

Irena Bąk-Sypień, Anna Lisiecka, Iga Zgoła, Bolesław Karwowski

AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA ORAZ JAKOŚĆ WYTRAWNYCH WIN CZERWONYCH POZYSKIWANYCH ZE SZCZEPU *CABERNET SAUVIGNON*

Zakład i Katedra Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego,
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: dr hab. B. Karwowski

Zbadano wybrane parametry jakości, zawartość związków polifenolowych oraz potencjał przeciwutleniający win czerwonych, wytrawnych otrzymanych ze szczepu winorośli Cabernet sauvignon. Pomiarów wykonano metodami spektrofotometrycznymi oraz zalecanymi do analizy wyrobów winiarskich. W zależności od regionu pochodzenia wina odznaczały się zbliżonym potencjałem wymiatania rodnika DPPH, zawartością polifenoli ogółem i flawonoidów ogółem, ale różniły zawartością antocyjanów i tanin.

Hasła kluczowe: wino czerwone, właściwości przeciwutleniające, związki fenolowe, parametry jakości

Key words: red wine, antioxidant activities, polyphenolic compounds, quality parameters

Substancje biologicznie aktywne zawarte w winogronach i ich produktach otrzymanych w procesie fermentacji alkoholowej, zaczęły interesować badaczy ze względu na rolę jaką pełnią w zapobieganiu chorobom związanych ze stresem oksydacyjnym (1). Reaktywne formy tlenu uwalniane w stresie oksydacyjnym są przyczyną starzenia się komórek oraz zachorowalności na choroby układu sercowo-naczyniowego, autoimmunologiczne, nowotworowe (2). Związki polifenolowe: flawonoidowe i nie-flawonoidowe, obecne w winie odpowiedzialne są za korzyści zdrowotne podczas umiarkowanego spożycia tego napoju. Ilość polifenoli różni się znacznie w zależności od odmiany winogron, warunków klimatycznych i środowiskowych, regionu hodowli winorośli oraz technologii wytwarzania, dojrzewania i starzenia się wina. Dlatego też każdy jego rodzaj odznacza się inną aktywnością biologiczną, składem chemicznym, a także jakością sensoryczną i handlową (3). Biorąc pod uwagę dwa aspekty – jakość oraz korzyści dla zdrowia oznaczono zawartość ogólną polifenoli, flawonoidów, antocyjanów oraz aktywność przeciwutleniającą czerwonych win wytrawnych pozyskanych ze szczepu *Cabernet sauvignon*. Otrzymane dane porównano z oznaczonymi parametrami jakości. Wina pozyskiwane z tego szczepu odznaczają się dużą zawartością tanin i kwasów, ostrym smakiem, a także wyróżniają się trwałością i zdolnością do długiego leżakowania (4). Szczep *Cabernet sauvignon* to najbardziej znana, szeroko uprawiana, klasyczna odmiana czerwonych winogron na świecie.

MATERIAŁ I METODY

Badano siedem wytrawnych, czerwonych win gronowych pozyskanych ze szczepu winorośli *Cabernet sauvignon*, pochodzących z różnych rejonów winiarskich świata (WW-1 i WW-2 Chile, WW-3 i WW-4 Francja, WW-5 Australia, WW-6 USA, WW-7 Bułgaria (tab. I). Wszystkie wina reprezentowały rocznik 2013 i zakupione zostały na terenie Łodzi. Cena win mieściła się w przedziale 10 – 30 zł. Próbkę przechowywano w temperaturze pokojowej w oryginalnych butelkach do momentu wykonania analiz. Każdą z analiz przeprowadzono trzykrotnie, wyniki przedstawiono jako średnią pomiaru \pm odchylenie standardowe (SD). Użyte odczynniki odznaczały się czystością analityczną. Metody oparte na pomiarze absorbancji w zakresie długości fali UV-VIS wykonano za pomocą dwuwiązkowego spektrofotometru Varian – Cary 100.

Oznaczono:

- pH oraz kwasowość ogólną badanych win za pomocą pH-metru Mettler Toledo. Pomiar kwasowości ogólnej wyrażono jako ekwiwalent masy kwasu winowego w dm^3 (g TA/ dm^3) (5-7);
- zawartość związanego SO_2 za pomocą metody zalecanej w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 12 maja 2003 r. (6). Wyniki wyrażono w mg/dm^3 .
- intensywność (CI) oraz odcień koloru (T) wina, mierząc absorbancję próbek win przy długościach fali: 420, 520, 700 nm, otrzymane wartości podstawiono do odpowiednich równań empirycznych (5);
- zawartość tanin w winach, odczytaną w mg ekwiwalentu katechiny w litrze ($\text{mg CA}/\text{dm}^3$) z krzywej standardowej (8);
- ogólną zawartość kwasów fenolowych za pomocą spektrofotometrycznej metody Folina – Ciocalteau (9) i wyrażono w mg ekwiwalentu kwasu galusowego w litrze ($\text{mg GA}/\text{dm}^3$) na podstawie krzywej standardowej;
- całkowitą zawartość flawonoidów, zmodyfikowaną metodą *Jia i wsp.* (10) i wyrażono w mg ekwiwalentu katechiny w litrze ($\text{mg CA}/\text{dm}^3$);
- całkowitą zawartość antocyjanów, metodą spektrofotometryczną po zmieszaniu win z buforami o pH 1 i 4,5 (11). Uzyskaną absorbancję podstawiono do wzoru empirycznego i obliczono stężenie antocyjanów w mg/dm^3 ;
- aktywność przeciwutleniającą, w obecności rodnika DPPH. Właściwości przeciwutleniające obliczono jako procent inhibicji i wyrażono wartością %I (12);
- zawartość boru spektrofotometrycznie z wykorzystaniem azometyny H a jego zawartość obliczono w przeliczeniu na kwas borowy ($\text{mg BA}/\text{dm}^3$) stosując krzywą standardową dla tego kwasu (13).

Wartości średnich i odchyłeń standardowych oraz równania regresji dla krzywych standardowych wyliczono w programie Microsoft Office Excel 2013, natomiast analizę statystyczną przeprowadzono w programie Statistica 12 firmy StatSoft (Tulsa, USA) przyjmując przedział istotności na poziomie 95%.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Fenole obecne w winie, zwane polifenolami, są pochodnymi kwasu benzoowego i cynamonowego. Fenole są odpowiedzialne za cierpkość, gorycz oraz

równowagę kolorystyczną a ich ilość jest ważnym aspektem jakości i właściwości prozdrowotnych win czerwonych. Wyniki zawartości tych bioaktywnych związków oraz właściwości przeciwutleniające w przebadanych winach przedstawiono w tab. I.

Największym stężeniem związków fenolowych ogółem odznaczały się wina francuskie CWW-3 i CWW-4 (odpowiednio $1139,43 \pm 11,27$ mg GA/dm³ i $1094,43 \pm 41,28$ mg GA/dm³) oraz chilijskie CWW-1 ($1080 \pm 25,32$ mg GA/dm³), prawie czterokrotnie mniejszym wino bułgarskie CWW-7 ($331,35 \pm 7,32$ mg GA/dm³). Najwyższą zawartość flawonoidów ogółem stwierdzono również w próbkach CWW-1, CWW-3, CWW-4 ($664,91 \pm 0,08$ mg CA/dm³, $581,58 \pm 0,11$ mg CA/dm³, $576,62 \pm 0,81$ mg CA/dm³). Wino chilijskie CWW-1 posiadało najwięcej flawonoidów. Podobną zależność zaobserwowano podczas oznaczania antocyjanów. Najwyższą zawartość antocyjanów stwierdzono w winie chilijskim CWW-1 ($11,87 \pm 0,96$ mg CA/dm³) oraz francuskim CWW-4 ($8,27 \pm 0,77$ mg CA/dm³) a także w winie kalifornijskim ($10,30 \pm 0,39$ mg CA/dm³). Zależność pomiędzy zawartością antocyjanów a intensywnością barwy zaobserwowano jedynie dla win francuskich i chilijskich. Zdecydowanie największą zawartością tanin odznaczały się wina francuskie, podobnie jak w przypadku polifenoli ($523,30 \pm 4,90$ mg CA/dm³ dla CWW-3 i $469,85 \pm 11,61$ mg CA/dm³ dla CWW-4). Wszystkie otrzymane doświadczalnie wyniki były porównywalne z danymi dostępnymi w literaturze dla win otrzymanych ze szczepu winorośli *Cabernet sauvignon* (5, 14, 15).

Wino jest jednym z najbardziej kwaśnych napojów alkoholowych o wartości pH w zakresie 2,8 do 3,8. Na kwasowość wina wpływ mają pH, kwasowość ogólna i lotna oraz zawartość poszczególnych kwasów w winie. Kwasy zawarte w winie są ważnym komponentem i w dużej mierze wpływają na jego jakość. pH badanych win mieściło się w zakresie 3,3÷3,4 z wyjątkiem wina CWW-7 ($2,96 \pm 0,15$). Kwasowość ogólna, jako suma wszystkich kwasów zawartych w winie poza kwasem węglowym i siarkowym, powinna mieścić się w granicach od 4,0 do 8,0 g/dm³ w przeliczeniu na kwas winowy. Wszystkie badane wina mieściły się w podanym zakresie (6, 7). Ponieważ wino przed badaniami zostało napowietrzone, oznaczono jedynie zawartość siarczynów związanych. Otrzymane dane miały wartości mniejsze niż 30 mg/dm³ i były zgodne z dozwolonymi. Wino CWW-4, pochodzące z uprawy ekologicznej, a odznaczające się wysoką zdolnością wymiatania rodnika DPPH zawierało najmniej siarczynów ($13,6 \pm 1,13$ mg/dm³).

Analiza aktywności antyoksydacyjnej badanych win wobec rodników DPPH wykazała, że wyniki mieściły się w granicach od $78,04 \pm 5,91\%$ do $29,56 \pm 1,00\%$, przy czym, podobnie jak przy zawartości polifenoli najniższą aktywnością przeciwutleniającą odznaczało się wino CWW-7. Aktywność przeciwutleniającą przekraczającą 65% wykazywały wszystkie wina francuskie i chilijskie (tab. I).

Ze względu na wyniki wielu badań dotyczących korzystnego wpływu boru na przemianę materii oraz metabolizm makroelementów wykonano pomiar zawartości tego pierwiastka w badanych winach (16). Zalecane, dzienne spożycie boru, wg różnych źródeł, wynosi 0,3 – 20 mg. Winogrona, jak również wina uważa się za jedno z ważnych źródeł tego pierwiastka w diecie człowieka (13, 17, 18). Zawartość boru w badanych winach mieściła się w granicach od $0,59$ mg/dm³ do $3,84$ mg/dm³ (tab. I).

Tabela 1. Procent wymiatań DPPH, zawartość polifenoli (mg GA/dm³), flawonoidów (mg CA/dm³), flawonoidów (mg GA/dm³), antocyjanów (mg/dm³), tanin (mg CA/dm³) boru (mg BA/dm³), oraz wybranych parametrów jakości analizowanych win szerepu *Cabernet sauvignon*: CWW-1 (Panul, Chile), CWW-2 (Porta, Chile), CWW-3 (Brise de France, Francja), CWW-4 (Domaine Saint Paul, Francja), CWW-5 (Lindeman's, Australia), CWW-6 (Carlo Rossi, USA), CWW-7 (Sophia, Bulgaria)

Table 1. The antioxidant activities as the percentage of DPPH inhibition, the content of polyphenols (mg GA/dm³), flavonoids (mg CA/dm³), antocyanins (mg/dm³), tanins (mg CA/dm³), boron (mg BA/dm³) and selected quality parameters content in win obtain from *Cabernet sauvignon* strain

Wino	Kraj	Wykonane oznaczenia										
		DPPH (%)	Polifenole całkowite (mg/dm ³)	Flawonoidy (mg/dm ³)	Antocyjany (mg/dm ³)	Kwas winowy (mg/dm ³)	Taniny (mg/dm ³)	Zawartość boru (mg/dm ³)	T	Cl	SO ₂ związane (mg/dm ³)	pH
CWW-1	Chile	78,04±1,91	1080,13±25,32	664,91±8,28	11,87±0,96	5,88±0,04	402,51±0,32	3,36±0,09	0,74	9,13	24,8±1,13	3,37±0,04
CWW-2	Chile	68,85±1,84	960,06±49,00	543,74±8,73	7,51±1,44	5,58±0,04	310,38±5,18	3,11±0,09	0,78	7,52	23,2±1,13	3,31±0,02
CWW-3	Francja	76,00±1,07	1139,43±11,27	581,58±1,08	6,44±0,13	5,53±0,04	523,30±4,90	1,73±0,07	0,86	6,75	17,6±2,26	3,34±0,00
CWW-4	Francja	76,06±1,59	1094,43±41,28	581,13±14,46	8,27±0,77	5,30±0,04	469,85±11,61	2,62±0,06	0,81	7,73	13,6±1,13	3,39±0,06
CWW-5	Australia	59,37±0,57	888,94±19,23	544,64±2,36	4,68±0,20	5,98±0,04	299,72±7,43	3,84±0,08	0,90	6,34	26,4±0	3,34±0,17
CWW-6	USA	63,29±1,24	874,13±34,91	448,24±2,74	10,30±0,39	5,88±0,04	287,11±12,93	3,60±0,27	0,86	4,71	28,0±0	3,39±0,06
CWW-7	Bulgaria	29,56±0,99	331,35±7,32	392,39±3,63	1,00±0,12	5,57±0,04	173,00±0,32	0,59±0,01	0,94	3,82	5,6±1,13	2,96±0,15

Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała zgodną z oczekiwaniami, silną korelację pomiędzy właściwościami przeciwutleniającymi win, a zawartością polifenoli ($r=0,99$, $p<0,05$), antocyjanów ($r=0,80$, $p<0,05$), flawonoidów ($r=0,86$, $p<0,05$) oraz tanin ($r=0,86$, $p<0,05$).

WNIOSKI

1. Eliminując różnicowanie win pod względem rodzaju szczepu i wieku stwierdzono, że zawartość polifenoli i flawonoidów ogółem, antocyjanów oraz tanin była związana z krajem pochodzenia badanego trunku.
2. Wykazano silną korelację między właściwościami przeciwutleniającymi i zawartością polifenoli, flawonoidów, antocyjanów i tanin w winach. Wyjątek stanowiło popularne wino bułgarskie (CWW-7), które zawierało znacząco mniej substancji prozdrowotnych, niż najlepsze przebadane wina francuskie i chilijskie.
3. Pod względem parametrów jakościowych badane wina mieściły się w zakresie norm.
4. Biorąc pod uwagę zawartość boru, można stwierdzić, że przebadane wina mogą być źródłem tego pierwiastka w diecie.

I. Bąk-Sypień, A. Lisiecka, I. Zgoła, B. Karwowski

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND QUALITY OF SELECTED RED DRY WINES OBTAINED FROM THE *CABERNET SAUVIGNON* STRAIN

Summary

Wines are rich in phenolic compounds which have attracted attention due to their important role in potential beneficial health effects. The objective of this study was to evaluate the total phenolic content, selected quality components and antioxidant activity of wines produced from the *Cabernet sauvignon* strain in different countries. The analyzed wines demonstrated significant composition of the total polyphenols, total flavonoids and antioxidant capacity with the DPPH test. Nevertheless, the content of anthocyanins and tanins differed according to the region.

PIŚMIENNICTWO

1. *Renaud S, de Lorgeril M.*: Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*. 1992; 339(8808): 1523–1526. — 2. *Bub A, Watzl B, Blockhaus M et al*: Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status, and DNA damage. *J. Nutr. Biochem*. 2003; 14(2): 90–98. — 3. *Bautista-Ortín A. B. et al.*: The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *J. Food Compos. Anal.* 2007; 20(7): 546–552. — 4. <http://www.wine-searcher.com>, data otwarcia: 20.04.2015. — 5. *Cliff, M. A., King, M. C., Schlosser, J.*: Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. *Food Res. Int.* 2007; 40(1): 92–100. — 6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 12 maja 2003r. w sprawie metod analiz wyrobów winiarskich do celów urzędowej kontroli pod względem jakości handlowej. — 7. PN-A-79120-07:1990. — 8. *Jensen J. S., Werge H. H. M., Egebo M., Meyer A. S.*: Effect of Wine Dilution on the Reliability of Tannin Analysis by Protein Precipitation. *Am. J. Enol. Viticult.* 2008; 59(1): 103–105. — 9. *Singleton V. L., Rossi J. A.*: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 1965; 16(3): 144–158. — 10. *Jia Z., Tang M., Wu J.*: The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 1999; 64(4): 555–559.

11. Granato D., Katayama F. C. U., Alves de Castro I.: Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. *Food Chem.* 2011; 129(2): 366–373. — 12. Carmona-Jiménez Y., M. García-Moreno V., Igartuburu J. M., Barroso C. G.: Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chem.* 2014; 165: 198–204. — 13. Saygideğer Demir B., Serindağ O.: Determination of Boron in Grape (*Vitis vinifera*) by Azomethine H Spectrophotometric Method. *Eurasian J. Anal. Chem.* 2006; 1(1): 11–18. — 14. Chira K., Pacella N., Jourdes M., Teissedre P.-L.: Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chem.* 2011; 126(4): 1971–1977. — 15. Lopez-Velez M., Martinez-Martinez F., Del Valle-Ribes C.: The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. *Cri. Rev. Food Nutr.* 2003; 43: 233–244. — 16. Meacham S., Karakas S., Wallace A. Altun F.: Boron in human health: Evidence for dietary recommendation and public policies. *Open Miner Process J* 2010; 3: 36–53. — 17. Coetzee P. P., Vanhaecke F.: Classifying wine according to geographical origin via quadrupole-based ICP–mass spectrometry measurements of boron isotope ratios. *Anal. Bioanal. Chem.* 2005; 383: 977–984. — 18. de Jesus D. P., Saito R. M., do Lago C. L.: Determination of boron in natural water and products from grape using automated flow injection analysis system with piezoelectric detection. *J. Braz. Chem. Soc.* 2004; 15: 5: 714–718.

Adres: 90–151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1