

# The effect of grape harvest date on polyphenols and anthocyanins content of different red grapes varieties

## Utjecaj roka berbe na sadržaj polifenola i antocijana u grožđu crnih sorata vinove loze

Marko KAROGLAN<sup>1\*</sup>, Mirela OSREČAK<sup>1</sup>, Ivana TOMAZ<sup>1</sup> and Juraj SLADIĆ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

<sup>2</sup> Student, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

\*correspondence: [mkaroglan@agr.hr](mailto:mkaroglan@agr.hr)

### Abstract

Four red grape cultivars were investigated in order to study the effect of grape harvesting date (ripening stage of the grape) on traditional indicators of maturity such as soluble solids and titratable acidity content, as well as on their total polyphenols and total anthocyanins content. Grape varieties grown in different coastal vinegrowing regions, at three different harvesting dates, and from two consecutive vintages, were examined. The results showed uncertainty of traditional indicators of maturity as the only parameter for harvest date determination, since the maximum concentration of soluble solids didn't correlate with maximum concentration of total polyphenols and anthocyanins in the most of harvest dates. Furthermore, grapes from the third harvest date mostly didn't have consistently higher polyphenols and anthocyanins levels, so the harvest should not be postponed unduly.

**Keywords:** anthocyanins, harvest date, polyphenols, red grapes

### Sažetak

S ciljem istraživanja utjecaja roka berbe, postavljen je pokus na četiri crne sorte vinove loze u čijem je grožđu popraćen sadržaj tradicionalnih pokazatelja kakvoće grožđa, kao što su šećer i ukupna kiselost, ali i sadržaj ukupnih polifenola i antocijana. Istraživane su sorte iz različitih vinogorja primorske Hrvatske, u tri različita roka berbe, uzimajući u obzir dvije proizvodne godine u nizu. Rezultati su ukazali na nepouzdanost tradicionalnih načina određivanja zrelosti grožđa, kao isključivih pokazatelja za određivanje roka berbe. Obzirom da dodatnim tijednom dozrijevanja u

većini slučajeva nije došlo do dalnjeg porasta ukupnih polifenola i antocijana u grožđu, početak berbe ne bi trebalo bezrazložno odgađati.

**Ključne riječi:** antocijani, crne sorte vinove loze, polifenoli, rok berbe

### Detailed abstract

Four red grape cultivars were investigated in order to study the effect of grape harvesting date (ripening stage of the grape) on traditional indicators of maturity such as soluble solids and total acidity content, as well as on their total polyphenols and total anthocyanins content. Grapes from Merlot, Plavina, Lasina and Dobričić varieties, grown in different coastal vinegrowing regions, at three different harvesting dates, and from two consecutive vintages, were examined. Merlot is one of the most widespread varieties in the world. Plavina is native variety highly represented in Dalmatian vineyards. At Pirovac-Skradin vinegrowing region Plavina is usually assembled with Lasina, another native cultivar widespread in northern Dalmatia. Finally, Dobričić is an old native variety, also known as one of the parents of Plavac mali. The second harvest date was usual for variety in a given region, and based on soluble solids and total acidity content. The grapes of this harvest date were marked as ME-II, PL-II, LA-II and DO-II. The first harvest date was one week earlier (ME-I, PL-I, LA-I, DO-I), while the third harvest date was one week after the second (ME-III, PL-III, LA-III and DO-III). Grapes samples (2 kg) were collected randomly in three repetitions from several vines and from different parts of randomly chosen clusters. Total polyphenols were measured by reaction with Folin-Ciocalteu reagent, and were expressed as gallic acid equivalents ( $\text{GAE}^*\text{mg}^*\text{L}^{-1}$ ). Total anthocyanins were quantified by spectrophotometer and were expressed as  $\text{mg}^*\text{L}^{-1}$  of malvidin-3-glucoside ( $\text{MAE}^*\text{mg}^*\text{L}^{-1}$ ). Soluble solids content and titratable acidity were measured in the must obtained after pressing of grapes and determined using the OIV methods (2001). The statistical analysis of the data was carried out by analysis of the variance (ANOVA) and the Fisher's LSD test ( $p \leq 0,05$ ) to show measurements which can be considered statistically different. All statistical analysis were carried out using the SAS 9.0 statistical package (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.), procedure CANDISC. The results showed uncertainty of traditional indicators of maturity as the only parameter for harvest date determination, since the maximum concentration of soluble solids didn't correlate with maximum concentration of total polyphenols and anthocyanins in the most of harvest dates. Furthermore, grapes from the third harvest date mostly didn't have consistently higher polyphenols and anthocyanins levels, so the harvest should not be postponed unduly.

### Uvod

Dozrijevanje grožđa podrazumijeva velik broj fizioloških i biokemijskih procesa koji se intenziviraju od trenutka šare grožđa, a završavaju s punom zrelošću bobice, te su u konačnici i odgovorni za postignutu kakvoću grožđa (González-San José i sur., 1991). Promjene koje nastupaju tijekom perioda dozrijevanja ne odvijaju se

istovremeno, niti jednakim intenzitetom. Svaki kemijski spoj ima vlastitu „krivulju dozrijevanja“ na koju dodatno mogu utjecati različiti čimbenici kao što su genetske karakteristike kultivara, klimatske prilike, te agrotehnički i ampelotehnički zahvati koji se provode u vinogradu (Esteban i sur., 2001; Pérez-Magariño i González-San José, 2006). Klimatske prilike su izvan naše kontrole i mijenjaju se iz godine u godinu, što rezultira grožđem različitog kvalitativnog sastava. Stoga je i vino kao konačni proizvod pod značajnim utjecajem proizvodne godine (Morris, 1998). Iz svega navedenog jasno je da proces dozrijevanja uvelike određuje i kakvoću grožđa, a rok berbe je vrlo važan čimbenik u proizvodnji vina visoke kakvoće (Coombe i Dry, 1992).

Općenito, razlikujemo nekoliko stupnjeva zrelosti grožđa koji se vrlo često vremenski ne podudaraju. To su fiziološka zrelost (sjemenka je spremna za klijanje), puna zrelost (maksimalan prinos i koncentracija šećera u zadanim proizvodnim uvjetima) i tehnološka zrelost (optimalna kakvoća grožđa obzirom na njegovu konačnu namjenu) (Robredo i sur., 1991).

Za određivanje roka berbe tradicionalno se uzima u obzir sadržaj i odnos šećera i ukupnih kiselina u grožđu. Drugim riječima, donedavno se za određivanje roka berbe u obzir uzimala gotovo isključivo puna zrelost grožđa.

Ipak, za proizvodnju visoko kvalitetnih vina proizvođači sve više uzimaju u obzir i druge spojeve koji se tijekom perioda dozrijevanja nakupljaju u grožđu. Stoga u novije vrijeme sadržaj šećera i ukupnih kiselina nisu jedini parametri koji se koriste za određivanje optimalnog roka berbe, već se sve više vodi računa o odgovarajućoj razini drugih važnih spojeva u grožđu, kao što su polifenoli i arome. U posljednjem desetljeću klasični pokazatelji zrelosti grožđa se napuštaju, a novi poput „fenolne zrelosti“, odnosno sadržaja različitih polifenolnih spojeva u grožđu, dobivaju na značaju. Razlog tome ponajviše leži u uvjerenju da samo grožđe sa visokim i uravnoteženim sadržajem polifenola može dati crna vina visoke kakvoće, sposobna za dulje odležavanje (González-San José i sur., 1991).

Polifenolni spojevi iz grožđa odgovorni su za boju, aromu, tijelo i strukturu crnih vina. Tijekom dozrijevanja grožđa sadržaj polifenolnih spojeva kreće se bitno drugačije od sadržaja šećera, čak do te mjere da se maksimum koncentracije polifenola u normalnim okolnostima rijetko podudara sa maksimalnom koncentracijom šećera (Maujean i sur., 1983). Općenito, tijekom dozrijevanja sadržaj polifenolnih spojeva u grožđu raste, ali postoje razlike unutar pojedinih grupa polifenolnih spojeva. Proces nakupljanja polifenolnih spojeva pod utjecajem je različitih čimbenika kao što su sorta, klimatski parametri i tlo (Reynolds i sur., 1986).

Konačno, cilj ovog istraživanja bio je proučiti utjecaj roka berbe (odnosno stupnja zrelosti grožđa) na sadržaj tradicionalnih pokazatelja kakvoće grožđa kao što su šećer i ukupne kiseline, ali i na sadržaj ukupnih polifenola i antocijana u grožđu. Samim time bit će utvrđene i razlike u intenzitetu i dinamici nakupljanja šećera i polifenola u grožđu. Istraživanje ima i svoj praktični značaj, jer će rezultati omogućiti objektivnije određivanje optimalne tehnološke zrelosti, odnosno idealnog trenutka za berbu crnog grožđa. Predmet istraživanja bilo je grožđe četiriju kultivara (Merlot, Plavina, Lasina, Dobričić), iz tri vinogorja i iz različitih proizvodnih godina, pobrano u tri različita roka berbe.

## Materijali i metode

Za istraživanje su odabrane četiri sorte grožđa: Merlot, Plavina, Lasina i Dobričić. Uzorci grožđa za analizu potječu iz različitih vinogorja Primorske Hrvatske i iz različitih proizvodnih godina.

U 2009. i 2010. godini analizirano je grožđe Plavine i Lasine iz vinogorja Pirovac-Skradin i grožđe Dobričića iz vinogorja Šolta. Tijekom 2012. i 2013. godine praćeno je dozrijevanje grožđa Merlota i Plavine iz vinogorja Vrgorac.

Merlot je jedan od najrasprostranjenijih crnih kultivara u svijetu i uzgaja se u gotovo svim svjetskim vinogradarskim regijama. Preporučena je sorta u svim podregijama Primorske Hrvatske. Plavina je autohtona sorta grožđa vrlo česta u vinogradima Dalmacije, a ujedno i među deset najzastupljenijih sorata u Hrvatskoj. U vinogorju Pirovac-Skradin vrlo često je nalazimo u mješovitim nasadima zajedno s Lasinom, još jednom autohtonom sortom vrlo rasprostranjenom u podregiji Sjeverna Dalmacija.

Dobričić je stara, autohtona sorta grožđa, poznata i kao jedan od roditelja Plavca malog.

U obzir su uzeta tri različita roka berbe. Drugi rok berbe je bio uobičajeni za sortu u datom agroekološkom području, odabran na temelju odluke proizvođača, a koja se temeljila na sadržaju šećera i ukupnih kiselina, dakle tehnološki rok berbe. Grožđe ovog roka berba označeno je kao ME-II, PL-II, LA-II i DO-II. Prvi rok berbe obavljen je tjedan dana ranije (ME-I, PL-I, LA-I, DO-I), a treći rok berbe tjedan dana kasnije (ME-III, PL-III, LA-III, DO-III).

Reprezentativni uzorci bobica (oko 2 kg) sakupljeni su nasumično u tri repeticije sa više različitih trsova i s različitih dijelova većeg broja nasumično odabralih grozdova.

Stotinu bobica izdvojeno je za određivanje težine i odnosa čvrstog i tekućeg dijela, koji je izračunat nakon ručnog muljanja i prešanja, te vaganja i mjerjenja volumena čvrstog ostatka (kožice i sjemenki). Polifenoli i antocijani ekstrahirani su pomoću alkoholne otopine ( $\text{etanol}^*\text{H}_2\text{O}^{-1} = 50:50 \text{ v}^*\text{v}^{-1}$ ). Ukupni polifenoli određeni su spektrofotometrijski po metodi Singleton i Rossi (1965) pomoću Folin-Ciocalteau reagensa i izraženi kao ekvivalent galne kiseline ( $\text{GAE}^*\text{mg}^*\text{L}^{-1}$ ). Ukupni antocijani su određeni spektrofotometrijski metodom izbjeljivanja natrijevim bisulfitom, te korištenjem malvidin-3-O-glukozida kao standarda. Rezultati su izraženi u ekvivalentima malvidin-3-O-glukozida ( $\text{MAE}^*\text{mg}^*\text{L}^{-1}$ ).

Od preostale količine grožđa određen je sadržaj šećera i ukupnih kiselina, korištenjem O.I.V. metoda (2001).

Analiza varijance (ANOVA) provedena je na originalnim vrijednostima, tj. bez standardizacije kako bi bile vidljive razlike između različitih godina istraživanja. Za usporedbu srednjih vrijednosti korišten je Fisher's LSD test ( $p \leq 0,05$ ).

Statističke analize podataka provedene su korištenjem SAS 9.0 statističkog softvera (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.), procedure CANDISC.

## Rezultati s raspravom

U tablicama 1 i 2 prikazani su rezultati analize sadržaja šećera, ukupnih kiselina, ukupnih polifenola i ukupnih antocijana u grožđu pokusnih sorata.

Sadržaj šećera u grožđu Plavine i Lasine iz Pirovačko-Skradinskog vinogorja postupno je rastao prema trećem roku berbe u obje godine istraživanja. Sukladno tome, opadao je i sadržaj ukupnih kiselina, koji je ponegdje bio i nezadovoljavajuće nizak (PL-III 2009.). Analizom sadržaja ukupnih polifenola i antocijana uočeno je da bi se rok berbe određen na temelju njihovih maksimalnih koncentracija bitno razlikovao od onog određenog na temelju tradicionalnih pokazatelja kakvoće. Vrlo je zanimljiv podatak da su obje sorte, i to u obje godine istraživanja, maksimalni sadržaj ukupnih antocijana imale već u prvom roku berbe. Isto vrijedi i za sadržaj ukupnih polifenola u grožđu Plavine iz 2010. godine, dok je u preostalim varijantama maksimalni sadržaj ukupnih polifenola zabilježen u drugom roku berbe. Sasvim je jasno vidljivo da maksimalno izmjereni sadržaj šećera u niti jednoj godini istraživanja, kao ni kod jedne sorte nije u korelaciji s maksimalnim sadržajem ukupnih polifenola i antocijana. Čak što više, temeljem analize sadržaja ukupnih polifenola i antocijana, možemo zaključiti da je fenolna zrelost nastupila u periodu između prvog i drugog roka berbe.

Općenito, sadržaj ukupnih polifenola je kod obje sorte bio veći 2009. godini. Apsolutno najveći sadržaj ukupnih antocijana kod sorte Lasina utvrđen je u prvom roku berbe 2010. godine, ali prosječni sadržaj antocijana za sva tri roka berbe kod ove sorte veći je u 2009. godini ( $134,5 \text{ mg}^* \text{L}^{-1}$ ) u odnosu na 2010. godinu ( $123,2 \text{ mg}^* \text{L}^{-1}$ ). Usporedbe radi, sadržaj šećera u grožđu obiju sorata bio je veći 2010. godine. Srednja vegetacijska temperatura vinogorja Pirovac-Skradin bila je za  $0,5^\circ\text{C}$  viša 2009. nego 2010. godine. Uz navedeno, u vegetacijskom periodu 2009. godine zabilježeno je čak 2039,3 sati sijanja sunca u odnosu na 1902,8 sati u vegetacijskom razdoblju 2010. godine. Ukupna količina oborina u vegetacijskom periodu obiju pokusnih godina bila je vrlo slična.

Usporedbom sorata vidljivo je da je sadržaj šećera u grožđu Lasine bio viši nego u grožđu Plavine u obje godine istraživanja. Osim većeg sadržaja šećera, grožđe Lasine je zadržalo i puno primjerenu razinu ukupne kiselosti. Međutim, kod Plavine su zabilježene veće koncentracije ukupnih polifenola i antocijana. Temeljem navedenog dolazimo do jasnog odgovora zašto se ove dvije sorte vrlo često kupažiraju, kao nadopuna jedna drugoj.

Krivulja kretanja sadržaja šećera u grožđu Plavine i Merlota iz Vrgoračkog vinogorja nije imala konzistentan trend, niti obzirom na sortu, niti na proizvodnu godinu. Dok kod Plavine 2012. dolazi do statistički značajnog porasta sadržaja šećera u grožđu u posljednjem tjednu dozrijevanja, kod Merlota je zabilježen kontinuirani pad od prvog ka trećem roku berbe, te je u trećem roku berbe sadržaj šećera u grožđu bio i statistički značajno niži od onog izmjerенog u prvom roku berbe. Sadržaj ukupne kiselosti pokazuje ujednačen trend, gdje dolazi do značajnog pada između prvog i drugog roka berbe, nakon čega ponovno slijedi porast ukupne kiselosti, ali ne iznad razine izmjerene u prvom roku. U 2013. godini grožđe Plavine imalo je najviši sadržaj šećera u drugom roku berbe, a najniži u prvom roku berbe. Prvi rok berbe pokazao se najlošijim i za Merlot, no kod Merlota nisu zabilježene i statistički značajne razlike između rokova berbe u sadržaju šećera u grožđu. Kretanje ukupne kiselosti kod

obaju kultivara imalo je istovjetan trend. Tako između prvog i drugog roka berbe dolazi do značajnog smanjenja ukupne kiselosti, no potom u posljednjem tjednu razina ukupne kiselosti premašuje razinu izmjerenu u prvom roku berbe.

Table 1. Soluble solids ( $^{\circ}\text{Oe}$ ) and titratable acidity ( $\text{g}^*\text{L}^{-1}$ ) content in grapes of Merlot, Plavina, Lasina and Dobričić at the three harvest dates (I, II, III) of studied vintages

Tablica 1. Sadržaj šećera ( $^{\circ}\text{Oe}$ ) i ukupnih kiselina ( $\text{g}^*\text{L}^{-1}$ ) u grožđu Merlota, Plavine, Lasine i Dobričića u tri roka berbe (I, II I III)

Year	Region/Harvest date								
	Pirovac-Skradin								
	PL-I	PL-II	PL-III	Sign <sup>1</sup>	LA-I	LA-II	LA-III	Sign	
2009	SS	72b <sup>2</sup>	70b	75a	*	80a	72b	81a	*
	TA	5,00	4,70	4,60	ns	6,93a	5,48b	5,10b	*
2010	SS	82b	85ab	86a	*	88b	95a	96a	*
	TA	5,30a	5,30a	5,00b	*	5,40	5,10	5,30	ns
Vrgorac									
2012	PL-I	PL-II	PL-III		ME-I	ME-II	ME-III		
	SS	87b	85b	92a	*	104a	102ab	99b	*
2013	TA	6,75a	5,70b	5,85b	*	6,22a	5,02b	5,95ab	*
	SS	78c	90a	85b	*	103	104	106	ns
	TA	6,37a	5,92b	6,52a	*	4,12b	3,82c	5,32a	*
Šolta									
2009	DO-I	DO-II	DO-III						
	SS	62b	73a	73a	*				
2010	TA	6,62a	5,56b	4,90c	*				
	SS	73c	78b	83a	*				
	TA	5,76a	5,23b	4,95c	*				

<sup>1</sup>\* and ns indicate significant at  $p = 0.05$  and not significant, respectively.

<sup>2</sup> Means with different letter are significantly different within the harvest date (means separation by Fisher's LSD test at  $p \leq 0.05$ ).

Maksimalan sadržaj ukupnih polifenola u vrgoračkom vinogorju u pravilu je zabilježen u trećem roku berbe. Izuzetak je Merlot iz 2013. godine kada je maksimalna razina ukupnih polifenola izmjerena u prvom roku berbe. Maksimalna razina antocijana je kod obaju kultivara vrgoračkog vinogorja varirala između drugog i trećeg roka berbe, ovisno o godini istraživanja. Za razliku od vinogorja Pirovac-Skradin, ovdje ipak postoje određene podudarnosti između nastupa fenolne zrelosti i maksimalno

izmjerenoj sadržaju šećera. To se pogotovo odnosi na 2013. godinu kada se maksimalni izmjereni sadržaj šećera u grožđu obiju sorata u potpunosti podudarao s maksimalnim izmjerenim sadržajem ukupnih antocijana. Proizvodne godine nisu se značajno razlikovale obzirom na mjerene parametre. Možemo tek izdvojiti 2013. godinu po nešto višem prosječnom sadržaju ukupnih polifenola.

Nadalje, grožđe Merlota iz Vrgorčkog vinogorja doseglo je znatno veći stupanj zrelosti od grožđa Plavine, što je sasvim očekivano imajući u vidu razlike u biološkom potencijalu između ovih dviju sorata.

U grožđu Dobričića sadržaj šećera u obje je godine bio i statistički najniži u prvom roku berbe. Ipak, 2009. godine dodatni tjedan dozrijevanja nije utjecao na povećanje sadržaja šećera, kao što je bio slučaj 2010. godine, gdje bilježimo kontinuirani porast sadržaja šećera u grožđu od prvog ka posljednjem roku berbe. Sadržaj ukupnih kiselina u obje godine kontinuirano opada prema posljednjem roku berbe, a izmjerene razlike između rokova berbe i statistički su značajne.

U 2009. godini je grožđe Dobričića fenolnu zrelost, kao i povoljan odnos šećera i ukupne kiselosti postiglo u drugom roku berbe. No 2010. godine bilježimo obrnuti trend. Najviši sadržaj ukupnih polifenola i antocijana zabilježen je u prvom roku berbe, dok se na povoljan odnos šećera i ukupne kiselosti trebalo čekati do trećeg roka. Općenito, sadržaj ukupnih polifenola i antocijana bio je viši 2009. godine, dok je sadržaj šećera bio viši 2010. godine. Vrlo slično kao i u vinogorju Pirovac-Skradin i ovdje je u vegetacijskom periodu 2009. godine zabilježeno više sati sijanja sunca i manje oborina nego u vegetacijskom periodu 2010. godine.

Evidentan je relativno nizak sadržaj šećera u grožđu u obje godine istraživanja. No, ono što odlikuje sortu Dobričić je izrazito visok sadržaj ukupnih polifenola i antocijana, što ukazuje na značajan gospodarski potencijal sorte Dobričić, i to prije svega kao prateće sorte u cilju popravljanja ukupnog sadržaja polifenola i obojenosti pojedinih crnih vina.

Rezimirajući dobivene rezultate vidljivo je da sadržaj antocijana u grožđu u većini pokusnih varijanti rastao do određene razine, da bi napredovanjem dozrijevanja postupno opadao. Ovo je u skladu sa mnogim drugim istraživanjima (Bautista-Ortíz i sur., 2006; Cacho i sur., 1992; De la Hera Orts i sur., 2005; Fernández-López i sur., 1998). Iznimka su Plavina iz 2012. i Merlot iz 2013. godine (vinogorje Vrgorac) gdje je maksimum antocijana dosegnut u posljednjem roku berbe. U većini slučajeva nisu zabilježene velike razlike u sadržaju antocijana kod iste sorte u različitim proizvodnim godinama, što upućuje na relativno stabilno sortno svojstvo. Ovo je u suprotnosti sa istraživanjem koje su proveli Cacho i sur. (1992), koji navode da su zabilježili značajne razlike u sadržaju antocijana kod istih sorata u različitim proizvodnim godinama, ističući dominantan utjecaj klimatskih prilika na sadržaj antocijana u grožđu. Najviši sadržaj ukupnih antocijana zabilježen je u grožđu Dobričića ( $289,6 - 761,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), a najniži u grožđu Lasine ( $98,7 - 168,9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

Table 2. Total polyphenols (TP) and total anthocyanins (TA) content in grapes ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of Merlot, Plavina, Lasina and Dobričić at the three harvest dates (I, II, III) of studied vintages

Tablica 2. Sadržaj ukupnih polifenola (TP) i antocijana (TA) u grožđu ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Merlota, Plavine, Lasine i Dobričića u tri roka berbe (I, II i III)

Year	Region/Harvest date							
	Pirovac-Skradin							
	PL-I	PL-II	PL-III	Sign <sup>1</sup>	LA-I	LA-II	LA-III	Sign
2009	TP	1478,1a <sup>2</sup>	1491,0a	982,6b	*	653,7b	878,2a	472,1c
	TA	428,0a	396,8b	256,0c	*	160,2a	144,0b	99,4c
2010	TP	831,4	819,7	817,8	ns	588,8	613,3	574,4
	TA	244,0	229,4	236,7	ns	168,9a	98,7b	102,2b
Vrgorac								
2012	PL-I	PL-II	PL-III		ME-I	ME-II	ME-III	
	TP	1545,3a	1356,0b	1591,3a	*	1612,0a	1483,3b	1622,0a
2013	TA	281,8	288,8	291,3	ns	300,0	310,5	295,8
	TP	1425,3a	1375,3b	1460,6a	*	1977,3a	1786,6b	1787,3b
	TA	251,5	253,0	241,8	ns	329,5	325,3	341,8
Šolta								
2009	DO-I	DO-II	DO-III					
	TP	1898,6c	2928,0a	2695,1b	*			
2010	TA	488,8c	761,0a	507,0b	*			
	TP	2280,4a	1359,0c	1634,6b	*			
	TA	428,7a	289,6c	340,0b	*			

<sup>1</sup>\* and ns indicate significant at  $p = 0.05$  and not significant, respectively.

<sup>2</sup> Means with different letter are significantly different within the harvest date (means separation by Fisher's LSD test at  $p \leq 0.05$ ).

Obrazac kretanja i nakupljanja ukupnih polifenola vrlo je sličan onome ukupnih antocijana, gdje je u većini pokusnih varijanti zabilježen pad koncentracije prema posljednjem roku berbe. Sadržaj ukupnih polifenola ponovo je bio najviši u grožđu Dobričića ( $1359,0 - 2928,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), a najniži u grožđu Lasine ( $472,1 - 878,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

Podudarnost u kretanju sadržaja šećera i ukupnih kiselina, te ukupnih polifenola i antocijana potpuno je izostala kod sorata vinogorja Pirovac-Skradin, što je u suprotnosti sa nekim drugim autorima (Segade i sur., 2008; Yokotsuka i sur., 1999) koji su utvrdili visoku korelaciju između navedenih parametara, ali i u suglasju s istraživanjem González-Neves i sur. (2002), koji nisu utvrdili korelaciju između punе i fenolne zrelosti.

## Zaključci

Provedena istraživanja ukazala su prije svega na nepouzdanost tradicionalnih načina određivanja zrelosti grožđa, kao isključivih pokazatelja za određivanje roka berbe. Istraživanje provedeno na četiri različite sorte u tri različita vinogorja pokazalo je da se maksimalni sadržaj ukupnih polifenola poklopio sa maksimalnim sadržajem šećera u grožđu u samo dvije pokušne varijante (PL-III, Vrgorac, 2012. i DO-II, 2009.). Do poklapanja maksimalnog sadržaja ukupnih antocijana i šećera došlo je, osim navedenih, u još dvije varijante pokuša – ME-III, 2013. i PL-II, Vrgorac, 2013. Iz toga možemo zaključiti da se nakupljanje ukupnih antocijana i šećera u bobici podudara u većoj mjeri nego sadržaj ukupnih polifenola i šećera.

Nadalje, maksimalna koncentracija ukupnih antocijana je u pet varijanti pokuša zabilježena u prvom roku berbe, odnosno samo dva puta u trećem, odgođenom roku. Ukupni polifenoli svoj su maksimalni sadržaj tri puta dosegli već u prvom roku berbe, i tri puta u posljednjem roku berbe. Iz navedenog zaključujemo da obzirom da dodatnim tjednom dozrijevanja u većini slučajeva nije došlo do daljnog porasta ukupnih polifenola i antocijana u grožđu, početak berbe ne bi trebalo bezrazložno odgađati.

## Literatura

- Bautista-Ortín, A. B., Fernández-Fernández, J. I., López Roca, J. M., Gomez Plaza, E. (2006) The effect of grape ripening stage on red wine color. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 40, 15-24.
- Cacho, J., Fernández, P., Ferreira, V., Castells, J. E. (1992) Evolution of five anthocyanidin-3-glucosides in the skin of Tempranillo, Moristel, and Garnacha grape varieties and influence of climatological variables. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43 (3), 244-248.
- Coombe, B. G., Dry, P. R. (1992) *Viticulture. Vol. 2 Practices*. Adelaide: Hyde Park Press.
- De la Hera Orts, M. L., Martínez-Cutillas, A., López Roca, J. M., Pérez-Prieto, L. J., Gomez Plaza, E. (2005) Effect of deficit irrigation on anthocyanin content of Monastrell grapes and wines. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 39, 47-55.
- Esteban, M. A., Villaneuva, M. J., Lissarrague, J. R. (2001) Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81 (4), 409-420. DOI: [10.1002/1097-0010\(200103\)81:4<409::AID-JSFA830>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200103)81:4<409::AID-JSFA830>3.0.CO;2-H)
- Fernández-López, J. A., Almela, L., Muñoz J. A., Hidalgo, V., Carreño, J. (1998) Dependences between colour and individual anthocyanin content in ripening grapes. *Food Research International*, 31 (9), 667-672. DOI: [10.1016/s0963-9969\(99\)00043-5](https://doi.org/10.1016/s0963-9969(99)00043-5)

- González-Neves, G., Gil, G., Ferrer, M. (2002) Effect of different vineyard treatments on the phenolic contents in Tannat (*Vitis vinifera* L.) grapes and their respective wines. *Food Science and Technology International*, 8 (5), 315-321. DOI: 10.1106/108201302031115
- González-San José, M. L., Barren, L. J. R., Junquera, B., Robredo, L. M. (1991) Application of principal component analysis to ripening indices for wine grapes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 4 (3), 245-255. DOI: 10.1016/0889-1575(91)90036-6
- Maujean, A., Brun, O., Vesselle, G., Bureau, G., Boucher, J. M., Cousin, M. (1983) Investigations on grapevine maturation in the Champagne region: method of forecasting the harvesting date. *Vitis*, 22(2), 137-150.
- Morris, J. R. (1998) Factors influencing grape juice. *Horttechnology*, 8(4), 471-478.
- O.I.V. (2001) International Code of Oenological Practices, Paris: O.I.V.
- Pérez-Magariño, S., González-San José, M. L. (2006) Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. *Food chemistry*, 96 (2), 197-208. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.02.021
- Reynolds, A. G., Pool, R. M., Mattick, L. R. (1986) Infleunce of cluster exposure on fruit composition and wine quality of Sevval blanc grapes. *Vitis*, 25, 85-95.
- Robredo, L. M., Junquera, B., González-San José, M. L., Barrón, L. J. (1991) Biochemical events during ripening of grape berries. *Italian Journal of Food Science*, 3 (3), 173-180.
- Segade, S. R., Vázquez, E. S., Losada, E. D. (2008) Influence of ripeness grade on accumulation and extractability of grape skin anthocyanins in different cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21 (8), 599-607. DOI: 10.1016/j.jfca.2008.04.006
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. Jr. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 (3), 144-158.
- Yokotsuka, K., Nagao, A., Nakazawa, K., Sato, M. (1999) Changes in anthocyanins in berry skins of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes grown in two soils modified with limestone or oyster shell versus a native soil over two years. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50 (1), 1-12.