	0,87	-0,80	-0,56	-0,66	-0,31	-0,51
a*		1	0,21	0,94	-0,78	0,66	0,36	0,65	0,12	0,32
b*			1	0,15	-0,37	0,32	0,10	-0,07	-0,31	-0,18
C				1	-0,79	0,68	0,28	0,61	0,09	0,35
h					1	-0,90	-0,48	-0,57	-0,18	-0,45
A						1	0,66	0,57	0,35	0,64
F							1	0,41	0,83	0,77
F3-ol								1	0,14	0,42
K									1	0,86
S										1

** A – antocyjany/anthocyanins, F – flawonole/flavonols, F3-ol – flawan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes

Najniższe wartości dla tego parametru miały wina gatunkowe wyprodukowane z owoców odmian Regent i Rondo. Wino wytworzone z owoców odmiany Cabernet Cortis wyraźnie odstawało pod tym względem, poziom jasności barwy wyrażony przez parametr L* przyjmował tutaj najwyższą wartość. Parametr a* (zmiana barwy w zakresie od zieleni do czerwieni) w badanych czerwonych winach przyjmował wartości dodatnie w zakresie od 18,43 do 48,07. Najniższą wartością tego parametru, podobnie jak w przypadku jasności, charakteryzowało się wino Cabernet Cortis. W pozostałych winach udział barwy czerwonej był porównywalny, z wyjątkiem wina kupażowanego C4, które wyprodukowano z udziałem owoców wspomnianej odmiany. Parametr b* (zmiana barwy w zakresie od niebieskiego do żółtego) również przyjmował wartości dodatnie, które wykazywały większe zróżnicowanie. Najniższą wartość tego parametru wykazywały wina ga-

tunkowe Cabernet Dorsa oraz Leon Millot, natomiast najwyższą, dwukrotnie większą charakteryzowało się wino kupażowane C5. Pozostałe wina cechowała zbliżona wartość tego parametru wskazująca na porównywalny udział barwy żółtej w tych winach. W obrębie analizowanych parametrów barwy dla win czerwonych stwierdzono znaczącą, dodatnią korelację pomiędzy udziałem barwy czerwonej (a^*) a nasyceniem barwy (C) oraz wyraźną ujemną korelację z jasnością barwy (L^*) i tonem barwy (h). Analizując wpływ związków polifenolowych na barwę win czerwonych, stwierdzono wyraźną ujemną korelację pomiędzy stężeniem antocyjanów oraz flawan-3-oli a jasnością i tonem barwy (tabela 50).

Tabela 51. Parametry barwy dla win białych
Table 51. Value of CIELab units of white wines

Wino	L^*	a^*	b^*	C	h
Bianca	86,22	-1,18	20,65	20,23	94,98
Hibernal	89,12	-2,6	10,84	11	99,87
Johanniter	83,86	-1,89	23,71	23,73	87,33
Jutrzienka	86,91	-1,76	18,64	18,73	95,62
Muscat	85,89	-1,52	22,07	22,09	92,72
Prairie Star	85,13	-1,83	30,02	30,24	95,62
Seyval Blanc	89,87	-1,76	11,34	11,4	95,94
Sibera	88,78	-1,05	15,07	15,3	99,77
Solaris	89,91	1,1	9,28	9,44	100,75
Cuvee 1	86,69	-2,8	19,88	19,96	95,06
Cuvee 2	88,72	-1,36	15,61	15,85	100,16
Cuvee 3	89,18	-0,72	11,75	11,83	96,59
Cuvee 4	84,92	0,63	20,83	20,84	88,02
Cuvee 5	87,15	-1,77	15,83	15,84	87,71

Tabela 52. Korelacje pomiędzy składowymi barwy oraz poszczególnymi grupami związków polifenolowych w winach białych

Table 52. Correlation coefficient between CIELab units and different polyphenolic groups of white wines

	L^*	a^*	b^*	C	h	F**	F3-ol	K	S
L^*	1	0,15	-0,90	-0,90	0,76	-0,37	-0,51	-0,21	-0,06
a^*		1	-0,24	-0,25	0,05	-0,24	-0,27	-0,03	-0,33
b^*			1	1,00	-0,51	0,49	0,47	0,39	0,05
C				1	-0,50	0,49	0,46	0,40	0,05
h					1	-0,01	-0,27	0,08	0,18
F						1	0,80	0,09	0,62
F3-ol							1	0,14	0,51
K								1	-0,25
S									1

** F – flawonole/flavonols, F3-ol – flawan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes

W winach białych jasność barwy była wyrównana, wartość parametru L^* mieściła się w dość wąskim zakresie pomiędzy 83,86 a 89,91. Parametr a^* w większości przypadków przyjmował wartości ujemne, wskazując na wyższy udział barwy zielonej w winach białych. Wartości dodatnie dla tego parametru, a więc przesunięcie w kierunku barwy czerwonej, stwierdzono w dwóch winach, gatunkowym, otrzymanym z owoców odmiany Solaris, oraz kupażowanym C4. Parametr b^* wykazywał duże zróżnicowanie w poszczególnych winach, jego wartość mieściła się w zakresie od 9,28 do 30,02 i wskazywała na nieproporcjonalny udział barwy żółtej w analizowanych białych winach. Wśród analizowanych parametrów barwy dla win białych stwierdzono bardzo wysoką korelację pomiędzy nasyceniem barwy (C) a udziałem barwy żółtej (b^*) (tabela 52). Jasność barwy (L^*) natomiast wykazywała zauważalną, dodatnią korelację z tonem barwy (h) oraz odwrotną korelację do nasycenia barwy i parametru b^* . W przypadku win białych nie stwierdzono wyraźnego wpływu występujących polifenoli na barwę, przejawiającego się zauważalną korelacją z parametrami L^* , a^* , b^* . Otrzymane wyniki dla analizowanych win są zgodne z doniesieniami innych autorów korzystających z systemu CIELab do oceny barwy win wytworzonych z innych odmian winorośli oraz pochodzących z innych rejonów świata (Munoz i in. 2009; Alcalde-Eon i in. 2006; Mazza i in. 1999; Monages i in. 2007; Recamales i in. 2006; Recamales i in. 2007). W pracach tych stwierdzono podobne udziały poszczególnych składowych barw w winach czerwonych i białych. Literatura opisująca parametry barwy polskich win jest wciąż niewystarczająca, w nielicznych opracowaniach jednak znaleźć można potwierdzenie otrzymanych wyników (Socha i in. 2010).

4.4. Właściwości antyoksydacyjne owoców oraz win

Aktywność przeciwutleniającą w owocach oraz winach określono, stosując cztery metody: metodę redukcji syntetycznych rodników DPPH i ABTS oraz jonów żelaza FRAP, dodatkowo wyznaczono pojemność antyoksydacyjną mierzoną metodą ORAC. Wyniki z analizy owoców przedstawiono jako średnią dla wybranych odmian zebranych w jednym roku (2012), natomiast wyniki z analizy win przedstawiono w postaci średniej z dwóch kolejnych roczników (2013 i 2014).

4.4.1. Porównanie aktywności przeciwutleniającej w wybranych owocach winogron

W tabeli 53 przedstawiono porównanie aktywności przeciwutleniającej odmian winogron o czerwonych owocach. Skórka odmian Regent, Rondo, Frontenac i Svenson Red charakteryzowała się najwyższą pojemnością anty-

utleniającą oraz zdolnością do redukcji wolnych rodników i jonów żelaza. Średnia zdolność do redukcji kationorodnika ABTS w skórce badanych owoców wynosiła 312,79 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$, rodnika DPPH 170,11 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$ Średnia zdolność do redukcji jonów żelaza wynosiła 192,35 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$ Potencjał ORAC w skórce czerwonych owoców wynosił średnio 92,19 mmol wit. C/g śm. Natomiast najniższe wartości tych parametrów wykazywała skórka odmian Leon Millot i Cabernet Cortis. W mięszu badanych owoców zdolność do redukcji rodnika DPPH wynosiła średnio 4,63 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$, natomiast kationorodnika ABTS wynosiła średnio 11,14 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$ Średnia zdolność do redukcji jonów żelaza wynosiła 6,20 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$ Potencjał ORAC wyniósł średnio 3,32 mmol wit. C/g śm. Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą charakteryzował się miąższ owoców odmian Wiszniowyj Rannij, Marquette oraz Frontenac, najniższą natomiast miąższ owoców odmiany Svenson Red.

Wyniki aktywności przeciwutleniającej odmian o białych owocach przedstawiono w tabeli 54. W skórce tych odmian potencjał antyoksydacyjny był dość wyrównany, niemniej jednak wyraźnie odstawały tu odmiany Bianca oraz Auxerois i Sibera, których skórka charakteryzowała się odpowiednio najwyższą i najniższą aktywnością przeciwutleniającą. Średnia zdolność redukcji rodnika DPPH w skórce białych owoców wynosiła 51,76 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$, natomiast kationorodnika ABTS 75,63 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$ Średnia zdolność do redukcji jonów żelaza wynosiła średnio 91,96 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$, natomiast pojemność antyoksydacyjna wyniosła średnio 45,24 mmol wit. C/g śm. Miąższ, podobnie jak skórka, charakteryzował się dość wyrównanym poziomem aktywności przeciwutleniającej. Średnia zdolność do redukcji kationorodnika ABTS w mięszu badanych owoców wynosiła 5,77 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$, rodnika DPPH 4,16 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$ Średnia zdolność do redukcji jonów żelaza wynosiła 7,58 $\mu\text{mol Troloxu/g śm.}$ Potencjał ORAC w skórce czerwonych owoców wynosił średnio 2,11 mmol wit. C/g śm. Najwyższy potencjał antyoksydacyjny wykazywał miąższ odmian Jutrzenka i Grosso, najniższy natomiast odmian Serena i Prairie Star. W tabelach 55 i 56 przedstawiono współczynniki korelacji, jakie uzyskano pomiędzy zawartością poszczególnych klas związków polifenolowych a aktywnością przeciwutleniającą owoców, jak również korelację pomiędzy poszczególnymi metodami określania potencjału antyoksydacyjnego. Pomędzy tymi ostatnimi stwierdzono znaczącą korelację zarówno w owocach czerwonych, jak i białych, wskazującą na porównywalność i wymienialność tych metod w określaniu potencjału antyoksydacyjnego w owocach winogron. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy (Cimino i in. 2007; Li i in. 2009). W obu rodzajach owoców zarówno w skórce, jak i w mięszu stwierdzono wysoką korelację pomiędzy całkowitą zawar-

tością polifenoli a potencjałem antyoksydacyjnym. Udział poszczególnych klas analizowanych związków polifenolowych w kształtowaniu zdolności przeciwutleniającej różnił się w zależności od rodzaju owoców. W odmianach o czerwonych owocach największa korelacja występowała pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a antocyjanami, których udział w całkowitej zawartości polifenoli był największy. W niewielkim stopniu również flawonole i flawan-3-ole decydowały o aktywności antyoksydacyjnej, co przekładało się na wysokie współczynniki korelacji. Pozostałe grupy związków polifenolowych nie odgrywały istotnej roli w tworzeniu potencjału przeciwutleniającego odmian winogron o czerwonych owocach. W odmianach o białych owocach najwyższe współczynniki korelacji występowały pomiędzy aktywnością a stężeniem flawan-3-oli oraz w mniejszym stopniu pomiędzy flawonolami. Podobnie jak w odmianach o czerwonych owocach, również tutaj fenolokwasy i stilbeny nie miały większego wpływu na wysokość potencjału przeciwutleniającego.

Tabela 53. Aktywność przeciwutleniająca owoców czerwonych odmian winogron
Tables 53. Antioxidant activity of red grapes

Odmiana Varieties	Skórka/Skin				Miąższ/Pulp			
	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
	μmol Troloxu /g śm.*		mmol wit. C /g śm.		μmol Troloxu /g śm.		mmol wit. C /g śm.	
Acolon	156,56 ^f	287,88 ^e	177,03 ^d	84,85 ^d	4,43 ^d	10,60 ^d	5,90 ^e	3,16 ^c
Aulwood	112,55 ⁱ	206,95 ^h	127,26 ^f	61,00 ^f	3,34 ^e	8,01 ^f	4,46 ^f	2,39 ^d
Cabernet Cortis	56,58 ^k	104,04 ^j	63,98 ^h	30,67 ^h	3,00 ^e	7,20 ^g	4,01 ^f	2,15 ^d
Cabernet Dorsa	207,00 ^d	380,62 ^d	234,06 ^c	112,18 ^c	3,48 ^e	8,34 ^f	4,64 ^f	2,49 ^d
DeChaunac	139,19 ^g	255,94 ^f	157,39 ^c	75,44 ^e	3,18 ^e	7,62 ^g	4,24 ^f	2,27 ^d
Frontenac	238,44 ^c	438,44 ^c	269,61 ^b	129,23 ^b	6,20 ^b	14,85 ^b	8,27 ^b	4,43 ^b
Heridan	126,16 ^h	231,97 ^g	142,65 ^e	68,37 ^e	3,85 ^e	9,23 ^e	5,14 ^e	2,75 ^d
Leon Millot	99,15 ^j	182,32 ⁱ	112,12 ^g	53,74 ^g	4,60 ^d	11,02 ^d	6,13 ^d	3,29 ^c
Marechal Foch	111,67 ⁱ	205,33 ^h	126,27 ^f	60,52 ^f	5,45 ^c	13,06 ^c	7,27 ^c	3,90 ^b
Marquette	210,46 ^d	386,99 ^d	237,98 ^c	114,06 ^c	6,38 ^b	15,28 ^b	8,51 ^b	4,56 ^b
Regent	275,96 ^a	507,43 ^a	312,04 ^a	149,56 ^a	3,89 ^e	9,33 ^e	5,19 ^e	2,78 ^d
Rondo	258,46 ^b	475,26 ^b	292,26 ^a	140,08 ^a	3,92 ^e	9,40 ^e	5,23 ^e	2,80 ^d
Sabrevois	195,24 ^e	359,01 ^d	220,77 ^c	105,82 ^a	4,69 ^d	11,24 ^d	6,26 ^d	3,35 ^c
Svenson Red	221,69 ^c	407,64 ^c	250,68 ^b	120,15 ^b	2,38 ^f	5,69 ^h	3,17 ^g	1,70 ^e
Wiszniowyj Rannij	142,55 ^g	262,12 ^f	161,19 ^d	77,26 ^d	10,65 ^a	26,23 ^a	14,60 ^a	7,82 ^a

* g/śm. – g/fresh weight

a, b, c... te same litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncana)
a, b, c... the same letters in columns mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 54. Aktywność przeciwutleniająca owoców białych odmian winogron
Table 54. Antioxidant activity of white grapes

Odmiana Varieties	Skórka/Skin			Miąższ/Pulp				
	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
	μmol Troloxu /g śm.			mmol wit. C /g śm.	μmol Troloxu /g śm.			mmol wit. C /g śm.
Adalmiina	55,66 ^b	81,34 ^b	98,61 ^b	48,65 ^b	3,60 ^d	4,99 ^e	6,56 ^e	1,82 ^c
Aurora	53,16 ^c	77,69 ^c	94,18 ^c	46,47 ^c	3,95 ^d	5,47 ^d	7,18 ^d	1,99 ^c
Auxerois	40,70 ^e	59,47 ^e	72,10 ^f	35,57 ^e	4,41 ^c	6,11 ^c	8,02 ^c	2,23 ^b
Bianca	74,05 ^a	108,21 ^a	131,18 ^a	64,72 ^a	3,64 ^d	5,04 ^d	6,62 ^e	1,84 ^c
Grosso	44,63 ^d	65,21 ^d	79,06 ^e	39,01 ^d	6,19 ^a	8,58 ^a	11,27 ^a	3,13 ^a
Hibernal	53,47 ^c	78,13 ^b	94,72 ^c	46,74 ^c	3,79 ^d	5,26 ^d	6,91 ^e	1,92 ^c
Johanniter	56,76 ^b	82,94 ^b	100,54 ^b	49,61 ^b	3,63 ^d	5,03 ^d	6,61 ^e	1,83 ^c
Jutrzenka	48,76 ^c	71,25 ^c	86,38 ^d	42,62 ^c	5,67 ^b	7,86 ^b	10,32 ^a	2,86 ^b
KeyGrey	54,39 ^c	79,48 ^b	96,35 ^c	47,54 ^c	3,94 ^d	5,46 ^d	7,17 ^d	1,99 ^c
Kristaly	51,99 ^c	75,97 ^c	92,10 ^d	45,44 ^c	3,51 ^d	4,86 ^e	6,39 ^e	1,77 ^d
Muscaris	53,40 ^c	78,03 ^b	94,60 ^b	46,67 ^c	5,08 ^b	7,04 ^b	9,25 ^b	2,57 ^b
Muscat	55,94 ^b	81,74 ^b	99,09 ^b	48,89 ^b	4,71 ^c	6,52 ^c	8,57 ^c	2,38 ^b
Ortega	53,69 ^c	78,46 ^b	95,12 ^c	46,93 ^c	4,72 ^c	6,54 ^c	8,59 ^c	2,38 ^b
Prairie Star	42,82 ^d	62,57 ^d	75,85 ^f	37,42 ^d	3,01 ^e	4,17 ^e	5,48 ^f	1,52 ^d
Seyval Blanc	42,75 ^d	62,46 ^d	75,72 ^f	37,36 ^d	3,72 ^d	5,16 ^d	6,78 ^e	1,88 ^c
Sibera	39,92 ^e	58,34 ^d	70,73 ^e	34,90 ^e	4,36 ^c	6,05 ^c	7,94 ^d	2,20 ^b
Serena	56,41 ^b	82,43 ^b	99,93 ^b	49,31 ^b	2,83 ^f	3,92 ^f	5,14 ^f	1,43 ^d
Solaris	47,44 ^c	69,32 ^c	84,04 ^a	41,46 ^c	3,69 ^d	5,11 ^d	6,72 ^e	1,86 ^c

* g/śm. – g/fresh weight

a, b, c... te same litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności p < 0,05 (test Duncana)
a, b, c... the same letters in columns mean homogenous group at p < 0,05 (Duncan test)

Tabela 55. Współczynniki korelacji pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą w owocach czerwonych
Table 55. Correlation coefficient between different polyphenolic groups and antioxidant activity of red grapes

	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC	PFO*	A	F	F-3-ol	K	S
DPPH	1	0,991	0,994	0,949	0,942	0,913	0,713	0,901	0,722	0,044
ABTS		1	0,996	0,962	0,938	0,94	0,859	0,83	0,567	0,084
FRAP			1	0,97	0,943	0,934	0,785	0,865	0,757	0,015
ORAC				1	0,957	0,982	0,834	0,78	0,669	0,032
PFO					1	0,912	0,761	0,794	0,432	0,071
A						1	0,68	0,655	0,539	0,094
F							1	0,578	0,436	0,078
F-3-ol								1	0,415	0,023
K									1	-0,256
S										1

* PFO – polifenole ogółem/total polyphenolics, A – antocyjany/anthocyanins, F – flawonole/flavonols, F-3-ol – flawan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes.

Tabela 56. Współczynniki korelacji pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą w owocach białych winogron

Table 56. Correlation coefficient between different polyphenolic groups and antioxidant activity of white grapes

	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC	PFO*	F	F-3-ol	K	S
DPPH	1	0,991	0,909	0,936	0,98	0,666	0,866	0,596	0,021
ABTS		1	0,972	0,921	0,949	0,731	0,793	0,493	0,058
FRAP			1	0,934	0,936	0,656	0,757	0,382	0,041
ORAC				1	0,942	0,772	0,923	0,584	0,054
PFO					1	0,532	0,811	0,634	0,023
F						1	0,567	0,128	0,011
F-3-ol							1	0,387	0,041
K								1	0,033
S									1

* PFO – polifenole ogółem/total polyphenolics, F – flawonole/flavonols, F-3-ol – flawan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes.

4.4.2. Porównanie aktywności przeciwutleniającej wybranych win

W tabeli 57 przedstawiono porównanie aktywności przeciwutleniającej analizowanych win czerwonych. Średnia zdolność do redukcji kationorodnika ABTS w badanych winach wynosiła 13,57 mmol Troloxu/L, rodnika DPPH 6,12 mmol Troloxu/L. Średnia zdolność do redukcji jonów żelaza wynosiła 5,02 μmol Troloxu/L. Potencjał ORAC w skórce czerwonych owoców wynosił średnio 352,73 mmol wit. C/L. Najwyższym potencjałem charakteryzowały się wina gatunkowe otrzymane z owoców odmian Regent i Rondo, oraz wina kupażowane z wysokim udziałem owoców wspomnianych odmian. Najniższą aktywnością charakteryzowały się wina gatunkowe Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa. Wina otrzymane z odmian o białych owocach (tabela 58) charakteryzowały się mniejszą zdolnością antyoksydacyjną w porównaniu do win czerwonych. W winach białych zdolność do redukcji rodnika DPPH wynosiła średnio 1,86 mmol Troloxu/L, natomiast kationorodnika ABTS wynosiła średnio 3,60 mmol Troloxu/L. Średnia zdolność do redukcji jonów żelaza wynosiła 0,96 mmol Troloxu/L. Potencjał ORAC wyniósł średnio 157,13 mmol wit. C/L. Podobnie jak w przypadku owoców, poziom aktywności przeciwutleniającej był dość wyrównany. Wina gatunkowe otrzymane z owoców odmian Muscat, Prairie Star i Johanniter odznaczały się najwyższą aktywnością antyoksydacyjną, pozostałe wina nieznacznie różniły się pod tym względem, wśród nich najniższy potencjał miało wino Seyval Blanc. Udział poszczególnych grup związków polifenolowych w kształtowaniu potencjału antyoksydacyjnego w winach był podobny jak w przypadku owoców. W obu rodzajach win otrzymano wysoką korelację pomiędzy całkowitym stężeniem polifenoli a wysokością potencjału antyoksydacyjnego (tabele 59 i 60). W winach czerwonych największy wpływ na aktywność antyoksydacyjną wywierały antocyjany

i w niewielkim stopniu flawan-3-ole. W winach białych natomiast decydującą rolę w tworzeniu potencjału przeciwutleniającego miały flawan-3-ole. W przypadku obu rodzajów win uzyskano wysoką korelację pomiędzy zastosowanymi metodami określania potencjału antyoksydacyjnego, podobnie jak w przypadku owoców. Również dla win można te metody stosować wymiennie, uzyskując przy tym porównywalne wyniki.

Tabela 57. Aktywność przeciwutleniająca czerwonych win
Table 57. Antioxidant activity of red wines

Wino Wine	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
	mmol Troloxu /L			mmol wit. C /L
Cabernet Cortis	2,85 ^e	6,33 ^e	2,35 ^g	16,45 ^f
Cabernet Dorsa	4,34 ^d	9,62 ^d	3,56 ^f	25,00 ^e
Leon Millot	6,37 ^b	14,12 ^b	5,23 ^c	36,70 ^c
Marechal Foch	5,71 ^c	12,66 ^c	4,69 ^d	32,91 ^d
Regent	7,85 ^a	17,41 ^a	6,45 ^a	45,24 ^a
Rondo	7,02 ^a	15,58 ^b	5,77 ^b	40,48 ^b
Cuvee 1	7,84 ^a	17,39 ^a	6,44 ^a	45,18 ^a
Cuvee 2	7,27 ^a	16,13 ^a	5,98 ^b	41,91 ^b
Cuvee 3	5,20 ^c	11,54 ^c	4,28 ^c	29,99 ^d
Cuvee 4	6,46 ^b	14,32 ^b	5,31 ^c	37,22 ^c
Cuvee 5	5,89 ^c	13,07 ^c	4,84 ^d	33,95 ^d
Cuvee 6	6,65 ^b	14,74 ^b	5,46 ^c	38,30 ^c

a, b, c... te same litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncana)
a, b, c... the same letters in columns mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 58. Aktywność przeciwutleniająca białych win
Table 58. Antioxidant activity of white wines

Wino Wine	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
	mmol Troloxu /L			mmol wit. C /L
Bianca	1,93 ^c	3,74 ^c	1,00 ^a	16,27 ^b
Hibernal	1,77 ^d	3,41 ^d	0,92 ^b	14,89 ^c
Johanniter	2,18 ^a	4,24 ^a	1,13 ^a	18,37 ^a
Jutrzenka	1,93 ^b	3,73 ^b	1,00 ^b	16,23 ^b
Muscat	2,05 ^b	3,98 ^b	1,06 ^a	17,29 ^a
Prairie Star	2,16 ^a	4,19 ^a	1,12 ^a	18,20 ^a
Seyval Blanc	1,72 ^d	3,32 ^d	0,89 ^b	14,52 ^c
Sibera	1,91 ^c	3,69 ^c	0,99 ^b	16,07 ^b
Solaris	1,62 ^e	3,12 ^e	0,84 ^c	13,69 ^c
Cuvee 1	1,92 ^c	3,72 ^c	1,00 ^a	16,20 ^b
Cuvee 2	1,78 ^d	3,43 ^d	0,92 ^{bc}	14,98 ^c
Cuvee 3	1,61 ^e	3,10 ^e	0,84 ^c	13,60 ^c
Cuvee 4	1,79 ^d	3,45 ^d	0,93 ^b	15,06 ^b
Cuvee 5	1,74 ^d	3,35 ^d	0,90 ^b	14,62 ^c

a, b, c... te same litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncana)
a, b, c... the same letters in columns mean homogenous group at $p < 0,05$ (Duncan test)

Tabela 59. Współczynniki korelacji pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą w czerwonych winach

Table 59. Correlation coefficient between different polyphenolic groups and antioxidant activity of red wines

	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC	PFO*	A	F	F-3-ol	K	S
DPPH	1	0,997	0,994	0,942	0,912	0,857	0,57	0,757	0,478	0,385
ABTS		1	0,99	0,969	0,927	0,859	0,48	0,669	0,579	0,257
FRAP			1	0,905	0,983	0,89	0,366	0,761	0,624	0,12
ORAC				1	0,929	0,866	0,405	0,78	0,699	0,274
PFO					1	0,892	0,537	0,812	0,594	0,164
A						1	-0,014	-0,384	0,436	0,078
F							1	0,325	0,147	0,098
F-3-ol								1	-0,053	0,015
K									1	-0,145
S										1

* PFO – polifenole ogółem/total polyphenolics, A – antocyjany/anthocyanins, F – flawonole/flavonols, F-3-ol – flawan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes.

Tabela 60. Współczynniki korelacji pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą w białych winach

Table 60. Correlation coefficient between different polyphenolic groups and antioxidant activity of white wines

	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC	PFO*	F	F-3-ol	K	S
DPPH	1	0,916	0,961	0,90	0,992	0,62	0,79	0,535	0,17
ABTS		1	0,982	0,905	0,986	0,583	0,815	0,48	0,08
FRAP			1	0,925	0,967	0,449	0,868	0,403	0,122
ORAC				1	0,991	0,65	0,848	0,338	0,062
PFO					1	0,612	0,891	0,678	0,023
F						1	0,405	0,26	0,14
F-3-ol							1	0,115	0,09
K								1	-0,018
S									1

* PFO – polifenole ogółem/total polyphenolics, F – flawonole/flavonols, F-3-ol – flawan-3-ole/flavan-3-ols, K – fenolokwasy/phenolic acids, S – stilbeny/stilbenes.

Wysoką korelację pomiędzy całkowitą zawartością związków polifenolowych a potencjałem antyoksydacyjnym wykazali również inni autorzy (Yang i in. 2009; Connor i in. 2002; Iacopini in. 2008). Analizowane czerwone wina charakteryzowały się niższym potencjałem antyoksydacyjnym w porównaniu do win wywodzących się z cieplejszych rejonów Europy (Fernandez-Pachon i in. 2004; Rivero-Perez i in. 2007), co wynikało z niższej zawartości związków polifenolowych.

5. Wnioski

1. Zawartość związków polifenolowych w skórce czerwonych owoców winogron mieściła się w zakresie od 587,76 do 2866,5 mg/kg śm., natomiast w miąższu od 19,55 do 90,06 mg/kg śm. Średnia zawartość polifenoli dla wszystkich odmian o czerwonych owocach wynosiła: 1767,03 mg/kg śm. w skórce i 38,25 mg/kg śm. w miąższu.
2. Wśród odmian o czerwonych owocach najwyższym stężeniem związków polifenolowych w skórce charakteryzowały się owoce odmian Regent, Rondo oraz Svenson Red, najniższym zaś Cabernet Cortis. W miąższu najniższa całkowita zawartość polifenoli występowała w odmianie Cabernet Cortis, najwyższa zaś w odmianie Wiszniowyj Rannij.
3. W skórce białych odmian winogron całkowita zawartość związków polifenolowych mieściła się w zakresie od 398,59 do 739,28 mg/kg śm., natomiast w miąższu od 16,04 mg/kg śm. do 35,14 mg/kg śm. Średnia zawartość polifenoli dla wszystkich odmian o białych owocach wynosiła: 513,56 mg/kg śm. w skórce i 23,47 mg/kg śm. w miąższu.
4. Wśród odmian o białych owocach najwyższym stężeniem związków polifenolowych w skórce charakteryzowała się odmiana Bianca, najniższym zaś Sibera. Wyraźnie mniejszą zawartość polifenoli zaobserwowano również w skórce odmian Auxerrois, Seyval Blanc oraz Prairie Star. W miąższu najniższa całkowita zawartość polifenoli występowała w odmianach Prairie Star i Serena, najwyższa zaś w odmianach Grosso i Jutrzenka.
5. W skórce czerwonych owoców najliczniejszą grupę stanowiły antocyjany, których udział wynosił 70% całkowitej zawartości polifenoli. Flawan-3-ole były dominującą grupą w miąższu czerwonych owoców, ich udział wynosił 60% całkowitej zawartości polifenoli, oraz w skórce i miąższu białych owoców, gdzie ich udział wynosił odpowiednio 80% i 65%.
6. Po raz pierwszy stwierdzono występowanie w owocach winogron trzech pochodnych flawonolowych, były to 3,7,4'-tri-*O*-glukozyd kwercetyny, 3,7-di-*O*-glukozyd kwercetyny oraz 4'-*O*-glukozyd kwercetyny.

7. Średnia zawartość związków polifenolowych w czerwonych winach gatunkowych w dwóch kolejnych rocznikach wynosiła odpowiednio 1022,18 mg/L oraz 922,69 mg/L. Największym stężeniem polifenoli charakteryzowały się wina otrzymane z owoców odmian Regent i Rondo, natomiast najmniejszym wina otrzymane z owoców odmian Cabernet Cortis i Cabernet Dorsa.
8. Średnia zawartość związków polifenolowych w czerwonych winach kupażowanych była wyższa w porównaniu do win gatunkowych i wynosiła odpowiednio 1176 mg/L oraz 980 mg/L dla roczników 2013 i 2014. Wina z udziałem owoców odmian Regent i Rondo charakteryzowały się wyższym stężeniem polifenoli w porównaniu do pozostałych kupaży.
9. Stężenie polifenoli w winach otrzymanych z odmian o białych owocach było ponad dziesięciokrotnie mniejsze niż w winach czerwonych. W winach gatunkowych średnie stężenie polifenoli wynosiło 104,28 mg/L i 90,60 mg/L, odpowiednio dla roczników 2013 i 2014.
10. Największym stężeniem polifenoli charakteryzowały się wina otrzymane z owoców odmian Johanniter, Prairie Star, Muscat i Bianca, najniższym natomiast z owoców odmian Solaris, Hiberna oraz Seyval Blanc.
11. Wina kupażowane otrzymane z odmian o białych owocach charakteryzowały się mniejszą całkowitą zawartością polifenoli, która średnio wynosiła 96,04 mg/L i 76,06 mg/L odpowiednio w rocznikach 2013 oraz 2014.
12. Zawartość polifenoli w winach analizowanych w niniejszym opracowaniu jest charakterystyczna dla chłodniejszych regionów, w szczególności wina białe odznaczają się mniejszą zawartością tych związków.
13. Aktywność przeciwutleniająca zarówno owoców, jak i wina była silnie skorelowana z całkowitą zawartością związków polifenolowych. W czerwonych owocach oraz w czerwonych winach na wysokość potencjału antyoksydacyjnego wyraźny wpływ miało stężenie antocyjanów, natomiast w owocach i winach białych stężenie flawan-3-oli.
14. Całkowita zawartość kwasów organicznych w analizowanych winach czerwonych wynosiła średnio 5,93 g/L i 5,60 g/L w dwóch kolejnych rocznikach win gatunkowych oraz 6,18 g/L i 6,22 g/L w dwóch kolejnych rocznikach win kupażowanych. Największym stężeniem charakteryzował się kwas mlekowy, którego udział w całkowitej zawartości kwasów wynosił średnio ok. 40%.

15. Wina białe charakteryzowały się wyższą kwasowością ogólną. Całkowita zawartość kwasów organicznych w winach gatunkowych wynosiła średnio 7 g/L oraz 7,1 g/L odpowiednio w rocznikach 2013 i 2014. W winach kupażowanych z rocznika 2014 kwasowość była porównywalna i wynosiła 7,2 g/L, natomiast w winach z rocznika 2013 była najmniejsza i wynosiła 6,7 g/L.
16. Kwasowość analizowanych win jest charakterystyczna dla rejonów o chłodniejszym klimacie. Większość z analizowanych win przekracza poziom kwasowości dla win wytrawnych i wchodzi w zakres charakterystyczny dla win półwytrawnych i półsłodkich.
17. Stężenie cukru w analizowanych winach, z wyjątkiem nielicznych przypadków, wynosiło poniżej 1g/L. W winach czerwonych wynosiło średnio 0,83 g/L oraz 0,73 g/L w kolejnych rocznikach 2013 i 2014. W winach białych z rocznika 2013 stężenie cukru było porównywalne z winami czerwonymi i wynosiło średnio 0,83 g/L, w winach z rocznika 2014 było najwyższe, ze średnią wartością wynoszącą 1,1 g/L. Pod względem zawartości cukrów analizowane wina zaliczyć można do gatunku win wytrawnych.
18. Stężenie etanolu w analizowanych winach różniło się zarówno pomiędzy poszczególnymi rodzajami wina, jak i rocznikami. W winach czerwonych średnia zawartość etanolu wynosiła 12,19% i 11,77% kolejno w rocznikach 2013 oraz 2014, przy czym wina kupażowane charakteryzowały się mniejszym stężeniem alkoholu, wynoszącym średnio 11,90% oraz 11,44%. Wina białe zawierały podobne stężenie etanolu, wynoszące średnio w kolejnych dwóch rocznikach odpowiednio 12,08% oraz 11,81%. Podobnie jak w winach czerwonych wina kupażowane zawierały mniej alkoholu etylowego, odpowiednio 11,63% oraz 11,3%. Pod względem zawartości etanolu analizowane wina można zaliczyć do win średniomocnych.
19. Zawartość ditlenku siarki całkowitej w analizowanych winach w większości przypadków mieści się w dopuszczalnym limicie. Średnia zawartość ditlenku siarki całkowitej w winach czerwonych wynosiła odpowiednio 99,34 mg/L oraz 88,75 mg/L w kolejnych dwóch rocznikach. W winach białych było to odpowiednio 81,2 mg/L oraz 135,13 mg/L. Stężenie ditlenku siarki wolnej w większości przypadków analizowanych win przekraczało dozwolony poziom. Średnie wartości dla tego parametru wynosiły odpowiednio 38,01 mg/L i 37,07 mg/L oraz 21,26 mg/L i 50,54 mg/L dla win czerwonych i białych w kolejnych dwóch rocznikach.

Bibliografia

1. Acevedo de la Cruz A., Hilbert G., Riviere C., Mengin N., Ollat N., Bordenave L., Decroocq S., Delanauy J.-C., Delrot S., Merillon J.-M., Monti J.-P., Gomes E., Richard T. 2012. *Anthocyanin identification and composition of wild Vitis spp. Accessions by using LC-MS and LC-NMR*. Anal. Chim. Acta 732, 145–152.
2. Aggarwal B.B., Shishodia S. 2006. *Resveratrol in health and disease*. Marcel Dekker, New York.
3. Aguirre L., Fernández-Quintela A., Arias N., Portillo M.P. 2014. *Resveratrol: Anti-Obesity mechanisms of action*. Molecules 19, 18632–18655.
4. Alcalde-Eon C., Escribano-Bailon M.T., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J.C. 2006. *Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study*. Anal. Chim. Acta 563, 238–254.
5. Almela L., Javaloy S., Fernandez-Lopez J.A., Lopez-Roca J.M. 1996. *Varietal classification of young red wines in terms of chemical and colour parameters*. J. Sci. Food Agric., 70, 173–180.
6. Andres-Lacueva C., Lamuela-Raventos R.M., Buxadera S., Torre-Bonat M.C. 1996. *Polyphenol content in sparkling wines (Cava) at different aging period*. In J. Vercauteren, C. Cheze M.C., Dumon J.F., Weber (Eds.), Polyphenols communications 96/XVIIIth International Conference on Polyphenols (Vol. 2, pp. 305–306). Bordeaux: Secretariat du Groupe Polyphenols.
7. Arnous A., Makris D.P., Kefalas P. 2002. *Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece*. J. Food Comp. Anal. 15, 655–665.
8. Arozarena I., Casp A., Marin R., Navarro M. 2000. *Multivariate differentiation of Spanish red wines according to region and variety*. J. Sci. Food Agric. 70, 1909–1917.
9. Arts I.C., van de Putte B., Hollman P.C. 2000. *Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods*.
10. Aviram M., Fuhrman B. 2002. *Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 957, 146–161.
11. Baderschneider B., Winterhalter P. 2001. *Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity*. J. Agric. Food Chem., 49, 2788–2798.
12. Bagchi D., Sen C.K., Bagchi M., Atalay M. 2004. *Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of novel anthocyanin-rich berry extract formula*. Biochem. (Mosc), 69, 75–80.

13. Baldi A., Romani A., Mulinacci N., Vincieri F.F. 1993. *Composes phenoliques dans lescepages de Toscane de Vitis vinifera L.* J. Int. Sci. Vigne Vin, 27, 201–215.
14. Baldi A., Romani A., Mulinacci N., Vincieri F.F., Casetta B. 1995. *HPLC/MS application to anthocyanins of Vitis vinifera L.* J. Agric. Food Chem. 43, 2104–2109.
15. Baldi A., Romani A., Mulinacci N., Vincieri F.F. 1993. *Composes phenoliques dans lescepages de Toscane de Vitis vinifera L.* J. Int. Sci. Vigne Vin 27, 201–215.
16. Benzie I.F.F., Strain J.J. 1996. *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power”: the FRAP assay.* Anal. Biochem., 239, 70–76.
17. Betes-Saura C., Andres-Lacueva C., Lamuela-Raventos R.M. 1996. *Phenolics in white free run juices and wines from Penedes by High-performance liquid chromatography: Changes during vinification.* J. Agric. Food Chem., 44, 3040–3046.
18. Bianchini F., Vainio H. 2003. *Wine and resveratrol: Mechanisms of cancer prevention?* Eur. J. Cancer Prev. 12, 417–425.
19. Bogs J., Downey M., Harvey J., Ashton A., Tanner G., Robinson S. 2005. *Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves.* Plant Physiol., 139, 652–663.
20. Boursiquot J.M., Sapis J.C., Macheix J.J. 1986. *Les esters hydroxycinnamiques chez le genre Vitis. Essais d'application taxonomique premiers resultats.* C.R. Acad. Sci. Serie III- Life Sciences, 302, 177–180.
21. Bowen-Forbes C.S., Zhang Y., Nair M.G. 2010. *Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits.* J. Food Anal. Comp. 23, 554–560.
22. Bruno G., Sparapano L. 2007. *Effects of three esca-associated fungi on Vitis vinifera L : V. Changes in the chemical and biological profile of xylem sap from diseased cv. Sangiovese vines.* Physiol. Mol. Plant Pathol. 71, 210–229.
23. Buiarelli F., Coccioli F., Jasionowska R., Merolle M., Terracciano A. 2007. *Analysis of some stilbenes in Italian wines by liquid chromatography/tandem mass spectrometry.* Rapid Commun. Mass Spectrom. 21, 2955–2964.
24. Buryanovskyy L., Fu Y., Boyd M., Ma Y., Hsieh T.C., Wu J.M., Zhang Z. 2004. *Crystal structure of quinone reductase 2 in complex with resveratrol.* Biochemistry 36, 11417–11426.
25. Cabaroglu T. 2005. *Methanol contents of Turkish varietal wines and effect of processing.* Food Control 16:177–81.
26. Caimi G., Carollo C., Presti R. 2003. *Diabetes mellitus: Oxidative stress and wine.* Curr. Med. Res. Opin. 19, 581–586.
27. Canals R., Llaudy M., Valls J., Canals J., Zamora F. 2005. *Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skins and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening.* J. Agric. Food Chem., 53, 4019–4025.
28. Cantos E., Espin J., Tomas-Barberan F. 2002. *Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS.* J. Agric. Food Chem., 50, 5691–5696.

29. Cantos E., Espin J.C., Fernandez M.J., Oliva J., Tomas-Barberan F.A. 2003. *Post-harvest UV-C-irradiated grapes as a potential source for producing stilbene-enriched red wines*. J. Agric. Food Chem., 51, 1208–1214.
30. Castellarin S., di Gaspero G., Marconi R., Nonis A., Peterlunger E., Paillard S., Adam-Blondon A., Testolin R. 2006. *Colour variation in red grapevines (Vitis vinifera L.): genomic organisation, expression of flavonoid 3'-hydroxylase, flavonoid 3',5'-hydroxylase genes and related metabolite profiling of red cyanidin-/blue delphinidin based anthocyanins in berry skin*. BMC Genomics, 7, 12.
31. Castilla P., Davalos A., Teruel J.L., Cerrato F., Fernandez-Lucas M., Merino J.L., Sanchez-Martin C.C., Ortuno J., Lasuncion M.A. 2008. *Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients*. Am. J. Clin. Nutr. 87, 1053–1061.
32. Castillo-Munoz N., Fernandez-Gonzales M., Gomes-Alonso S., Garcia-Romero E., Hermosin-Gutierrez I. 2009. *Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorea (Vitis vinifera L.) grapes and red wines*. J. Agric. Food Chem. 57, 7883–7891.
33. Castillo-Munoz N., Gomes-Alonso S., Garcia-Romero E., Hermosin-Gutierrez I. 2010. *Flavonol profiles of Vitis vinifera white grape cultivars*. J. Food Comp. Anal. 23, 699–705.
34. Chamkha M., Cathala B., Cheynier V., Douillard R., 2003. *Phenolic composition of Champagnes from Chardonnay and Pinot Noir vintages*. J. Agric. Food Chem 51, 3179–3184.
35. Cheynier V., Rigaud J. 1986. *HPLC separation and characterization of flavonols in the skins of Vitis vinifera var. Cinsault*. Am. J. Enol. Vitic., 37, 248–252.
36. 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.
37. Cheynier V., Rigaud J., Souquet J.M., Barillere J.M., Moutounet M. 1989. *Effect of pomace contact and hyperoxidation on the phenolic composition and quality of Grenache and Chardonnay wines*. Am. J. Enol. Vitic., 40, 36–42.
38. Cimino F., Sulfaro V., Trombetta D., Saija A., Tomiano A. 2007. *Radicalscavenging capacity of several Italian red wines*. J Agric. Food Chem. 103, 75–81.
39. Clere N., Faure S., Martinez C., Ramarosan A. 2011. *Anticancer Properties of Flavonoids: Roles in Various Stages of Carcinogenesis*. Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry 9, 62–77.
40. Clifford M.N. 2000. *Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden*. J Food Sci Agric 80,1063–72
41. Coimbra S.R., Lage S.H., Brandizzi L., Yoshida V., da Luz P.L. 2005. *The action of red wine and purple grape juice on vascular reactivity is independent of plasma lipids in hypercholesterolemic patients*. Braz. J. Med. Biol. Res. 38, 1339–1347.
42. Connor A.M., Luby J.J., Tong C.B.S., Finn C.E., Hancock J.F. 2002. *Variation and heritability estimates for antioxidant activity total phenolic content and anthocyanin content in blueberry progenies*. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 1, 82–88.

43. Corder R., Mullen W., Khan N.Q., Marks S.C., Wood E.G., Carrier M.J., Crozier A. 2006. *Oenology: Red wine procyanidins and vascular health*. Nature 444, 566.
44. Cordova A.C., Jackson L.S., Berke-Schlessel D.W., Sumpio B.E. 2005. *The cardiovascular protective effect of red wine*. J. Am. Coll. Surg. 200, 428–439.
45. Cortell J., Kennedy J.A. 2006. *Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (Vitis vinifera L.) Pinot Noir fruit and extraction in a model system*. J. Agric. Food Chem., 54, 8510–8520.
46. Cortell J.M., Halbleib M., Gallagher A.V., Righetti T.L., Kennedy J.A. 2005. *Influence of vine vigor on grape (Vitis vinifera L. Cv. Pinot Noir) and wine proanthocyanidins*. J. Agric. Food Chem., 53, 5798–5808.
47. Cushnie T.P., Lamb A.J. 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids*. Int. J. Antimicrob. Agents. 26, 343–356.
48. Dai J., Guptea A., Gatesa L., Mumper R.J. 2009. *A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms* Food and Chem. Toxicol. 47, 837–847.
49. de Bruyne T., Pieters L., Witvrouw M., de Clercq E., Berghe D.V., Vlietinck A.J. 1999. *Biological evaluation of proanthocyanidin dimers and related polyphenols*. J. Nat. Prod. 62, 954–958.
50. de la Torre R., Covas M.I., Pujadas M.A., Fito M., Farre M. 2006. *Is dopamine behind the health benefits of red wine?* Eur. J. Nutr. 45, 307–310.
51. de Nisco M., Manfra M., Bolognese A., Sofò A., Scopa A., Teone G.C., Pagano F., Miliete C., Russo M.T. 2013. *Nutraceutical properties and polyphenolic profile of berry skin and wine of Vitis vinifera L. (cv. Aglianico)*. Food Chem. 140, 623–629.
52. Dobrowolska-Iwanek J., Gaštoł M., Wanat A., Krośniak M., Jancik M., Zagrodzki P. 2014. *Wine of Cool-climate Areas in South Poland*. S. Afr. J. Enol. Vitic. 35, 1–9.
53. Dohadwala M.M., Vita J.A. 2009. *Grapes and cardiovascular disease*. J. Nutr. 139, 1788–1793.
54. Dols-Lafargue M., Gindreau E., le Marrec C., Chambat G., Heyraud A., Lonvaud-Funel A. 2007. *Changes in red wine soluble polysaccharide composition induced by malolactic fermentation*. J. Agric. Food Chem. 55, 9592–9599.
55. Downey M.O., Harvey J.S., Robinson S.P. 2004. *The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes*. Aust. J. Grape Wine Res., 10, 55–73.
56. Downey M., Harvey J., Robinson S. 2003a. *Synthesis of flavonols and expression of flavonol synthase genes in the developing grape berries of Shiraz and Chardonnay (Vitis vinifera L.)*. Austr. J. Grape Wine Res., 9, 110–121.
57. Downey M., Harvey J., Robinson S. 2003b. *Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development*. Austr. J. Grape Wine Res., 9, 15–27.
58. Dreosti I.E. 2000. *Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine*. Nutrition, 16, 692–694.
59. Durak I., Karaca L., Cimen M.B., Kacmaz M., Avci A., Gubat G., Ozturk H.S. 2002. *Dried white grapes enhance blood antioxidant potential*. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 12, 204–205.

60. Echeverry C., Ferreira M., Reyes-Parada M., Abin-Carriquiry J.A, Blasina F., Gonzalez-Nevez G., Dajas F. 2005. *Changes in antioxidant capacity of Tannat red wines during early maturation*. J. Food Eng. 69, 147–154.
61. Ehrhardt C., Panagiotis A., Stefanini M., Flick G., Mattivi F. 2014. *Analysis of the phenolic composition of fungus-resistant grape varieties cultivated in Italy and Germany using UHPLC-MS/MS*. J. Mass Spectr. 49, 860–869.
62. Estruch R., Sacanella E., Badia E., Antunez E., Nicolas J.M., Fernandez-Sola J., Rotilio D., de Gaetano G., Rubin E., Urbano-Marquez A. 2004. *Different effects of red wine and gin consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis: A prospective randomized crossover trial. Effects of wine on inflammatory markers*. Atherosclerosis 175, 117–123.
63. Etievant P., Schilich P. 1988. *Varietal and geographic classification of french red wines interms of pigments and flavanoid compounds*. J. Sci. Food Agric. 42, 39–54.
64. Feng R., Ni H.M., Wang S.Y., Tourkova I.L., Shurin M.R., Harada H., Yin X.M. 2007. *Cyanidin-3-rutinoside, a natural polyphenol antioxidant, selectively kills leukemic cells by induction of oxidative stress*. J. Biol. Chem. 282, 13468–13476.
65. Fernandez-Pachon M.S., Villano D., Garcia-Parrilla M.C., Troncoso A.M. 2004. *Antioxidant activity of wines and relations with thier polyphenolic composition*. Analytica Chimica Acta 513, 113–118.
66. Figueiredo-Gonzales M., Martinez-Carballo E., Cancho-Grande J., Santiago L., Martinez M.C., Simal-Gandara J. 2012. *Pattern recognition of three Vitis vinifera L. red grapes varieties based on anthocyanin and flavonol profiles, with correlations between thier biosynthesis pathways*. Food Chem. 130, 9–19.
67. Flamini R. 2003. *Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part I: Polyphenols*. Mass Spectrometry Reviews. 22, 218–250.
68. Flechtner-Mors M., Biesalski H.K., Jenkinson C.P., Adler G., Ditschuneit H.H. 2004. *Effects of moderate consumption of white wine on weight loss in overweight and obese subjects*. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 28, 1420–1426.
69. Folts J. 1998. *Anti-thrombotic potential of grape juice and red wine for preventing heart attacks*. Pharm. Biol. 36, 21–27.
70. Fournand D., Vicens A., Sidhoum L., Souquet J.-M., Moutounet M., Cheyrier V. 2006. *Accumulation and extractability of grape skin tannins and anthocyanins at different advanced physiological stages*. J. Agric. Food Chem., 54, 7331–7338.
71. Gambuti A., Strollo D., Ugliano M., Lecce L., Moio L. 2004. *trans-Resveratrol, quercetin, (+)-catechin, and (-)-epicatechin content in south italian monovarietal wines: Relationship with maceration time and marc pressing during winemaking*. J. Agric. Food Chem., 52, 5747–5751.
72. Gao L., Weck M.N., Stegmaier C., Rothenbacher D., Brenner H. 2010. *Alcohol consumption, serum gamma-glutamyltransferase, and helicobacter pylori infection in a population-based study among 9733 older adults*. Ann. Epidemiol. 20, 122–128.
73. Garcia-Alonso J., Ros G., Vidal-Guevara M.L., Periago M.J. 2006. *Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects*. Nutr. Res. 26, 330–339.

74. Gawel R., van Sluyter S., Waters E.J. 2007. *The effects of ethanol and glycerol on the body and other sensory characteristics of Riesling wines*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 13, 38–45.
75. Gawlik-Dziki U. 2004. *Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. 41, 29–40.
76. Gąstoł M., Domagała-Świątkiewicz I., Krośniak M. 2012. *Antioxidant Capacity, Polyphenol and Mineral Content of Grapes Grown in Southern Poland*. Acta Hort. 931, 345–348.
77. Goldberg D.M., Dam J., Carey M., Soleas G. 2000. *Cultivar-specific patterns of polyphenolic constituents in wines from Finger Lakes region of New York state*. Journal of Wine Research 11, 155–164.
78. Goldberg D.M., Ng E., Karumanchiri A., Diamandis E.P., Soleas G.J. 1996. *Resveratrol glucosides are important components of commercial wines*. Am. J. Enol. Vitic., 47, 415–420.
79. Goldberg D.M., Yan J., Ng E., Diamandis E.P., Karumanchiri A., Soleas G., Waterhouse A.L. 1995. *A global survey of trans-resveratrol concentrations in commercial wines*. Am. J. Enol. Vitic., 46, 159–165.
80. Gonzalez-San Jose M., Santa Maria G., Diez C. 1990. *Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing region and wine-making methods*. J. Food Comp. Anal., 3, 54–66.
81. Gonzalez-San Jose M., Santa Maria G., Diez C. 1990. *Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing region and wine-making methods*. J. Food Comp. Anal., 3, 54–66.
82. Gresele P., Pignatelli P., Guglielmini G., Carnevale R., Mezzasoma A.M., Ghiselli A., Momi S., Violi F. 2008. *Resveratrol, at concentrations attainable with moderate wine consumption, stimulates human platelet nitric oxide production*. J. Nutr. 138, 1602–1608.
83. Guilford J.M., Pezzuto J.M. 2011. *Wine and health a review*. Am. J. Enol. Vitic. 62, 471–486.
84. Halliwell B. 2007. *Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health?* Cardiovasc. Res. 73, 341–347.
85. Halpern G.M. 2008. *A celebration of wine: Wine IS medicine*. Inflammopharmacology 16, 240–244.
86. Hansen A.S., Marckmann P., Dragsted L.O., Finne Nielsen I.L., Nielsen S.E., Gronbaek M. 2005. *Effect of red wine and red grape extract on blood lipids, haemostatic factors, and other risk factors for cardiovascular disease*. Eur. J. Clin. Nutr. 59, 449–455.
87. He F., He J.-J., Pan Q.-H., Duan C.-Q. 2010. *Mass-spectrometry evidence confirming the presence of pelargonidin-3-O-glucoside in the berry skins of Cabernet Sauvignon and Pinot Noir (Vitis vinifera L.)*. Australian Journal of Grape and Wine Research 16, 464–468.
88. Heinonen M., Lehtonen P.J., Hopia A.I. 1998. *Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors*. J. Agric. Food Chem. 46, 25–31.
89. Hernandez T., Estrella I., Perez-Gordo M., Alegria E.G., Tenorio C., Ruiz-Larrea F., Moreno-Arribas M.V. 2007. *Contribution of malolactic fermentation by Oeno-*

- coccus oeni* and *Lactobacillus plantarum* to the changes in the nonanthocyanin polyphenolic composition of red wine. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5260–5266.
90. Herrick I.W., Nagel C.W. 1985. *The caffeoyl tartrate content of white Riesling wines from California, Washington, and Alsace*. *Am. J. Enol. Vitic.*, 36, 95–97.
 91. Herrmann K. 1989. *Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods*. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 28, 315–347.
 92. Hmamouchi M., Es-Safi N., Lahrichi M., Fruchier A., & Essassi E.M. 1996. *Flavones and flavonols in leaves of some Moroccan Vitis vinifera cultivars*. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 186–192.
 93. Hou C.Y., Lin Y.S., Wang Y.T., Jiang C.M., Lin K.T., Wu M.C. 2008. *Addition of phenolic acids on the reduction of methanol content in wine*. *J Food Sci* 73:C432–7.
 94. Iacopini P., Baldi M., Storchi P., Sebastiani L. 2008. *Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content in vitro antioxidant activity and interactions*. *J. Food Comp. Anal.* 21, 589–598.
 95. Imhof A., Woodward M., Doering A., Helbecque N., Loewel H., Amouyel P., Lowe G.D., Koenig W. 2004. *Overall alcohol intake, beer, wine, and systemic markers of inflammation in western Europe: Results from three MONICA samples (Augsburg, Glasgow, Lille)*. *Eur. Heart J.* 25, 2092–2100.
 96. Iriti M., Faoro F. 2009. *Bioactivity of grape chemicals for human health*. *Nat. Prod. Commun.* 4, 611–634.
 97. Jackson R.S. 1994. *Wine Science. Principles and Applications*. Academic Press, San Diego.
 98. Jeandet P., Bessis R., Sbaghi M., Meunier P., Trollat P. 1995. *Resveratrol content of wines of different ages: Relationship with fungal disease pressure in the vineyard*. *Am. J. Enol. Vitic.* 46, 1–4.
 99. Jeong J.-H., Jung H., Lee S.-R., Lee H.-J., Hwang K.-T., Kim T.Y. 2010. *Antioxidant, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the extracts from black raspberry fruits and wine*. *Food Chem.* 15, 338–344.
 100. Jewell W.T., Ebeler S.E. 2001. *Tyrosine biosensor for the measurement of wine polyphenolics*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 219–222.
 101. Kallithraka S., Tsoutsouras E., Tzourou E., Lanaridis P. 2006. *Principal phenolic compounds in Greek red wines*. *Food Chem.* 99, 784–793.
 102. Kallithraka S.I., Arvanitoyannis P., Kefalas A., El-Zajouli E., Soufleros E., Psarra E. 2001. *Instrumental and sensory analysis of Greek wines; implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin*. *Food Chem.* 73, 501–514.
 103. Kar P., Laight D., Rooprai H.K., Shaw K.M., Cummings M. 2009. *Effects of grape seed extract in Type 2 diabetic subjects at high cardiovascular risk: A double blind randomized placebo controlled trial examining metabolic markers, vascular tone, inflammation, oxidative stress and insulin sensitivity*. *Diabet. Med.* 26, 526–531.
 104. Katalinic V., Mozina S.S., Skroza D., Generalic I., Abramovic H., Milos M., Ljubenkovic I., Piskernik S., Pezo I., Terpinc P., Boban M. 2010. *Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 Vitis vinifera varieties grown in Dalmatia (Croatia)*. *Food Chem.* 119, 715–723.

105. Keevil J.G., Osman H.E., Reed J.D., Folts J.D. 2000. *Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation*. J. Nutr. 130, 53–56.
106. Kelebek H., Canbas A., Jourdes A., Teissedre P.-L. 2010. *Characterization of colored and colorless phenolic compounds in Okuzgozu wines from Denizil and Elazig regions using HPLC-DAD-MS*. Industrial Crop and Products. 31, 499–508.
107. Kennedy J.A. Hayasaka Y., Vidal S., Waters E.J., Jones G.P. 2001. *Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development*. J. Agric. Food Chem., 49, 5348–5355.
108. Kennedy J.A., Matthews M.A., Waterhouse A.L. 2002. *Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids*. Am. J. Enol. Vitic., 53, 268–274.
109. Kikura M., Levy J.H., Safon R.A., Lee M.K., Szlam F. 2004. *The influence of red wine or white wine intake on platelet function and viscoelastic property of blood in volunteers*. Platelets 15, 37–41.
110. Ko S.H., Choi S.W., Ye S.K., Cho B.L., Kim H.S., Chung M.H. 2005. *Comparison of the antioxidant activities of nine different fruits in human plasma*. J. Med. Food. 8, 41–46.
111. Kondratyuk T.P., Pezzuto J.M. 2004. *Natural product polyphenols of relevance to human health*. Pharm Biol. 42, 46–63. 23.
112. Kopp P. 1998. *Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'?* European Journal of Endocrinology 138, 619–620.
113. Krupa J., Dul M. 2009. *Perspektywy rozwoju turystyki winiarskiej w województwie podkarpackim*. W: Gowiński M., Szpyra K. *Przestrzenne, gospodarcze i humanistyczne aspekty turystyki*. Wydawnictwo Konsorcjum Akademickie Kraków-Rzeszów-Zamość.
114. Ky I., Lorrain B., Kolbas N., Crozier A., Teissedre P.-L. 2014. *Wine by-Products: Phenolic characterization and antioxidant activity avaluation of grapes and grape pomaces from six different french grape varieties*. Molecules 19, 482–506.
115. La Torre G.L., Saitta M., Vilasi F., Pellicanò T., Dugo G. 2006. *Direct determination of phenolic compounds in Sicilian wines by liquid chromatography with PDA and MS detection*. Food Chem. 94, 640–650.
116. Lamuela-Raventos R.M., Romero-Perez A.I., Waterhouse A.L., de la Torre-Boronat M.C. 1995. *Direct HPLC analysis of cis- and trans-resveratrol and piceid isomers in Spanish red Vitis vinifera wines*. J. Agric. Food Chem., 43, 281–283.
117. Lao C., Lopez-Tamames E., Lamuela-Raventos R.M., Buxaderas S., Torre-Bonat M.C. 1996. *Effect of grape pectic enzyme treatment on phenolics of white musts and wines*. In J. Vercauteren, C. Cheze, M.C. Dumon, J.F. Weber (Eds.), Polyphenols communications 96/XVII-Ith International Conference on Polyphenols (Vol. 2, pp. 303–304). Bordeaux: Secretariat du Groupe Polyphenols.
118. Lavy A., Fuhrman B., Markel A., Dankner G., Ben-Amotz A., Presser D., Aviram M. 1994. *Effect of dietary supplementation of red or white wine on human blood chemistry, hematology and coagulation: Favorable effect of red wine on plasma high-density lipoprotein*. Ann. Nutr. Metab. 38, 287–294.
119. Lee C.Y., Jaworski A. 1989. *Major phenolic compounds in ripening white grapes*. Am. J. Enol. Vitic., 40, 43–46.

120. Leja M., Kamińska I., Kulczak K. 2011. *Antioxidative properties in grapes of selected cultivars grown in Poland*. Ecol. Chem. Eng. 18, 59–65.
121. Letenneur L. 2004. *Risk of dementia and alcohol and wine consumption: A review of recent results*. Biol. Res. 37, 189–193.
122. Li H., Wang X., Li Y., Li P., Wang H. 2009. *Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines*. Food Chem. 112: 454–460.
123. Liang Z., Owens L.C., Zhong G.-Y., Cheng L. 2011. *Polyphenolic profiles detected in the ripe berries of Vitis vinifera germplasm*. Food Chem. 129, 940–950.
124. Liang Z., Wu B., Fan P., Yang Ch., Duan W., Zheng X., Liu Ch., Li S. 2008. *Anthocyanin composition and content in grape berry skin in Vitis germplasm*. Food Chem. 111, 837–844.
125. Lopes P., Richard T., Saucier C., Teissedre P.-L., Monti J.-P., Glories Y. 2007. *Anthocyanone A: A quinone methide derivative resulting from malvidin 3-O-glucoside degradation*. J. Agric. Food Chem. 55, 2698–2704.
126. Magrone T., Candore G., Caruso C., Jirillo E., Covelli V. 2008. *Polyphenols from red wine modulate immune responsiveness: Biological and clinical significance*. Curr. Pharm. Des. 14, 2733–2748.
127. Majo D., Guardia M.L., Giammanco S., Neve L., Giammanco M. 2008. *The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents*. Food Chem. 111, 45–49.
128. Makris D.P., Kallithraka S., Kefalas P. 2006. *Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters*. J. Food Comp. Anal. 19, 396–404.
129. Mane C., Sommerer N., Yalcin T., Cheynier V., Cole R.B., Fulcrand H. 2007a. *Assessment of the molecular weight distribution of tannin fractions through MALDI-TOF MS analysis of protein-tannin complexes*. Anal. Chem., 79, 2239–2248.
130. Mane C., Souquet J.M., Olle D., Verries C., Veran F., Mazerolles G., Cheynier V., Fulcrand H. 2007b. *Optimization of simultaneous flavanol, phenolic acid, and anthocyanin extraction from grapes using an experimental design: Application to the characterization of champagne grape varieties*. J. Agric. Food Chem., 55, 7224–7233.
131. Mark L., Nikfardjam M.S.P., Avar P., Ohmacht R. 2005. *A validated HPLC method for the quantitative analysis of trans-resveratrol and trans-piceid in Hungarian wines*. J. Chromat. Sci. 43, 445–449.
132. Marx R., Holbach B., Otteneder H. 2000. *Determination of nine characteristic Anthocyanins in wine by HPLC*. F.V. OIV No. 1104.
133. Marxen K., Vanselow K.H., Lippemeier S., Hintze R., Ruser A., Hansen U.-P. 2007. *Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements*. Sensors 7, 2080–2095.
134. Masa A., Vilanova M., Pomar F. 2007. *Varietal differences among the flavonoid profile of white grape cultivars studied by high performance liquid chromatography*. J. Chromatogr. A 1164, 291–297.
135. Mateus N., Proencua S., Ribeiro P., Machado J.M., de Freitas V.A.P. 2001. *Grape and wine polyphenolic composition of red Vitis Vinifera varieties concerning vineyard altitude*. Cienc. Tecnol. Aliment. 3, 102–110.

136. Matsumoto H., Nakamura Y., Tachibanaki S., Kawamura S., Hirayama M. 2003. *Stimulatory effect of cyanidin 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin*. J. Agric. Food Chem. 51, 3560–3563.
137. Mattivi F., Guzzon R., Verhovsek U., Stefanini M., Velasco R. 2006. *Metabolite Profiling of Grape: Flavonols and Anthocyanins*. J. Agric. Food Chem. 54, 7692–7702.
138. Mazauric J.P., Salmon J.M. 2006. *Interactions between yeast lees and wine polyphenols during simulation of wine aging: I. Analysis of desorbed polyphenol compounds from yeast lees*. J. Agric. Food Chem. 54, 3876–3881.
139. Mazza G., Francis F.J. 1995. *Anthocyanins in grapes and grape products*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 35, 341–371.
140. 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*. J. Agric. Food Chem. 47, 4009–4017.
141. Mazza G., Miniati E. 1993. *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*, CRC Press, pp. 149–199.
142. Mazza G.L., Fukumoto P., Delaquis B., Girard B. 1999. *Anthocyanins, phenolics, and color of cabernet franc, merlot, and pinot noir wines from British Columbia*. J. Agric. Food Chem. 47, 4009–4017.
143. Mazzuca P., Ferranti P., Picariello G., Chianese L., Addeo F. 2005. *Mass spectrometry in the study of anthocyanins and their derivatives: Differentiation of Vitis vinifera and hybrid grapes by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry*. Journal of Mass Spectrometry. 40, 83–90.
144. Medina K., Boido E., Dellacassa E., Carrau F. 2005. *Yeast interaction with anthocyanins during red wine fermentation*. Am. J. Enol. Vitic. 56, 104–109.
145. Minussi R.C., Rossi M., Bologna L., Cordi L., Rotilio D., Pastore M.G., Durán N. 2003. *Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines*. Food Chem. 82, 409–416.
146. Monagas M., Bartolomé B., Gómez-Cordovés C. 2005a. *Evolution of polyphenols in red wines from Vitis vinifera L. during aging in the bottle*. Eur. Food Res. Technol. 220, 331–340.
147. Monagas M., Bartolomé B., Gómez-Cordovés C. 2005b. *Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine*. Cr. Rev. Food Sci. Nutr., 45, 85–118.
148. Monagas M., Gómez-Cordovés C., Bartolomé B., Laureano O., Silva, J.M.R.D. 2003. *Monomeric, oligomeric, and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from Vitis vinifera L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon*. J. Agric. Food Chem., 51, 6475–6481.
149. Monagas M., Gómez-Cordovés C., Bartolomé B. 2007. *Evaluation of different Saccharomyces cerevisiae strains for red winemaking. Influence on the anthocyanin, pyranoanthocyanin and non-anthocyanin phenolic content and colour characteristics of wines*. Food Chem. 104, 814–823.
150. Montealegre R.R., Peces R.R., Vozmediano C.L., Gascuena M.J., Romero G.E. 2006. *Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape Vitis vinifera grown in warm climate*. J. Food Compos. Anal. 19, 687–693.

151. Muñoz N.C., González M.F., Alonso S.G., Romero E.G., Gutiérrez I.H. 2009. *Red-color related phenolic composition of Garnacha Tintorera (Vitis vinifera L.) grapes and red wines*. J. Agric. Food Chem. 57, 7883–7891.
152. Myśliwiec R. 2009. *Uprawa winorośli*. Kraków, Plantpress.
153. Nagel C.W., Wulf L.W. 1979. *Changes in the anthocyanins, flavonoids and hydroxycinnamic acid esters during fermentation and aging of merlot and cabernet sauvignon*. Am. J. Enol. Vitic., 30, 111–116.
154. Naugler C., McCallum J.L., Klassen G., Strommer J. 2007. *Concentrations of trans-resveratrol and related stilbenes in Nova Scotia wines*. Am. J. Enol. Vitic., 58, 117–119.
155. Nieuwoudt H.H., Prior B.A., Pretorius I.S., Bauer F.F. 2002. *Glycerol in South African table wines: An assessment of its relationship to wine quality*. South African Journal of Enology and Viticulture, 23, 22–30.
156. Ninfali P., Bacchioccaa M., Biagiottia E., Servilib M., Montedorob G. 2002. *Validation of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Parameter as a New Index of Quality and Stability of Virgin Olive Oil*. J. Am. Oil Chem. Soc. 79, 977–982.
157. Njajou O.T., Kanaya A.M., Holvoet P., Connelly S., Strotmeyer E.S., Harris T.B., Cummings S.R., Hsueh W.C. 2009. *Association between oxidized LDL, obesity and type 2 diabetes in a population-based cohort, the Health, Aging and Body Composition Study*. Diabet. Metab. Res. Rev. 25, 733–739.
158. Nunez V., Monagas M., Gómez-Cordovés C., Bartolome B. 2004. *Vitis vinifera L. cv. Graciano grapes characterized by its anthocyanin profile*. Postharvest Biol. Technol. 31, 69–79.
159. Nurgel C., Pickering G. 2005. *Contribution of glycerol, ethanol and sugar to the perception of viscosity and density elicited by model white wines*. Journal of Texture Studies 36, 303–325.
160. Ojeda H., Andary C., Kraeva E., Carbonneau A., Deloire A. 2002. *Influence of pre- and post-veraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of Vitis vinifera cv. Shiraz*. Am. J. Enol. Vitic., 53, 261–267.
161. Okamura S., Watanabe M. 1981. *Determination of phenolic cinnamates in white wine and their effect on wine quality*. Agric. Biol. Chem., 45, 2063–2070.
162. Oleszek W. 1993. *Allelopathic potential of alfalfa (Medicago sativa L.) saponins: their relations to antifungal and hemolytic activities*. J. Chem. Ecology. 19, 1061–1072.
163. Ong B.Y., Nagel C.W. 1978. *High-Pressure Liquid-Chromatographic analysis of hydroxycinnamic acid – tartaric acid esters and their glucose esters in Vitis vinifera*. J. Chromatogr., 157, 345–355.
164. Orban N., Kiss A., Dravucz M., Gal L., Orban S. 2006. *Comparative study on selected polyphenol content in red wines of Eger (Hungary)*. Acta Aliment. 35(4): 465–477.
165. OrtegaMeder M.D., Rivas Gonzalo J.C., Vicente J.L., Santos Buelga C. 1994. *Differentiation of grapes according to the skin anthocyanin composition*. RECTA 34, 409–426.

166. Ososki A.L., Kennelly E.J. 2003. *Phytoestrogens: a Review of the Present State of Research*. *Phytother. Res.* 17, 845–869.
167. Paixao N., Perestrelo R., Marques J.C., Camara J.S. 2007. *Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines*. *Food Chem.* 105, 207–214.
168. Park Y.K., Lee S.H., Park E., Kim J.S., Kang M.H. 2009. *Changes in antioxidant status, blood pressure, and lymphocyte DNA damage from grape juice supplementation*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1171, 385–390.
169. Pellegrini N., Simonetti P., Gardana C., Brenna O., Brighenti F., Pietta P. 2000. *Polyphenol content and total antioxidant activity of Vini Novelli (young red wines)*. *J. Agric. Food Chem* 48, 732–735.
170. Pena-Neira A., Hernandez T., Garcia-Vallejo C., Estrella I., Suarez J.A. 2000. *A Survey of phenolic compounds in Spanish wines of different geographical origin*. *Eur. Food Res. Technol.*, 210, 445–448.
171. Pereira G. E., Gaudillere J.-P., Pieri P., Hilbert G., Maucourt M., Deborde C., Moing A., Rolin D. 2006. *Microclimate influence on mineral and metabolic profiles of grape berries*. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 6765–6775.
172. Perrone G., Nicoletti I., Pascale M., de Rossi A., de Girolamo A., Visconti A. 2007. *Positive correlation between high levels of ochratoxin A and resveratrol-related compounds in red wines*. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 6807–6812.
173. Perrone G., Nicoletti I., Pascale M., de Rossi A., de Girolamo A., Visconti A. 2007. *Positive correlation between high levels of ochratoxin A and resveratrol-related compounds in red wines*. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 6807–6812.
174. Peters R., Peters J., Warner J., Beckett N., Bulpitt C. 2008. *Alcohol, dementia and cognitive decline in the elderly: A systematic review*. *Age Ageing* 37, 505–512.
175. Pezzuto J.M. 2008. *Grapes and human health: A perspective*. *J. Agric. Food Chem.* 56, 6777–6784.
176. Potter G.A., Patterson L.H., Wanogho E., Perry P.J., Butler P.C., Ijaz T., Ruparelia K.C., Lamb J.H., Farmer P.B., Stanley L.A., Burke M.D. 2002. *The cancer preventative agent resveratrol is converted to the anticancer agent piceatannol by the cytochrome P450 enzyme CYP1B1*. *British Journal of Cancer* 86, 774–778.
177. Poussier M., Guilloux-Benatier M., Torres M., Heras E., Adrian M. 2003. *Influence of different maceration techniques and microbial enzymatic activities on wine stilbene content*. *Am. J. Enol. Vitic.*, 54, 261–266.
178. Pozo-Bayon M.A., Hernandez M.T., Martin-Alvarez P.J., Polo M.C. 2003. *Study of low molecular weight phenolic compounds during the aging of sparkling wines manufactured with red and white grape varieties*. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2089–2095.
179. Preuss H.G., Wallerstedt D., Talpur N., Tutuncuoglu S.O., Echard B., Myers A., Bui M., Bagchi D. 2000. *Effects of niacin-bound chromium and grape seed proanthocyanidin extract on the lipid profile of hypercholesterolemic subjects: A pilot study*. *J. Med.* 31, 227–246.
180. Price S.F., Breen P.J., Valladao M. 2005. *Cluster sun exposure and quercetin in pinot noir grapes and wine*. *Am J Enol Vitic.* 46, 187–94.

181. Pussa T., Floren J., Kuldepp P., Raal A. 2006. *Survey of grapevine Vitis vinifera stem polyphenols by Liquid Chromatography-Diode Array Detection-Tandem Mass Spectrometry*. J. Agric. Food Chem. 54, 7488–7494.
182. Radovanović A., Radovanović B., Jovančičević B. 2009. *Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines*. Food Chemistry, 117, 326–331.
183. Rankine B., Bridson D. 1971. *Glycerol in Australian wines and factors influencing its formation*. American Journal of Enology and Viticulture, 23, 6–12.
184. Rastija V., Srecnik G., Medic-Šaric M. 2009. *Polyphenolic composition of Croatian wines with different geographical origins*. Food Chem. 115, 54–60.
185. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. Free Radical & Biology and Medicine, 26(9/10), 1231–1237.
186. Recamales Á.F., Hernanz D., Álvarez C., González-Miret M.L., Heredia F.J. 2007. *Colour of Amontillado wines aged in two oak barrels types*. Eur. Food Res. Technol. 224, 321–327.
187. Recamales Á.F., Sayago A., González-Miret M.L., Hernanz D. 2006. *The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine*. Food Res. Int. 39, 220–229.
188. Revilla I., Gonzalez-SanJose M.L. 1998. *Methanol release during fermentation of red grapes treated with pectolytic enzymes*. Food Chem., 80, 205–214.
189. Revilla I., Gonzalez-SanJose M.L. 2001. *Evolution during the storage of red wines treated with pectolytic enzymes: New anthocyanin pigment formation*. J. Wine Res. 12, 183–197.
190. Rhodes P.L., Mitchell J.W., Wilson M.W., Melton L.D. 2006. *Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from Vitis vinifera variety Ribier*. Int. J. Food Microbiol. 107, 281–286.
191. Ribeiro de Lima M.T., Waffo-Teguo P., Teissedre P.L., Pujolas A., Vercauteren J., Cabanis J.C., Merillon J.M. 1999. *Determination of stilbenes (trans-astringin, cis- and trans-piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines*. J. Agric. Food Chem., 47, 2666–2670.
192. Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P. and Ribereau-Gayon P. 1982. *Sciences et Techniques du Vin, Vol. I: Analyse et Contrôle du Vin*, 2nd edn. Dunod, Paris.
193. Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdiou D. 2000. *Handbook of Enology. Vol. 2. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. England: John Wiley and Sons, Inc.
194. Ricardo da Silva J.M., Cheynier V., Samsom A., Bourzeix M. 1993. *Effect of pomace contact, carbonic maceration, and hyperoxidation on the procyanidin composition of Grenache Blanc wines*. Am. J. Enol. Vitic., 44, 168–172.
195. Rivero-Perez M.D., Muniz P., Gonzales-SanJose M.L. 2007. *Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity and biomarkers of oxidative stress methodologies*. J. Agric. Food Chem. 55, 5476–5483.
196. Roggero J.P., Coen S., Ragonet B. 1986b. *High performance liquid chromatography survey on changes in pigment content in ripening grapes of Syrah. An approach to anthocyanin metabolism*. Am. J. Enol. Vitic. 37, 77–83.

197. Roggero J.P., Larice J.L., Rocheville-Divore C., Archier P., Coen S., 1988. *Composition anthocyanique des cépages. II. Essai de classification sur trois ans par analyse en composantes principales et par analyse factorielle discriminante*. Rev. Française d'Oenologie 112, 41–48.
198. Romero-Perez A.I., Lamuela-Raventos R.M., Waterhouse A.L., de la Torre-Boronat M.C. 1996. *Levels of cis- and trans-resveratrol and their glucosides in white and rose Vitis vinifera wines from Spain*. J. Agric. Food Chem., 44, 2124–2128.
199. Ruf J.C. 2004. *Alcohol, wine and platelet function*. Biol. Res. 37, 209–215.
200. Sánchez-Moreno C., Larrauri J.A, Saura-Calixto F. 1999. *Free radical scavenging capacity of selected red rosé and white wines*. J. Sci. Food Agric. 79, 1301–1304.
201. Santos-Buelga C., Scalbert A. 2000. *Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health*. J Sci Food Agric. 80, 1094–1117.
202. Sato M., Suzuki Y., Okuda T., Yokotsuka K. 1997. *Contents of resveratrol, piceid, and their isomers in commercially available wines made from grapes cultivated in Japan*. Biosci. Biotechnol. Biochem., 61, 1800–1805.
203. Schoonen J.W., Sales M.G.F. 2002. *Determination of polyphenols in wines by reaction with 4-aminoantipyrine and photometric flow-injection analysis*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 372, 822–828.
204. Seidman M., Babu S., Tang W., Naem E., Quirk W.S. 2003. *Effects of resveratrol on acoustic trauma*. Otolaryngol Head Neck Surg. 129, 463–70.
205. Serafini M., Peluso I., Raguzzini A. 2010. *Flavonoids as anti-inflammatory agents*. Proc. Nutr. Soc., 69, 273–278.
206. Shahidi F., Naczk M. 2005. *Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications*, 1 edition. Techn Publ Co Inc, Lancaster.
207. Shellie K.C. 2007. *Viticultural performance of red and white wine grape cultivars in Southwestern Idaho*. Hort. Technology 17, 595–603.
208. Simonetti P., Pietta P., Testolin G. 1997. *Polyphenol content and total antioxidant potential of selected Italian wines*. J. Agric. Food Chem. 45, 1152–1155.
209. Singleton V.L., Draper D. 1964. *The transfer of polyphenolic compounds from grape seeds into wines*. Am. J. Enol. Vitic., 15, 34–40.
210. Singleton V.L., Zaya J., Trousdale E.K. 1986. *Caftaric and coutaric acids in fruit of Vitis*. Phytochemistry, 25, 2127–2133.
211. Socha R., Galkowska D., Robak J., Fortuna T., Buksa K. 2015. *Characterization of polish wines produced from multispecies hybrid and Vitis vinifera L. grapes*. Int. J. Food Prop. 18, 699–713.
212. Socha R., Juszczak L., Pietrzyk S., Fortuna T. 2009. *Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys*. Food Chem. 113, 568–574.
213. Soleas J.G., Grassc L., Josephyd P.D., Goldberg D.M., Diamandis E.P. 2002. *A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols*. Clinical Biochemistry 35, 119–124.
214. Somers T., Verette E., Pocock K. 1987. *Hydroxycinnamate esters of Vitis vinifera: Changes during white vinification, and effects of exogenous enzymic hydrolysis*. J. Sci. Food Agric. 40, 67–78.

215. Sosica A., Cappellini M., Sinigaglia L., Jacquet R., Deffieux D., Fabris D., Quideau S., Gatto B. 2015. *Polyphenolic C-glucosidic ellagitannins present in oak-aged wine inhibit HIV-1 nucleocapsid protein*. Tetrahedron 71, 3020–3026.
216. Souquet J.-M., Labarbe B., Le Guerneve C., Cheynier V., Moutounet M. 2000. *Phenolic composition of grape stems*. J. Agric. Food Chem., 48, 1076–1080.
217. Souquet J.-M., Veran F., Mane C., Cheynier V. 2006. *Optimization of extraction conditions on phenolic yields from the different parts of grape clusters – Quantitative distribution of their proanthocyanidins*. XXIII International Conference on Polyphenols. Winnipeg, Manitoba, Canada.
218. Spencer J.P., Abd El Mohsen M.M., Minihaie A.M. 2008. *Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research*. Br. J Nutr. 99, 12–22.
219. Spranger M.I., Climaco M.C., Sun B., Eiriz N., Fortunato C., Nunes A., Leandro M.C., Avelar M.L., Belchior A.P. 2004. *Differentiation of red winemaking technologies by phenolic and volatile composition*. Anal. Chim. Acta 513, 151–161.
220. Stecher G., Huck C.W., Popp M., Bonn G.K. 2001. *Determination of flavonoids and stilbenes in red wine and related biological products by HPLC and HPLC-ESI-MS-MS*. Fresenius J. Anal. Chem., 371, 73–80.
221. Stevanato R., Fabris S., Momo F. 2004. *New enzymatic method for the determination of total phenolic content in tea and wine*. J. Agric. Food Chem. 52, 6287–6293.
222. Stratil P., Kuban V., Fojtova J. 2008. *Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods*. Czech J. Food Sci. 26, 242–253.
223. Sun B.I., Spranger F., Rogue-do-Vale C., Leandro P.B. 2001. *Effect of different wine making technologies on phenolic composition in Tinta Miuda Red Wines*. J. Agric. Food Chem. 49, 5809–5816.
224. Tarko T., Duda-Chodan A., Sroka P., Satora P., Jurasz E. 2008. *Physicochemical and antioxidant properties of selected polish grape and fruit wines*. Acta Alimentaria Polonica-Technology Alimentaria, 7, 34–45.
225. Teissedre P., Landrault N. 2000. *Wine phenolics: Contribution to dietary intake and bioavailability*. Food Research International 33, 461–467.
226. Thimothe J., Bonsi I.A., Padilla-Zakour O.I. 2007. *Chemical characterization of red wine grape (Vitis vinifera and Vitis Interspecific Hybrids) and pomace phenolic extracts and their biological activity against Streptococcus mutans*. J. Agric. Food Chem. 55, 10200–10207.
227. Tian R.-R., Pan Q.-H., Zhan J.-C., Li J.-M., Wan S.-B., Zhang Q.-H, Huang W.D. 2009. *Comparison of phenolic acids and flavan-3-ols during wine fermentation of grapes with different harvest Times*. Molecules 14, 827–838.
228. Tomas-Barberan F.A., Clifford M.N. 2000. *Flavanones, chalcones and dihydrochalcones – nature, occurrence and dietary burden*. J Sci Food Agric. 80, 1073–1080.
229. Troszyńska A., Honke J., Kozłowska H. 2000. *Naturalne substancje nieodżywcze (NSN) pochodzenia roślinnego jako składniki żywności funkcjonalnej*. Postępy Fitoterapii, 2, 17–22.

230. Trousdale E., Singleton V.L. 1983. *Astilbin and engeletin in grapes and wines*. *Phytochemistry*. 22, 619–620.
231. Tsanova-Savova S., Ribarova F. 2002. *Free and conjugated myricetin, quercetin, and kaempferol in Bulgarian red wines*. *J. Food Comp. Anal.* 15, 639–645.
232. Ursini F., Sevanian A. 2002. *Wine polyphenols and optimal nutrition*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 957, 200–209.
233. van Golde P.H., Sloots L.M., Vermeulen W.P., Wielders J.P., Hart H.C., Bouma B.N., van de Wiel A. 1999. *The role of alcohol in the anti low density lipoprotein oxidation activity of red wine*. *Atherosclerosis* 147, 365–370.
234. Vanhoenacker G., de Villiers A., Lazou K., de Keukeleire D., Sandra P. 2001. *Comparison of High-Performance Liquid Chromatography – Mass Spectroscopy and Capillary Electrophoresis – Mass Spectroscopy for the analysis of phenolic compounds in diethyl ether extracts of red wines*. *Chromatographia*, 54, 309–315.
235. Vidal S., Meudec E., Cheynier V., Skouroumounis G., Hayasaka Y. 2004. *Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins*. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7144–7151.
236. Vidal S., Williams P., Doco T., Moutounet M., Pellerin P. 2003. *The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterization*. *Carbohydr. Polym.*, 54, 439–447.
237. Vigna G.B., 2003. *Effect of a standardized grape seed extract on low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in heavy smokers*. *Metabolism* 52, 1250–1257.
238. Vinas P., Lopez-Erroz C., Marin-Hernandez J.J., Hernandez-Cordoba, M., 2000. *Determination of phenols in wines by liquid chromatography with photodiode array and fluorescence detection*. *J. Chrom. A* 871, 85–93.
239. Vivas N.G., Nonier M.-F., Guerra C., Vivas N. 2001. *Anthocyanin in grape skins during maturation of Vitis vinifera L. cv. Cabernet Sauvignon and Merlot Noir from different Bordeaux terroirs*. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 35, 149–156.
240. Vlase L., Kiss B., Leucuta S.E., Gocan S. 2009. *A rapid method for determination of resveratrol in wines by HPLC-MS*. *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.* 32, 2105–2121.
241. Wang H., Race E.J., Shrikhade A.J. 2003. *Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography mass spectrometry*. *J. Agric. Food Chem.* 51, 1839–1844.
242. Wang Z., Huang Y., Zou J., Cao K., Xu Y., Wu J.M. 2002. *Effects of red wine and wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro*. *Int. J. Mol. Med.* 9, 77–79.
243. Willershausen B., Callaway A., Azrak B., Kloß Ch., Schulz-Dobrick B. 2009. *Prolonged in vitro exposure to white wines enhances the erosive damage on human permanent teeth compared with red wines*. *Nutr. Res.* 8, 558–567.
244. Wojtyła A., Biliński P., Bojar I. 2011. *Zachowania zdrowotne nastolatków w Polsce w opinii młodzieży i ich rodziców*. *Probl. Hig. Epidemiol.* 92, 327–334.
245. Wrolstad R.E., Durst R.W., Lee J. 2005. *Tracking color and pigment changes in anthocyanin products*. *Trends Food Sci. Tech.* 16, 423–428.
246. Xu Ch., Zhang Y., Cao L., Lu J. 2010. *Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China*. *Food Chem.* 119, 1557–1565.

247. Yang J., Martinson T.E., Liu R.H. 2009. *Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes*. Food Chem. 116, 332–339.
248. Yokotstuka K. 1990. *Effect of press design and pressing pressures on grape juice components*. J. Ferment. Bioeng., 70, 15–21.
249. Young J.F., Dragsted L.O, Daneshvar B., Lauridsen S.T., Hansen M., Sandstrom B. 2000. *The effect of grape-skin extract on oxidative status*. Br. J. Nutr. 84, 505–513.
250. Zhu L., Zhang Y., Deng J., Li H., Lu J. 2012. *Phenolic concentration and antioxidant properties of wines made from North American grapes grown in China*. Molecules. 17, 3304–3323.
251. Zhu L., Zhang Y., Lu J. 2012. *Phenolic contents and composition in skins of red wine grape cultivars among various genetic backgrounds and originations*. Int. J. Mol. Sci. 13, 3492–3510.

Spis tabel i rysunków

Tabela 1. Lista odmian winorośli o czerwonych owocach oraz miejsca ich zbioru	28
Tabela 2. Lista odmian winorośli o białych owocach oraz miejsca ich zbioru	29
Tabela 3. Rodzaje czerwonych win objętych badaniami	30
Tabela 4. Rodzaje białych win objętych badaniami	30
Tabela 5. Parametry krzywych kalibracyjnych substancji wzorcowych dla polifenoli	32
Tabela 6. Parametry krzywych kalibracyjnych dla substancji wzorcowych użytych do oznaczenia parametrów enologicznych	34
Tabela 7. Antocyjany zidentyfikowane metodą UPLC-PDA-MS/MS w winogronach o czerwonych owocach	37
Tabela 8. Flawonole zidentyfikowane w owocach winogron metodą UPLC-PDA-ESI-MS/MS	45
Tabela 9. Flawan-3-ole zidentyfikowane w owocach winogron metodą UPLC-PDA-ESI-MS/MS	46
Tabela 10. Fenolokwasy zidentyfikowane w owocach winogron metodą UPLC-PDA-ESI-MS/MS	47
Tabela 11. Parametry metody MRM dla stilbenów	49
Tabela 12. Średnia zawartość antocyjanów w skórce odmian o czerwonych owocach w mg/kg śm.	52
Tabela 13. Średnia zawartość antocyjanów w miąższu odmian o czerwonych owocach w mg/kg śm.	54
Tabela 14. Średnia zawartość flawonoli w skórce odmian o białych owocach mg/kg śm.	59
Tabela 15. Średnia zawartość flawonoli w miąższu odmian o białych owocach mg/kg śm.	60
Tabela 16. Średnia zawartość flawonoli w skórce odmian o czerwonych owocach mg/kg śm.	63
Tabela 17. Średnia zawartość flawonoli w miąższu odmian o czerwonych owocach mg/kg śm. ...	64
Tabela 18. Średnia zawartość flawan-3-oli w odmianach o czerwonych owocach mg/kg śm. ..	71
Tabela 19. Średnia zawartość flawan-3-oli w odmianach o białych owocach mg/kg śm.	72
Tabela 20. Średnia zawartość fenolokwasów w odmianach o czerwonych owocach mg/kg śm. ...	80
Tabela 21. Średnia zawartość fenolokwasów w odmianach o białych owocach mg/kg śm.	83
Tabela 22. Średnia zawartość stilbenów w odmianach o czerwonych owocach mg/kg śm.	86
Tabela 23. Średnia zawartość stilbenów w odmianach o białych owocach mg/kg śm.	89
Tabela 24. Całkowita zawartość związków polifenolowych w odmianach o czerwonych owocach mg/kg śm.	91
Tabela 25. Całkowita zawartość związków polifenolowych w odmianach o białych owocach mg/kg śm.	94
Tabela 26. Średnia zawartość antocyjanów w winach czerwonych z rocznika 2013 mg/L	97
Tabela 27. Średnia zawartość antocyjanów w winach czerwonych z rocznika 2014 mg/L	98
Tabela 28. Średnia zawartość flawonoli w winach czerwonych z rocznika 2013 mg/L	105

Tabela 29. Średnia zawartość flawonoli w winach czerwonych z rocznika 2014 mg/L	106
Tabela 30. Średnia zawartość flawonoli w winach białych z rocznika 2013 mg/L	107
Tabela 31. Średnia zawartość flawonoli w winach białych z rocznika 2014 mg/L	108
Tabela 32. Średnia zawartość flawan-3-oli w winach czerwonych mg/L	114
Tabela 33. Średnia zawartość flawan-3-oli w winach białych mg/L	115
Tabela 34. Średnia zawartość fenolokwasów w winach czerwonych mg/L	121
Tabela 35. Średnia zawartość fenolokwasów w winach białych mg/L	122
Tabela 36. Średnia zawartość stilbenów w winach czerwonych mg/L	127
Tabela 37. Średnia zawartość stilbenów w winach białych mg/L	128
Tabela 38. Całkowita zawartość związków polifenolowych w winach czerwonych mg/L	133
Tabela 39. Całkowita zawartość związków polifenolowych w winach białych mg/L	134
Tabela 40. Ładunki czynnikowe zmiennych dla win czerwonych	137
Tabela 41. Wartości korelacji pomiędzy poszczególnymi klasami związków polifenolowych w winie czerwonym	137
Tabela 42. Porównanie zawartości polifenoli w winach z innych rejonów świata	138
Tabela 43. Czasy retencji zidentyfikowanych pików	139
Tabela 44. Parametry enologiczne czerwonych win z rocznika 2013	141
Tabela 45. Parametry enologiczne czerwonych win z rocznika 2014	142
Tabela 46. Parametry enologiczne białych win z rocznika 2013	143
Tabela 47. Parametry enologiczne białych win z rocznika 2014	144
Tabela 48. Parametry enologiczne białych win kupażowanych	145
Tabela 49. Parametry barwy dla win czerwonych	150
Tabela 50. Korelacje pomiędzy składowymi barwy oraz poszczególnymi grupami związków polifenolowych w winach czerwonych	150
Tabela 51. Parametry barwy dla win białych	151
Tabela 52. Korelacje pomiędzy składowymi barwy oraz poszczególnymi grupami związków polifenolowych w winach białych	151
Tabela 53. Aktywność przeciwutleniająca owoców czerwonych odmian winogron	154
Tabela 54. Aktywność przeciwutleniająca owoców białych odmian winogron	155
Tabela 55. Współczynniki korelacji pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą w owocach czerwonych	155
Tabela 56. Współczynniki korelacji pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą w owocach białych winogron	156
Tabela 57. Aktywność przeciwutleniająca czerwonych win	157
Tabela 58. Aktywność przeciwutleniająca białych win	157
Tabela 59. Współczynniki korelacji pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą w czerwonych winach	158
Tabela 60. Współczynniki korelacji pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą w białych winach	158

Rysunek 1. Struktura flawonoidów (Marais i in. 2006)	22
Rysunek 2. Widmo ESI-MS sumy antocyjanów uzyskane w wyniku bezpośredniego nastrzyku ..	36
Rysunek 3. Chromatogram UPLC antocyjanów, A – obraz z detektora PDA ($\lambda = 520$ nm), B – obraz z detektora MS	37
Rysunek 4. Struktura chemiczna zidentyfikowanych antocyjanów	41
Rysunek 5. Przykładowy mechanizm reakcji fragmentacji dla 3-O-(6''-O-kumarolilo)- glukozyd-5-O-glukozyd malwidyny	42
Rysunek 6. Struktura chemiczna zidentyfikowanych flawonoli	45
Rysunek 7. Struktura chemiczna zidentyfikowanych flawan-3-oli	46
Rysunek 8. Struktura chemiczna zidentyfikowanych fenolokwasów	48
Rysunek 9. Struktura chemiczna zidentyfikowanych stilbenów	49
Rysunek 10. Tranzycje MRM w metodzie oznaczania resweratrolu	50
Rysunek 11. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla an- tocyjanów w odmianach o czerwonych owocach	57
Rysunek 12. Analiza głównych składowych, wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych	57
Rysunek 13. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla flawonoli w odmianach o czerwonych owocach	68
Rysunek 14. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla flawonoli w odmianach o białych owocach	69
Rysunek 15. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla flawan- 3-oli w odmianach o czerwonych owocach	77
Rysunek 16. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla flawan- 3-oli w odmianach o białych owocach	78
Rysunek 17. Analiza głównych składowych, wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych w białych winogronach	78
Rysunek 18. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla fenolo- kwasów w odmianach o białych owocach	84
Rysunek 19. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla fenolo- kwasów w odmianach o czerwonych owocach	84
Rysunek 20. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla stil- benów w odmianach o czerwonych owocach	87
Rysunek 21. Dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza metody skupień dla stil- benów w odmianach o białych owocach	88
Rysunek 22. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla antocyjanów w czerwonym winie, B – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych	101
Rysunek 23. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla flawonoli w białym winie, B – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla flawonoli w czerwonym winie, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków ...	110
Rysunek 24. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla flawan-3-oli w białym winie, B – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla flawan-3-oli w czerwonym winie, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków	118

Rysunek 25. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla fenolokwasów w białym winie, B – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla fenolokwasów w czerwonym winie, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków	125
Rysunek 26. A – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla stilbenów w białym winie, B – dendrogram wyznaczony metodą Warda – analiza skupień dla stilbenów w czerwonym winie, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków	130
Rysunek 27. A – wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych w winach czerwonych, B – wykres współrzędnych czynnikowych dla zmiennych w winach białych, C – wykres współrzędnych czynnikowych dla przypadków w winach czerwonych	136
Rysunek 28. Chromatogram HPLC-RI: A – mieszaniny wzorców, B – przykładowego wina	139

List of tabels and figures

Table 1. The list of red grape varieties and harvest's places	28
Table 2. The list of white grape varieties and harvest's places	29
Table 3. Analyzed red wines	30
Table 4. Analyzed white wine	30
Table 5. Calibration curves used for determination of polyphenolic compounds	32
Table 6. Calibration curves used for determination of oenological parameters	34
Table 7. Anthocyanins observed by positive-ion UPLC-PDA-MS/MS	37
Table 8. Flavonols observed by negative-ion UPLC-PDA-ESI-MS/MS	45
Table 9. Flavan-3-ols observed by negative-ion UPLC-PDA-ESI-MS/MS	46
Table 10. Phenolic acid observed by negative-ion UPLC-PDA-ESI-MS/MS	47
Table 11. Parameters of MRM methods for stilbenes	49
Table 12. Mean value of anthocyanins in skin of red grapes in mg/kg fresh weight	52
Table 13. Mean value of anthocyanins in pulp of red grapes in mg/kg of fresh weight	54
Table 14. Mean value of flavonols in skin of white grapes in mg/kg of fresh weight	59
Table 15. Mean value of flavonols in pulp of white grapes in mg/kg of fresh weight	60
Table 16. Mean value of flavonols in skin of red grapes in mg/kg of fresh weight	63
Table 17. Mean value of flavonols in pulp of red grapes in mg/kg of fresh weight	64
Table 18. Mean value of flavan-3-ols red grapes in mg/kg of fresh weight	71
Table 19. Mean value of flavan-3-ols in white grapes in mg/kg of fresh weight	72
Table 20. Mean value of phenolic acids in red grapes in mg/kg of fresh weight	80
Table 21. Mean value of phenolic acids in white grapes in mg/kg of fresh weight	83
Table 22. Mean value of stilbenes in red grapes in mg/kg of fresh weight	86
Table 23. Mean value of stilbenes in white grapes in mg/kg of fresh weight	89
Table 24. Total phenolic content in red grapes in mg/kg of fresh weight	91
Table 25. Total phenolic content in white grapes in mg/kg of fresh weight	94
Table 26. Mean value of antocyanins in red wine from 2013 in mg/L	97
Table 27. Mean value of anthocyanins in red wine from 2014 in mg/L	98
Table 28. Mean value of flavonols in red wines from 2013 in mg/L	105
Table 29. Mean value of flavonols in red wines from 2014 in mg/L	106
Table 30. Mean value of flavonols in white wines from 2013 in mg/L	107
Table 31. Mean value of flavonols in white wines from 2014 in mg/L	108
Table 32. Mean value of flavan-3-ols in red wines in mg/L	114
Table 33. Mean value of flavan-3-ols in white wines in mg/L	115
Table 34. Mean value of phenolic acids in red wines in mg/L	121
Table 35. Mean value of phenolic acids in white wines in mg/L	122
Table 36. Mean value of stilbenes in red wines in mg/L	127
Table 37. Mean value of stilbenes in white wines in mg/L	128

Table 38. Total phenolic content in red wines in mg/L	133
Table 39. Total phenolic content in white wines in mg/L	134
Table 40. Factor loadings variables for red wines	137
Table 41. Correlation coefficient between the different polyphenolic groups in red wines	137
Table 42. Comparison of polyphenolics content in wines from different location	138
Table 43. Retention time of identified peaks	139
Table 44. Oenological parameters of red wines from 2013	141
Table 45. Oenological parameters of red wines from 2014	142
Table 46. Oenological parameters of white quality wine from 2013	143
Table 47. Oenological parameters of white quality wine from 2014	144
Table 48. Oenological parameters of white cuvee	145
Table 49. Value of CIELab units of red wines	150
Table 50. Correlation coefficient between CIELab units and different polyphenolic groups of red wines	150
Table 51. Value of CIELab units of white wines	151
Table 52. Correlation coefficient between CIELab units and different polyphenolic groups of white wines	151
Table 53. Antioxidant activity of red grapes	154
Table 54. Antioxidant activity of white grapes	155
Table 55. Correlation coefficient between different polyphenolic groups and antioxidant activity of red grapes	155
Table 56. Correlation coefficient between different polyphenolic groups and antioxidant activity of white grapes	156
Table 57. Antioxidant activity of red wines	157
Table 58. Antioxidant activity of white wines	157
Table 59. Correlation coefficient between different polyphenolic groups and antioxidant activity of red wines	158
Table 60. Correlation coefficient between different polyphenolic groups and antioxidant activity of white wines	158
Figure 1. Structure of flavonoids (Marais et al. 2006)	22
Figure 2. Direct injection ESI-MS of the mixture of anthocyanins	36
Figure 3. The UPLC chromatogram of anthocyanins, A – obtained by PDA ($\lambda = 520$ nm), B – obtained by positive-ion LC-ESI/MS	37
Figure 4. Structure of identified anthocyanins	41
Figure 5. Fragmentation patterns of 3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -kumarolilo)-glucoside-5- <i>O</i> -glucoside malvidine	42
Figure 6. Structure of identified flavonols	45
Figure 7. Structure of identified flavan-3-ols	46
Figure 8. Structure of identified phenolic acids	48
Figure 9. Structure of identified stilbenes	49
Figure 10. MRM tranzitions of resveratrol	50
Figure 11. Hierarchical cluster analysis applied to anthocyanins of red grapes	57
Figure 12. Principal component analysis with distribution of analyzed varieties of red grapes ..	57

Figure 13. Hierarchical cluster analysis applied to flavonols of red grapes	68
Figure 14. Hierarchical cluster analysis applied to flavonols of white grapes	69
Figure 15. Hierarchical cluster analysis applied to flavonan-3-ols of red grapes	77
Figure 16. Hierarchical cluster analysis applied to flavonan-3-ols of white grapes	78
Figure 17. Principal component analysis with distribution of analyzed varieties of white grapes	78
Figure 18. Hierarchical cluster analysis applied to phenolic acids of white grapes	84
Figure 19. Hierarchical cluster analysis applied to phenolic acids of red grapes	84
Figure 20. Hierarchical cluster analysis applied to stilbenes of red grapes	87
Figure 21. Hierarchical cluster analysis applied to stilbenes of white grapes	88
Figure 22. A – hierarchical cluster analysis applied to anthocyanins of red wines, B – scatter plot for the main sources of variations among anthocyanins in red wine, C – projection of variables on the factor plane (1x2)	101
Figure 23. A – hierarchical cluster analysis applied to flavonols of white wines, B – hierarchical cluster analysis applied to flavonols of red wines, C – scatter plot for the main sources of variations among flavonols in wines	110
Figure 24. A – hierarchical cluster analysis applied to flavan-3-ols of white wines, B – hierarchical cluster analysis applied to flavonan-3-ols of red wines, C – scatter plot for the main sources of variations among flavan-3-ols in wines	118
Figure 25. A – hierarchical cluster analysis applied to phenolic acids of white wines, B – hierarchical cluster analysis applied to phenolic acids of red wines, C – scatter plot for the main sources of variations among flavonols in wines	125
Figure 26. A – hierarchical cluster analysis applied to stilbenes of white wines, B – hierarchical cluster analysis applied to stilbenes of red wines, C – scatter plot for the main sources of variations among stilbenes in wines	130
Figure 27. A – hierarchical cluster analysis applied to phenolics of red wines, B – hierarchical cluster analysis applied to phenolics of white wines, C – scatter plot for the main sources of variations among flavonols in wines	136
Figure 28. HPLC-RI chromatogram: A – standards mixture, B – wine	139

Summary

The physicochemicals properties of grapes and wines produced in the southeastern Poland

The beginnings of viticulture in Poland is timed to coincide with the beginnings of Christianity, and Benedictine and Cistercian monks are regarded as the pioneers of winemaking. Archaeological studies confirm that grapevine (*Vitis vinifera* L.) was grown in Cracow already in the 9th century due to belonging the southern Polish lands to Christian Great Moravia. Grapevines were cultivated on monastery farms and produced wine was used mainly for liturgical purposes. The significant development of vineyards in Poland occurred in the 14th century. The majority of vineyards were owned by town notables and planted around cities along The Vistula River. Many vineyards were created in Silesia, Wielkopolska Region also Lviv became an important center of wine. In the 16th century, when beer and vodka became more popular, wine production started to decrease. Moreover, at a certain point in time, cheap imports of wines from countries where wine making was easier, most notably Hungary, was one of the reasons why the production of wine in the Old Poland started to die slowly. Then, the long wars of the 17th century destroyed Polish vineyards. In the 18th century, people started to experiment again with wine production. The economic crisis after 1863 forced land owners to focus on other types of productions. Strong winters at that time destroyed again the attempts of winemakers. In recent years there has been increased interest in grapevines and winemaking in Poland, mainly as a result of the emergence of new grapevine varieties composed of hybrid varieties better suited to hard climate. Therefore we can observe a strong renewal of winemaking in Poland over the past decades. Nowadays in Poland are located around 2000 vineyards with a total cultivated area more than 200 ha. The increased exposure to European culture, growth of consumer knowledge about health properties of wine, the search for new sources of income in Polish agricultural and the warming of the Polish climate are also responsible for this phenomenon. On 20 December 2005 the European Union decided to classify Poland in wine-growing region A (the coldest), similar to Germany, Austria and the Czech Republic. Many factors influence the conditions and possibilities of grapevine cultivation in a particular place, namely climate, soil properties and the topography of the area, all of which determine the local meso- and microclimate. These factors are known as the vineyard habitat (cf. Fr. *terroir*). Apart from natural factors, the character of the vineyard is also influenced by appropriate infrastructure (e.g. terrace construction, wind protection, melioration, etc.) and the type of soil treatment. One of the main elements of Polish winemaking development is the correct choice of grapevine varieties for wine production. In Poland there are grown nowadays many different varieties of grapevines: eastern, American and those originat-

ing from EU countries. Wines prepared for sale can be produced from grapevines classified in the list prepared by each country. In Poland there are now 70 varieties of grapevine classified for wine production. There is no comprehensive studies covering a wide range of research material such as variety, grape varieties recommended for cultivation in Poland and the types of wine from them produced and most importantly, there is a lack of qualitative research and quantitative chemical composition. Thus, the aim of the research was to characterize selected grapes and wines produced in the cool climate of Poland. Special attention was paid to polyphenolic compounds content, oenological parameters of obtained wines and their antioxidant activity.

Key words: Grapes, wines, polyphenolic compounds, antioxidant activity

